

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт морфологии человека»

На правах рукописи

Бирюков Андрей Евгеньевич

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДИСПЛАЗИИ И РАННЕГО РАКА
ЖЕЛУДКА**

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

14.03.02 – патологическая анатомия

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор
Людмила Михайловна Михалёва

Москва, 2018

Оглавление

Оглавление.....	2
Список сокращений.....	4
Введение.....	5
Глава 1. Обзор литературы.....	15
1.1. Общие сведения.....	15
1.2. Эпидемиология	17
1.3. Этиология и патогенез.....	20
1.4. Иммуногистохимические характеристики.....	24
1.5. Классификация.....	28
1.5.1. Классификация опухолевых поражений желудка.....	28
1.5.2. Классификация раннего рака желудка.....	31
1.6. Варианты исхода и лечения.....	41
1.7. Лечебная тактика.....	43
Глава 2. Материал и методы исследования.....	46
2.1. Клиническая характеристика материала.....	46
2.2. Методы исследования.....	46
2.3. Обработка медицинской документации.....	52
2.4. Статистическая обработка данных.....	52
Глава 3. Результаты исследования.....	54
3.1. Анализ клинико-морфологических особенностей дисплазии и раннего рака желудка. Молекулярно-генетические черты раннего рака желудка.....	54

3.1.1. Поло-возрастные характеристики дисплазии желудка.....	54
3.1.2. Дисплазия желудка слабой степени.....	58
3.1.3 Дисплазия желудка тяжелой степени.....	62
3.1.4 Ранний рак желудка.....	66
3.2. Анализ иммуногистохимических особенностей дисплазии желудка тяжелой степени и раннего рака желудка.....	77
Обсуждение результатов	100
Выводы.....	114
Практические рекомендации.....	116
Список литературы.....	120

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АТ – антитело

ДАБ – диаминобензидин (хромоген-субстрат 3`3- диаминобензидин)

ЗНО – злокачественное новообразование

ИГХ – иммуногистохимическое исследование

МП СО – мышечная пластинка слизистой оболочки

РЖ – рак желудка

РРЖ – ранний рак желудка

СДЖ – дисплазия желудка слабой степени

СОЖ – слизистая оболочка желудка

СОЖ ХАГ – слизистая оболочка желудка с хроническим атрофическим гастритом

ТДЖ – дисплазия желудка тяжелой степени

ЭРСО/ЭДПО - эндоскопическая резекция слизистой оболочки желудка/диссекция подслизистой основы

СК - цитокератины

Helicobacter pylori – Нр

Мус - муцин

Введение

Актуальность темы

Рак желудка является одним из наиболее распространенных злокачественных новообразований. Ежегодно в мире регистрируется около 1 млн новых случаев и более 700 тыс. смертей от этой патологии, причем распространенность РЖ в мире имеет широкие регионарные различия - наиболее высокая заболеваемость РЖ наблюдается в Японии, России, Чили, Корее, Китае (Давыдов М.И. и соавт, 2001; Global Cancer Facts & Figures 3rd Edition; Siddavaram Nagini, 2012). При этом, самая высокая выживаемость при РЖ зарегистрирована в Японии – около половины, тогда как в других странах – не более 15–20%. Таким успехам Япония обязана массовому скринингу населения, в ходе которого активно выявляются случаи дисплазии и РРЖ, доля которого в общей структуре больных РЖ самая высокая, составляя более половины всех случаев, тогда как в других странах – не более 15–20 % (Давыдов М.И. и соавт., 2008; Zheng H. et al., 2007). Именно выявление РРЖ позволяет значительно снизить смертность в виду низких значений лимфо- и гематогенного метастазирования (Isozaki H. et al., 1997; Lee J.H. et al., 2010; Abe S. et al., 2015; Lim H. et al., 2017) и рецидивов рака, а также позволяет использовать органосохраняющие эндоскопические методы лечения (Han J.P. et al., 2016).

К сожалению, скрининг РЖ проводится лишь в Японии, а рутинные методы обследования пациентов редко позволяют распознать заболевание на ранних стадиях (Давыдов М.И. и соавт, 2008; Михалева Л.М. и соавт., 2014). Еще в 1962г. Японское общество гастроинтестинальной эндоскопии к РРЖ относило эпителиальные раки желудка, которые ограничены слизистой

оболочкой и/или подслизистым слоем, независимо от наличия или отсутствия метастазов в регионарных лимфоузлах (Петерсон Б.Е. и соавт., 1985; Поддубный Б.К. и соавт., 2009; Murakami T. et al., 1962; Yoshimori M, 1989; Nogueira C. et al., 2002; Saragoni L. et al., 2013). В настоящее время понятие «раннего рака желудка» смещается в сторону эндоскопических возможностей его радикального лечения, сравнимых с операционным риском традиционных хирургических вмешательств (Endoscopic Classification Review Group, 2005; Gotoda T. et al., 2000; Sekiguchi M. Et al., 2016; Kim Y.H. et al., 2017).

Для кишечного типа РЖ несомненна связь с хелибактерной инфекцией (Araujo-Filho I. et al., 2006), хроническим гастритом и кишечной метаплазией. При диффузном типе РЖ *Helicobacter pylori* (Hp) выявляется значительно реже (Nardone G. et al., 2004).

Для прогнозирования клинического течения РЖ широко используются клиничко-морфологические параметры злокачественного процесса. Из морфологических критериев при РЖ наибольшее значение имеет деление опухолей на кишечный и диффузный типы рака (последний считается более агрессивным и имеет худший прогноз). Однако следует отметить, что течение заболевания в пределах одного гистологического типа также существенно варьирует у разных индивидуумов, что требует поиска информативных маркеров, позволяющих прогнозировать клиническое течение заболевания (Zheng H. et al., 2007). Имеются сведения о зависимости лимфогенного метастазирования от размера новообразования при РЖ (Давыдов М.И. и соавт., 2008). Риск метастатического поражения регионарных лимфоузлов существенно возрастает при размере опухолевого узла более 2см, распространении рака в подслизистый слой стенки желудка, низкой степени дифференцировки рака, лимфатической и венозной инвазии (Park Y.M. et al., 2011; Park J.H. et al., 2015; Hannah H. et al., 2017). Именно эти параметры во многом лежат в критериях отбора пациентов для эндоскопических операций.

В настоящее время широкое распространение получило иммуногистохимическое исследование (ИГХ) наличия и выраженности экспрессии ассоциированных с опухолевыми клетками белков, которые определяют опухолевый фенотип и, в той или иной мере, ответственны за «поведение» опухоли, а, следовательно, являются потенциальными онкомаркерами.

Степень разработанности темы исследования

Клинико-морфологические изменения при дисплазии и РРЖ охарактеризованы в небольшом числе работ, причем данные работы посвящены преимущественно клиническим аспектам опухолевых поражений желудка. Известно, что заболеваемость РЖ в России увеличивается с возрастом, пик приходится на диапазон 60-85 лет, соотношение мужчин к женщинам колеблется в пределах 1,3:1; средний возраст пациентов с впервые выявленным РЖ составляет около 67 лет, причем у мужчин - 65 лет, у женщин – 69 лет (Каприн А.Д. и соавт., 2014; Шаназаров Н.А., 2014; Каприн А.Д. и соавт., 2015; Min Jung Jo et al., 2015; Peng Wang et al., 2015). Однако, данные литературы о возрастно-половых особенностях заболеваемости РРЖ в России отсутствуют.

Важную роль при исследовании РРЖ играет правильная оценка его макроскопического типа, что может служить косвенным критерием глубины инвазии опухоли и риска лимфогенного метастазирования (Lambert R., 2003; Abe S. et al., 2011; Ohara Y. et al., 2016). В литературе имеются сведения о макроскопических типах РРЖ, однако отсутствуют данные о макроскопическом типе дисплазии желудка слабой и тяжелой степени, а также не изучены особенности макроскопического типа дисплазии и РРЖ в сравнительном аспекте.

Недостаточная изученность морфологии дисплазии желудка тяжелой степени (ТДЖ) и РРЖ кишечного типа затрудняет, а порой делает невозможной оценку и интерпретацию выявляемых при них изменений, особенно при изучении гастробиоптатов (Lambert R., 2003). В связи с этим, ряд исследователей предлагают для ТДЖ применять ту же лечебную тактику, что и для РРЖ в стадии pT1a (то есть, по сути, относят ТДЖ к раку *in situ*) (Lambert R., 2003; Ryu D.G. et al., 2017).

В исследованиях по морфологическим и иммунофенотипическим особенностям опухолевых поражений желудка основная оценка дается РЖ в целом, без учета его стадии (Min Jong Lee B.S. et al., 2003; Bita Geramizadeh et al., 2012; D. Lasar et al.; Hannah H. et al., 2017); отсутствуют исследования, в которых в сравнительном аспекте сопоставлены морфологические и иммунофенотипические особенности дисплазии и раннего рака желудка.

Таким образом, клинико-морфологические особенности дисплазии и раннего рака желудка изучены недостаточно, что требует проведение исследования в данной области.

Цель исследования

Оценка клинико-морфологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических особенностей дисплазии и раннего рака желудка.

Задачи исследования:

1. Выявить клинико-морфологические особенности дисплазии желудка (low- и high-grade dysplasia);
2. Охарактеризовать клинико-морфологические особенности раннего рака желудка кишечного типа;
3. Установить молекулярно-генетические особенности и HER2-статус раннего рака желудка кишечного типа;

4. Определить и сравнить иммунофенотип эпителия при хроническом атрофическом гастрите и опухолевых клеток при дисплазии желудка тяжелой степени (high-grade dysplasia) и раннем раке желудка кишечного типа;

5. Разработать алгоритм патологоанатомического исследования биопсийного и операционного материала с эпителиальными новообразованиями слизистой оболочки желудка.

Объект и предмет исследования

Дисплазия и ранний рак желудка, их клинико-морфологические, иммуногистохимические и молекулярно-генетические особенности.

Теоретическая и методологическая база исследования

Теоретической и методологической базой диссертации являются научные работы и методические разработки отечественных и зарубежных авторов в области дисплазии и раннего рака желудка.

Информационная база исследования

Информационной базой исследования являются научные статьи в рецензируемых журналах, монографии, материалы конференций соответствующей научной тематики.

Паспорт научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 14.03.02 – патологическая анатомия.

Научная новизна исследования

На основе анализа результатов проведенного комплексного исследования впервые выявлены клинико-морфологические особенности и установлена высокая значимость иммуногистохимических маркеров (СК 7,

8/18, Muc -1, -2, -5AC и p53), объективизирующих патологоанатомическую диагностику дисплазии и раннего рака желудка.

Впервые установлено, что 60% опухолевых поражений желудка (дисплазии и раннего рака), относятся к 0-IIa и 0-IIb макроскопическим типам, а 13% - к сочетанному макроскопическому типу; при этом средний возраст у пациентов с дисплазией желудка слабой степени 64,3лет, тяжелой степени – 63,8лет, с РРЖ - 67,2лет.

Впервые показано, что частота инфицированности *Helicobacter pylori* при раннем раке желудка составляет 33,5%. Чувствительность различных методов определения *Helicobacter pylori* (бактериоскопический, иммуногистохимический и молекулярно-генетический) варьирует, причем ни в одном из используемых методов она не достигает 100%. Впервые установлена частота встречаемости мутации гена KRAS (5%) в РРЖ.

Впервые установлено, что ТДЖ и РРЖ кишечного типа обладают во многом схожим иммунофенотипом, однако если для СК7, Muc-1 и p53 характерно нарастание количества экспрессирующих клеток в ряду «дисплазия желудка тяжелой степени – РРЖ кишечного типа», то для Muc-2 - снижение количества Muc2-позитивных опухолевых клеток в том же ряду.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные в работе теоретические данные о количественном и качественном определении экспрессии ассоциированных с опухолевыми клетками белков, которые определяют опухолевый фенотип и являются потенциальными онкомаркерами, расширяют научные представления о морфогенезе дисплазии и раннего рака желудка и могут быть использованы в качестве базовых при планировании и проведении исследований по вопросам малигнизации эпителиальных опухолей желудка.

Впервые для установления стадии заболевания (pTis, pT1a и pT1b) и определения тактики лечения разработан алгоритм патологоанатомического исследования биопсийного и операционного материала с опухолевыми поражениями желудка, включая РРЖ.

Впервые представлен подход к макроскопическому изучению и забору материала для патологоанатомического исследования после эндоскопической диссекции подслизистой основы или резекции слизистой оболочки желудка (СОЖ) с наличием дисплазии слабой и тяжелой степени, РРЖ.

Разработанная иммуногистохимическая панель маркеров, включающая CK7, CK8/18, Muc-1, Muc-2, Muc-5AC и p53, дает новые возможности для дифференциальной диагностики ТДЖ и РРЖ кишечного типа, позволяет объективно оценить степень распространения опухоли и интактность краев резекции (горизонтального и вертикального), наличие раковых эмболов в просвете кровеносных и лимфатических сосудов.

С целью повышения диагностических возможностей выявления инфицированности опухолевых поражений желудка *Helicobacter pylori* помимо использования окраски по Романовскому-Гимзе (Р-Г) целесообразно в каждом случае использовать ИГХ с антителами к *Helicobacter pylori*.

Разработанный комплексный подход к оценке опухолевых поражений желудка позволяет оптимизировать диагностику и лечебную тактику РРЖ с расширением практики эндоскопических «щадящих» методов лечения и проводить в обязательном порядке оценку эффективности проведения эндоскопического хирургического лечения.

Методология и методы исследования

В работе были изучены 135 образцов ткани желудка, из которых 114 – эпителиальные новообразования желудка и 21 – хронический атрофический гастрит (ХАГ). На основе патоморфологического исследования были

выделены четыре группы наблюдения: ХАГ, дисплазия желудка слабой степени (СДЖ), ТДЖ и РРЖ. Методологическая работа построена на принципах системного анализа комплекса данных. Для решения поставленных задач был использован комплекс современных методов исследования: клинико-морфологический, морфометрический, иммуногистохимический и молекулярно-генетический методы с последующей статистической обработкой количественных данных. Полученные в ходе исследования цифровые данные были собраны в электронной таблице Microsoft Excel XP (Microsoft Corp., США).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Для дисплазии желудка тяжелой степени и раннего рака желудка кишечного типа характерны иммунофенотипические различия при иммуногистохимическом исследовании с антителами к CK7, Мис-1, р53 (характерно нарастание количества экспрессирующих клеток в ряду «дисплазия желудка тяжелой степени – РРЖ кишечного типа»), к Мис-2 (снижение количества Мис2-позитивных опухолевых клеток в том же ряду).

2. Прилежащие к РРЖ кишечного типа участки слизистой оболочки желудка характеризуются наличием дисплазии тяжелой степени (в 97% случаев), хронического атрофического гастрита (в 94% случаев) и толстокишечной метаплазии (в 77% случаев). *Helicobacter pylori* в раннем раке желудка не определяется в 2/3 случаев, а в оставшихся 1/3 случаев выявлена слабая обсемененность.

3. Алгоритм патологоанатомического исследования эпителиальных новообразований желудка, в том числе ранний рак желудка, включает: тотальное исследование удаленного новообразования с оценкой краев резекции и глубины инвазии; использование окраски гематоксилином и эозином, комбинированной ШИК-реакции в сочетании с альциановым синим;

выполнение иммуногистохимического исследования с антителами к p53, Muc-1, Muc-2, Muc-5AC, CK8/18, CK7, HER2, Desmin, CD34, D2-40 и *Helicobacter pylori* с последующим комплексным анализом эффективности проведенной эндоскопической операции.

Степень достоверности и апробация работы

Результаты исследования получены при изучении достаточного объема материала - 135 образцов ткани желудка. Для решения поставленных задач автором использован комплекс современных методов исследования: клинико-морфологический, морфометрический, иммуногистохимический и молекулярно-генетический методы с последующей статистическим анализом цифровых данных в сопоставлении с актуальными литературными данными.

Основные положения исследования представлены на 27, 28, 29 и 30 Европейских конгрессах по патологической анатомии (2015г., 2016г., 2017г., 2018г.); VII Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы эндоскопии 2016» (Санкт-Петербург, 2016); научной конференции с международным участием «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 2016); научной конференции «достижения и инновации в современной морфологии» (Минск, 2016); международной конференции «World Congress GI of Endoscopy» (Индия, 2017); V съезде Российского общества патологоанатомов (Челябинск, 2017).

Личное участие автора

Личное участие автора заключалось в сборе, вырезке, гистологической и иммуногистохимической оценке материала исследования, анализе и интерпретации полученных данных, формулировке научных положения и выводов, подготовке и публикации статей по результатам исследования, выступлении на научных конференциях.

Публикации

Опубликовано 14 научных работ по теме диссертации, в том числе 4 – в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук. 9 публикаций – в материалах конференций и съездов, 1 – в научном рецензируемом журнале, не входящем в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук.

Внедрение результатов исследования

Результаты диссертационного исследования внедрены в практическую работу ГБУЗ «Городская клиническая больница №31 Департамента здравоохранения города Москвы».

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 141 странице машинописного текста. Включает в себя введение, обзор литературы, материал и методы исследования, результаты исследования, обсуждение и выводы, практические рекомендации, список сокращений, 45 рисунков, 27 таблиц, список литературы содержит 181 библиографических источника, из них российских - 17, зарубежных - 164.

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Общие сведения

Дисплазия желудка относится к предраковым поражениям (Annemarie C de Vries et al., 2008; Siddavaram Nagini, 2012; Dinis-Ribeiro M et al., 2012), в основе которой лежат структурные и клеточные изменения желудочного эпителия и имеющие высокую вероятность развития в РЖ. Однако, на сегодняшний день нет четких критериев морфологической оценки данного поражения.

К раннему раку желудка в 1962г. Японское общество гастроинтестинальной эндоскопии относило эпителиальные раки желудка, ограниченные слизистой оболочкой и/или слизистой оболочкой и подслизистой основой, независимо от вовлечения регионарных лимфатических узлов (Михалева Л.М. и соавт., 2014; Михалева Л.М. и соавт., 2015; Japanese classification of gastric carcinoma: 2nd English edition, 1998; Fred T. Bosman et al., 2010; Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition, 2011).

Особое значение РРЖ имеет в виду низких показателей лимфогенного метастазирования: по данным разных авторов частота метастазирования варьирует при T1a – 0-7 %, при T1b – 15-20%, что играет первостепенную роль в прогнозе заболевания (Левицкий А.В., 2009; Everett S.M. et al., 1997; Min Jung Jo et al., 2015; Fang C. et al., 2016).

Лимфогенные метастазы в соответствии с 6 изданием Интернационального союза против рака делятся на 3 группы в зависимости от размеров: метастазы из отдельных опухолевых клеток (до 0,2мм), микрометастазы (0,2-2мм) и макрометастазы (>2мм). Понятно, что для выявления первых двух типов важно помимо рутинных гистологических и гистохимических окрасок использовать также ИГХ с цитокератинами. Доля

микрометастазов в лимфатических узлах достигает 40% (Min Jung Jo et al., 2015). При гистологическом исследовании также крайне важно выявить наличие или отсутствие раковых эмболов в просвете кровеносных и лимфатических сосудов, однако отсутствие таких находок вовсе не говорит о том, что нет метастазов в регионарные лимфоузлы – до 45% случаев с подтвержденными метастазами в регионарных лимфоузлах не находят лимфоваскулярной инвазии (Min Jung Jo et al., 2015). Подавляющее большинство лимфогенных метастазов обнаруживают в перигастральных лимфоузлах (более 90%) (Левицкий А.В., 2009).

Известно, что при удалении опухоли на ранней стадии показатель 5-летней выживаемости может составлять около 100%. При РЖ ранняя стадия даже при максимальной скорости роста опухоли занимает период длительностью не менее 5 лет (Якин А.В., 2010), поэтому имеются все условия для успешной диагностики этой стадии болезни. Частота развития рецидивов при РРЖ значительно ниже, чем при более распространенных формах и составляет от 0,3 до 7,5 % (Min Jung Jo et al., 2015). Для увеличения доли рака в ранних стадиях требуются скрининговые программы, а в современных условиях скрининг должен проводиться хотя бы в группах фоновых и предраковых заболеваний (Everett S.M. et al., 1997).

Наиболее благоприятным вариантом РРЖ считают тубулярный тип рака: пятилетняя выживаемость больных составляет 96,8%, при папиллярном типе – 80,5% (Lee H.J. et al., 2015). И, что интересно, перстневидноклеточный рак в стадии pT1a характеризуется низкой частотой регионарного метастазирования и лимфогенной инвазии (Huang Q. et al., 2017).

Несмотря на постоянное появление современных клинικο-диагностических возможностей по раннему выявлению ЗНО, ситуация по диагностике РРЖ оставляет желать лучшего. Так, до настоящего времени показатели выявления ЗНО желудка на ранней стадии остаются

неутешительными (таблица 1). За последнее десятилетие 2/3 случаев РЖ диагностируют на III-IV стадиях заболевания, когда лечение уже малоэффективно. Выявление РЖ на I стадии заболевания и вовсе малоутешительно – около 10% (Каприн А.Д. и соавт., 2015; Min Jung Jo et al., 2015).

Таблица 1

Выявление РЖ по клиническим стадиям в России

I стадия	II стадия	III стадия	IV стадия	Не известно
~10%	~20%	~25%	~40%	~5%

Вместе с тем, выявление РРЖ дает возможность оказания не только эффективного лечения, но и применение органосохраняющих операций, что дает возможность снизить показатели инвалидизации и улучшить качество жизни пациентов.

1.2. Эпидемиология

Ежегодно в мире регистрируется около 1 млн новых случаев и более 700 тысяч смертей от РЖ. Распространенность РЖ в мире имеет широкие регионарные различия (рисунок 1). РЖ чаще встречается у населения Восточной Азии с самыми высокими показателями заболеваемости в Японии, Корее, Китае, у населения Восточной Европы, включая Россию. Низкая заболеваемость отмечается в Северной Америке, Австралии (Global Cancer Facts & Figures 3rd Edition; Siddavaram Nagini, 2012).

В России, как и во всем мире, наблюдается отчетливая тенденция к снижению заболеваемости РР. Так, если взять последнее десятилетие, то количество заболевших РЖ в России снизилось с 45000 до 37000 человек, а

умерших от РЖ - с 40000 до 31000 человек (Каприн А.Д. и соавт., 2014; Каприн А.Д. и соавт., 2015).

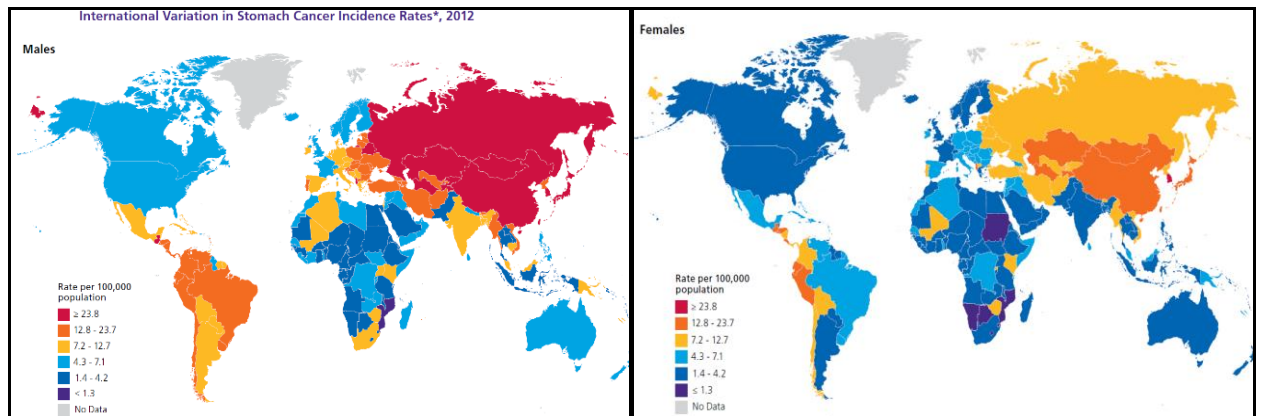


Рисунок 1 - Регионарные особенности заболеваемости рака желудка у мужчин и женщин по миру

Однако, несмотря на такие существенные изменения, актуальность рака желудка остается чрезвычайно высокой (рисунок 2): так, в структуре заболеваемости онкологическими заболеваниями доля РЖ 6,7% - V место, уступая ЗНО кожи, молочной железы, легким и предстательной железы. А смертность же от РЖ составляет 11,0% - это II место после ЗНО легких (Каприн А.Д. и соавт., 2014; Шаназаров Н.А., 2014; Каприн А.Д. и соавт., 2015; Min Jung Jo et al., 2015; Peng Wang et al., 2015).

Одногодичная летальность в России от ЗНО желудка составляет на 2014г. 48,7%, снизившись за последнее десятилетие лишь чуть более чем на 7%. А это значит, что за первый год после диагностики заболевания умирает почти половина пациентов.

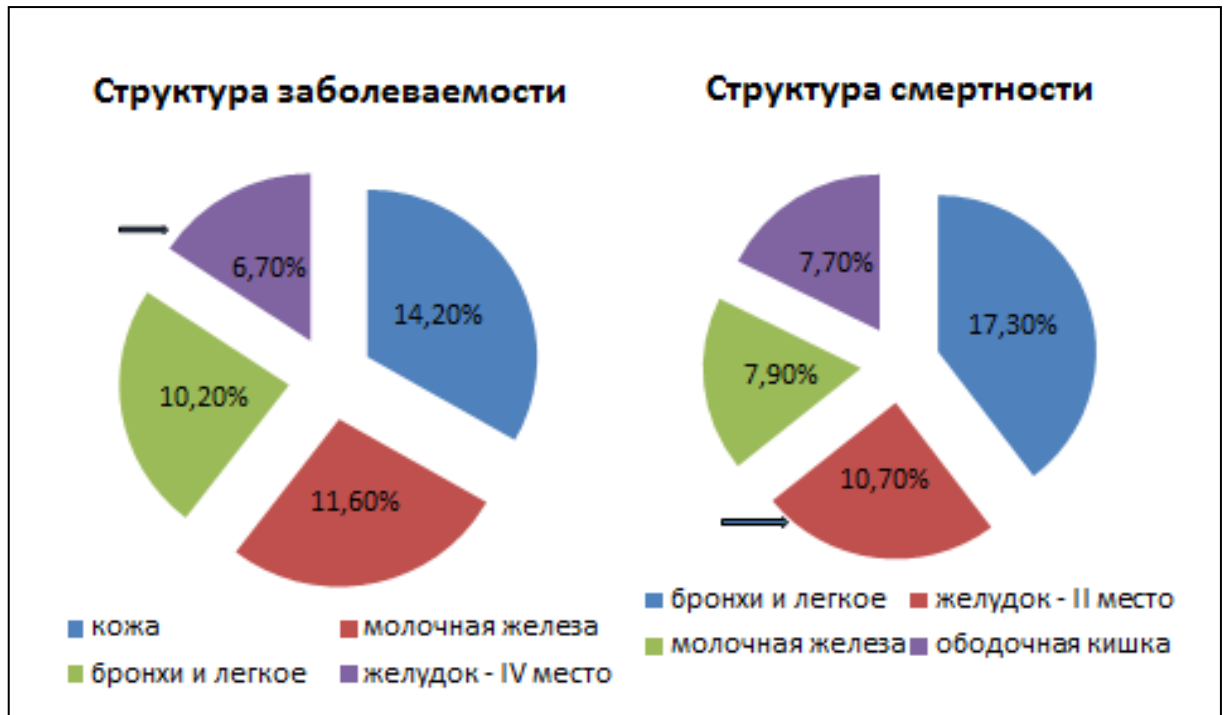


Рисунок 2 - Структура заболеваемости и смертности от наиболее распространенных ЗНО в России (РЖ отмечен стрелкой)

Структура рака желудка по возрасту и полу.

Заболеваемость РЖ увеличивается с возрастом с пиком в диапазоне 60-85 лет (рисунок 3) и имеет достаточно четкие половые особенности: соотношение мужчин к женщинам в России колеблется в пределах 1,3:1. Средний возраст пациентов с впервые выявленным РЖ за последние 10 лет изменился незначительно – увеличился на 1 год – и составил около 67 лет, причем у мужчин - 65 лет, у женщин – 69 лет (Каприн А.Д. и соавт., 2014; Шаназаров Н.А., 2014; Каприн А.Д. и соавт., 2015; Min Jung Jo et al., 2015; Peng Wang et al., 2015). Средний возраст умерших от РЖ за последние 10 лет увеличился на 1,5 года и составил около 68 лет (рис. 3), у мужчин - 66 лет, у женщин почти 71 год. При этом смертность в трудоспособном возрасте (до 60 лет у мужчин, до 55 лет у женщин) имеет достаточно большой удельный вес, составляя немногим менее $\frac{1}{4}$ от всех случаев смерти от РЖ, причем у мужчин

– около 30%, у женщин – около 12% (Каприн А.Д. и соавт., 2014; Шаназаров Н.А., 2014; Каприн А.Д. и соавт., 2015; Min Jung Jo et al., 2015; Peng Wang et al., 2015).

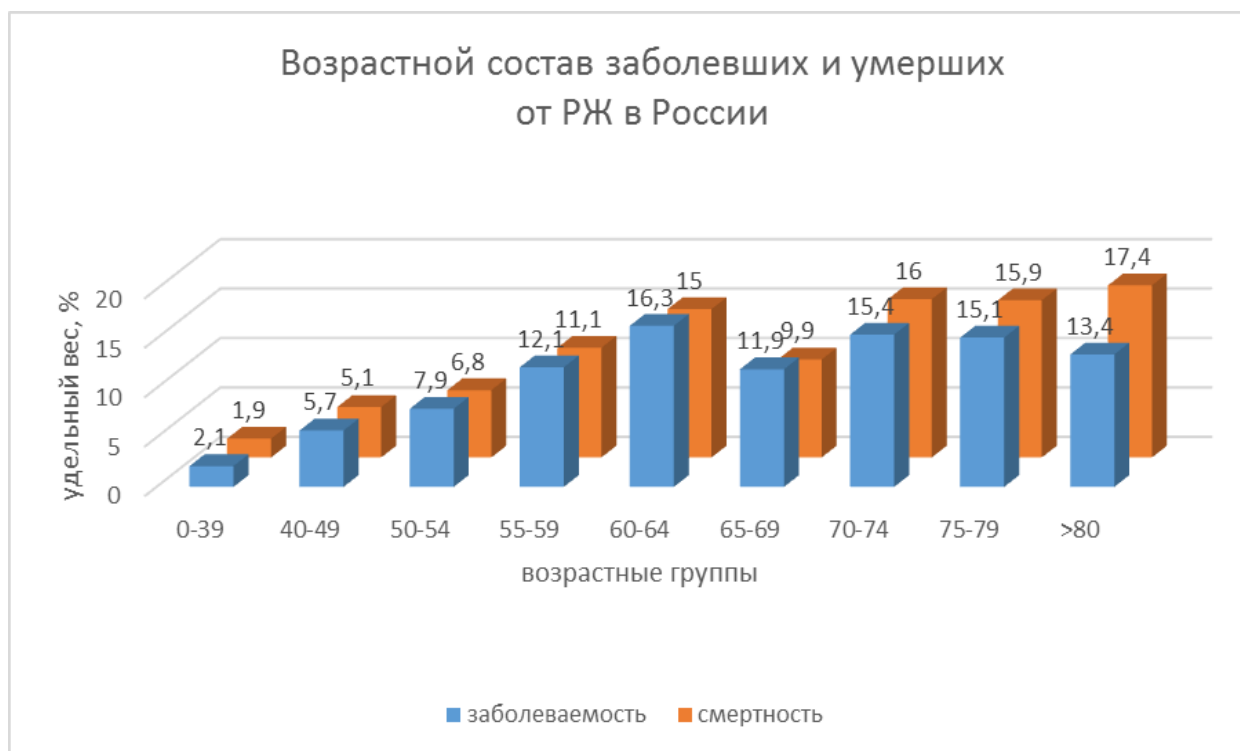


Рисунок 3 - Возрастные особенности заболевших и умерших от РЖ в России

1.3. Этиология и патогенез

Нет единой причины, ответственной за развитие РЖ, существует много факторов, которые могут способствовать его развитию. Большинство исследователей сходятся во мнении о ведущей роли Нр в повреждении слизистой оболочки желудка, также рассматривается роль особенностей питания, образа жизни, генетическим факторам (Correa P., 1992; Correa P., 2004; Vries AC et al., 2007; Siddavaram Nagini, 2012).

Традиционно выделяют предраковые состояния и предраковые изменения (Annemarie C de Vries et al., 2008; Siddavaram Nagini, 2012; Dinis-

Ribeiro M et al., 2012). Под предраковыми состояниями понимаются заболевания, существенно увеличивающие риск возникновения рака; под предраковыми изменениями – такие изменения тканей органа, в которых возникновение рака вероятно.

К предраковым состояниям относятся атрофически гастрит и кишечная метаплазия, ассоциированные с инфекцией *Нр* или аутоиммунные, состояния после операций на желудке, болезнь Менетрие. К предраковым поражениям относят интраэпителиальную неоплазию, дисплазию, аденому.

Инфекция Helicobacter pylori

Поражение *Нр* встречается значительно более часто при кишечном типе РЖ (до 90%), чем при диффузном (около 30%) (Vries AC et al., 2007; Pandey R. et al., 2010). Наиболее упрощенная схема развития РЖ кишечного типа сводится к следующему каскаду изменений: от инфицирования *Нр* к атрофическому гастриту, кишечной метаплазии, дисплазии и карциноме (Якин А.В., 2010; Маев И.В. и соавт., 2014; Correa P., 2004). Помимо самого факта инфицирования *Нр*, важную роль в рисках развития РЖ имеет вирулентность бактерии (Wroblewski LE. et al., 2013). Так, риск развития РЖ возрастает при инфицировании штаммами *Нр*, в геноме которых имеются гены *cagA*, *vacA*, *iceA*, *babA* (Hakeyama M., 2014). Однако считается, что *H. pylori* инфекция играет роль только на начальных этапах канцерогенеза, как бы «запуская» его (Vries AC et al., 2007).

Наследственная предрасположенность

Известно, что 90% случаев РЖ являются спорадическими, тогда как 10% - наследственными (Siddavaram Nagini, 2012). Исследования показали, что для родственников первой линии родства риск развития РЖ увеличивается в 2-4 раза (Goldgar D.E. et al., 1994). Причем, эти риски различаются в зависимости

от гистологического типа РЖ: при кишечном типе РЖ риск 1,4 раза, а при диффузном типе – уже в 7 раз!

Молекулярно-генетические особенности РЖ

Известно, что патогенез РЖ ассоциирован с рядом молекулярно-генетических нарушений (Siddavaram Nagini, 2012). Единого молекулярно-генетического маркера, лежащего в основе канцерогенеза РЖ, в настоящее время нет. Большинство классификаций, подразделяющих РЖ на подтипы по молекулярно-генетическим признакам, основаны на таких параметрах как: уровень генетической нестабильности опухолей вследствие повреждения или гиперметилирования генов репарации ДНК (микросателлитная нестабильность); статус гена TP53, амплификации и мутации генов рецепторов факторов роста, факторов транскрипции, белков клеточных сигнальных путей, регуляторов клеточного цикла (ARID1A, PIK3CA, PTEN, ERBB2, ERBB3, EGFR, KRAS KLF5, GATA4, GATA6, OCT1 CCNE1, CCND1 CDK6 и т.д.), экспрессию микро РНК и связь с Эпштейн-Барр-вирусной инфекцией. Наиболее масштабными по спектру охваченных молекулярно-генетических маркеров являются классификации Cancer Genome Atlas (TCGA) и Asian Cancer Research Group (ACRG), которые учитывают множество перечисленных генетических свойств опухолей желудка и по комплексу выявленных изменений делят их на 4 группы, условно называемые (классификации TCGA и ACRG в значительной степени пересекаются): микросателлит-нестабильные (MSI), Эпштейн-Барр-ассоциированные (EBV), опухоли с хромосомной нестабильностью (CIN) и генетически-стабильные (GS) (Figueiredo C. et al., 2017).

Следует отметить, что наилучшим клиническим прогнозом обладают опухоли с микросателлитной нестабильностью, в то время как генетически

стабильные опухоли по прогнозу выживаемости и вероятности рецидивов наихудшие.

Относительно частая для РЖ амплификация гена Her2 (около 20%) (Janjigian YY et al., 2012) имеет практическое значение в качестве маркера эффективности анти-Her2 таргетной терапии, однако не является независимым прогностическим фактором. Следует так же отметить, что в отличие от большинства аденокарцином желудочно-кишечного тракта, аденокарциномы желудка редко несут мутации гена KRAS 12,13 кодонов (около 4%), однако при этом ассоциируются с плохим прогнозом.

В целом, развитие РЖ обусловлено целым каскадом молекулярных нарушений, лежащих в основе нарушения активности и функционирования целого ряда генов. Множественные генетические и эпигенетические изменения в онкогенах, генах-супрессорах опухолей, регуляторах клеточного цикла, адгезивных молекулах, генах репарации ДНК, а также генетическая нестабильность и активация теломераз вовлечены в многоступенчатый процесс канцерогенеза.

Одним из ключевых событий канцерогенеза являются мутации онкогенов. Наиболее характерными для солидных опухолей являются мутации генов Erk-сигнального пути — KRAS и BRAF. Однако, в случае аденокарцином желудка мутации данных генов относительно редки (около 5% и 1% соответственно), более частым генетическим событием для аденокарцином желудка является амплификация гена Her2 (13–25%). Мутация любого из этих генов сопровождается гиперактивацией Erk-сигнального пути с усилением пролиферативной активности клеток и потенциальными (для KRAS и BRAF) или уже клинически-сложившимися (Her2) мишенями для таргетной терапии (Janjigian YY et al., 2012; Matsusaka S. et al., 2016).

Вместе с тем, молекулярно-генетические механизмы канцерогенеза РЖ кишечного и диффузного типов различны. Для кишечного типа РЖ характерны наличие мутаций p53, снижение экспрессии p27, экспрессия циклина Е и 6.0-kb транскрипты c-met гена обнаруживаются уже на предраковых стадиях; на поздних стадиях добавляются мутации в гене APC, потеря гена DCC и p27, снижение фактора роста опухоли (TFG)-В типа I, амплификация HER2. При РЖ диффузного типа обнаруживаются мутации или потеря гетерозиготности p53, потеря гетерозиготности в хромосоме 17p, мутации Е-кадгерина (Janjigian YY et al., 2012).

1.4. Иммуногистохимические характеристики

Цитокератины - промежуточные филаменты главным образом эпителиальных клеток, являются важным компонентом цитоскелета клетки, участвуют в фиксации ядра и поддержании морфологии клетки. СК состоят из 20 подтипов (Chu PG et al., 2002). Экспрессия СК8/18 наблюдается во всех отделах СОЖ (Moll R., 1994; Moll R. et al., 1992; Chu P et al., 2000), а СК7 отсутствует в нормальной СОЖ, но появляется при хронических поражениях СОЖ, таких как Нр-ассоциированный гастрит и кишечная метаплазия (Sekiguchi M. et al., 2016).

Муцины - это группа сложных высоко-молекулярных гликопротеинов, которые являются основными компонентами секрета, покрывающего СОЖ, а также обеспечивают ее механическую и химическую защиту. Имеется две группы муцинов: секретируемые и мембранные (Verma M. et al., 1994; Kim YS et al., 1995). Нормальная СОЖ экспрессирует муцины Muc-1, Muc-5AC и Muc-6. Muc-1 и Muc-5AC экспрессируются в поверхностном эпителии, в то время как Muc-6 экспрессируется в клетках тела и более глубоких железах антрума. Сообщается, что процесс неопластической трансформации в желудке связан с уменьшением экспрессии нормальных муцинов слизистой оболочки желудка

и экспрессии де-нова муцинов, которые обычно экспрессируются в других органах (Muc-2). Характер экспрессии муцина в РЖ гетерогенен. Эта гетерогенность может дать новое представление о путях развития РЖ, позволяя использовать его в качестве маркера, характеризующего биологическое поведение РЖ.

Muc-1 – мембранный полипептид, состоит из внеклеточной области, состоящей из tandemных повторов аминокислот, трансмембранного домена и цитоплазматического хвоста, присутствует на апикальной поверхности секреторного эпителия, но в злокачественных тканях его количество варьирует. Ген MUC-1 может генерировать изоформы Muc-1 / TM, Muc-1 / Y, Muc1- / Z и Muc-1 / SEC путем альтернативного сращивания (Carrato C. et al., 1994; Yamamoto M. et al., 1997; Gaemers IC et al., 2001; Borchardt H. et al., 2012). Было показано, что Muc-1 ассоциируется с тирозинкиназами рецептора эпидермального фактора роста посредством связывания его цитоплазматического хвоста с Grb2 / SOS, что указывает на участие в клеточной передаче сигналов (Pandey R. et al., 1995). При злокачественных новообразованиях Muc-1 может функционировать как молекула антиадгезии, облегчающая высвобождение клеток из опухолевых гнезд (Bieche I et al., 1997; Wang JY et al., 2003; Wang RQ et al., 2003; Rakha EA. Et al., 2005). Это может способствовать адгезии и, по-видимому, метастазированию, представляя углеводные лиганды молекулам адгезии на эндотелиальных клетках (Yu LG l., 2007). Кроме того, было предположено, что увеличение уровня экспрессии Muc-1 на раковых клетках дает преимущество выживания раковых клеток и играет важную роль в способности опухолей инвазировать и метастазировать (Baldus SE et al., 1998; Cozzi PJ et al., 2005; Rakha EA. Et al., 2005).

Muc-2 - основной секреторный гликопротеин, обильно представлен в эпителии кишечника и дыхательных путей, его экспрессия в различных опухолях выявляет слизеобразующий компонент. Muc-2 считается

диагностическим маркером кишечного фенотипа и используя дополнительно CD10 и Muc-5AC позволяет выделить несколько типов РЖ по фенотипу, а также дифференцировать полную и неполную кишечную метаплазию (Baldus SE et al., 1998; C.M. den Hoed et al., 2013).

Muc-5AC представляет собой секретируемый муцин фовеолярного эпителия желудка, образует защитный слой и служит барьером для соляной кислоты. Сообщалось также, что Muc-5AC подавляет высвобождение опухолевых клеток, в результате снижается инвазия и частота метастазирования (Corfield AP et al., 2000; Nogueira C. et al., 2002; Kim SM et al., 2014). Процесс неопластической трансформации в желудке связан с уменьшением или исчезновением экспрессии Muc-5AC в РЖ (Carrato C. et al., 1994; Ho SB et al., 1995; Fattorossi A. et al., 2002). Имеются спорные и противоречивые результаты о прогностической роли низкого уровня экспрессии Muc-5AC при РЖ. Одни исследователи сообщали, что РЖ с низкой экспрессией Muc-5AC обладает лучшей прогностической значимостью для пациентов (Kocer B. et al., 2004), другие (Suh YS et al., 2012) - что снижение экспрессии Muc-5AC не имеет прогностическое значение для выживаемости пациентов с РЖ, а третьи исследователи сообщали, что снижение экспрессии Muc-5AC относится к плохим прогностическим маркерам. В гастрите, ассоциированном с Hp, последний разрушает сборку молекулы муцина посредством ингибирования галактозилтрансферазы и снижает вязкость слизи желудка за счет повышения pH через секрецию уреазы (Tanaka S. et al., 2003; Celi JP et al., 2009). В кишечной метаплазии структура экспрессии муциновых пептидов изменяется, что приводит к уменьшенной иммунореактивности Muc-5AC, особенно в кишечной метаплазии I типа (Reis CA et al., 1999). Сообщалось, что экспрессия Muc-5AC отсутствовала или была низкой в некоторых случаях РЖ. Молекулярные механизмы, которые приводят к

уменьшению экспрессии Muc-5AC, остаются слабо понятыми (Carrato C. et al., 1994; Ho SB et al., 1995; Reis CA et al., 1999; Kufe DW, 2009).

Белок p53 – фактор транскрипции, регулирующий клеточный цикл, апоптоз и ряд других клеточных процессов. В аденокарциномах желудка мутации в гене онкосупрессоре p53 являются наиболее общими генетическими изменениями и обнаруживаются у 60 % больных. Однако данные о встречаемости их в опухолях интестинального и диффузного типов неоднозначны. Для недифференцированных опухолей (диффузный тип) отмечена низкая частота мутирования независимо от стадии, в то время как в дифференцированных (кишечный тип) – ген p53 часто мутирован, и частота мутаций не имеет стадийных различий (Goldgat D.E. et al., 1994; C.M. den Hoed et al., 2013; Wroblewski LE. et al., 2013). Независимо от гистологического варианта на поздних стадиях опухолевого процесса не менее 40 % новообразований содержат соматические мутации, в частности, в опухолях обоих гистотипов обнаружены мутации в кодоне 249, который является «горячей точкой» («хот спот») мутационных изменений в гене p53 при разных новообразованиях при экспозиции с экзомутagensами, что подтверждает существенную роль канцерогенных воздействий в патогенезе РЖ обоих типов (Margaritescu CI. et al., 2007). Мутации приводят либо к потере функции белка p53 как онкосупрессора, либо к приобретению им онкогенных свойств (так называемые «gain of function» мутации). Опухолевые клетки с такими мутациями часто более автономны и агрессивны, менее восприимчивы к стрессорным стимулам и терапевтическому воздействию, чем опухоли, в которых p53 либо полностью инактивирован, либо его синтез заблокирован за счет мутаций со «сдвигом рамки считывания» (делеции или вставки) (Hakeyama M., 2014).

1.5. Классификация

1.5.1. Классификация опухолевых поражений желудка

Существуют различные подходы к интерпретации эпителиальных предраковых и раковых поражений слизистой оболочки желудка, которые можно условно разделить на европейские и японские (Lauwers GY et al., 1999). Так, в ряде случаев, когда поражение слизистой оболочки желудка по европейским стандартам трактуется как дисплазия, японскими коллегами обозначаются уже как карцинома (Stolte M, 2003; Tan D. et al., 2011; Neil A. et al., 2013; Morson and Dawson`s gastrointestinal pathology. -5th. / edited by Neil A. Shepherd et all, 2013). Одновременно, имеется неоднозначное понимание терминов «аденома» и «дисплазия». Под аденомой желудка понимается ограниченное, приподнятое на ножке или на широком основании, доброкачественное эпителиальное образование слизистой оболочки желудка, а под дисплазией - плоское или углубленное поражение. Такой подход оценки поражения желудка превалирует в европейской школе. В японской школе под аденомой понимается как приподнятое, так и плоское, и даже углубленное образование (Neil A. et al., 2013). В настоящее время существует несколько классификаций опухолевых поражений слизистой оболочки желудка, суммарно приведенные в таблице (таблица 2) (Schlemper RJ et al., 1997; MF Dixon, 2002; Stolte M, 2003; Fred T. Bosman et al., 2010; Yakirevich E et al., 2013; Jae Kyu Sung, 2016).

Согласно Японской классификации, все опухолевые поражения делятся на 5 групп, причем термин «дисплазия» вовсе отсутствует. Морфологические изменения слизистой оболочки желудка в зависимости от групп состоят в следующем. Группа I соответствует слизистой оболочке желудка с наличием гиперплазии и/или метаплазии; группа II – доброкачественным изменениям слизистой оболочки с участками реактивной пролиферации; группа III –

пограничным поражениям – аденомы либо поражения, которые трудно дифференцировать между регенераторными и опухолевыми (диспластичными); в группу IV относят опухоли, в которых присутствуют структурные и клеточные характеристика карцином, однако инвазивный компонент сомнителен; в V группу – карциномы с любой глубиной инвазии.

Пересмотренная Венская классификация гастроинтестинальной эпителиальной неоплазии была предложена как результат международного консенсуса в 2003г. (Stolte M, 2003), которая, наряду с прочим, содержит в себе понятие «неинвазивная карцинома (рак in-situ)», отсутствующее в Японской классификации и классификации ВОЗ-2010, однако имеющее место быть также в TNM-классификации. Имеющиеся различия с японской классификацией касаются не только самих критериев морфологической оценки того или иного поражения слизистой оболочки желудка, но и дальнейшего клинического ведения пациентов (MF Dixon, 2002).

Таблица 2

Классификации эпителиальных новообразований желудка

Японская классификация	Венская классификация	ВОЗ 2010
Группа I: слизистая оболочка с или без доброкачественного поражения	Категория 1: Нет дисплазии	Нет интраэпителиальной неоплазии/ дисплазии
Группа II: доброкачественное поражение с атипией	Категория 2: Неопределенная дисплазия	Неопределенная интраэпителиальная опухоль/дисплазия

Группа III: пограничное поражение	Категория 3: Слизистая с неоплазией (аденома/дисплазия) низкой (слабой) степени	Интраэпителиальная опухоль/дисплазия низкой (слабой) и высокой (тяжелой) степени
Группа IV: поражения, крайне подозрительные на инвазивную карциному	Категория 4: Слизистая с неоплазией тяжелой степени 4.1: аденома/дисплазия тяжелой степени 4.2: неинвазивная карцинома (рак in-situ) 4.3: подозрение на инвазивную карциному 4.4: внутрислизистая карцинома	Внутрислизистая инвазивная опухоль/карцинома
Группа V: инвазивная карцинома	Категория 5: карцинома с подслизистой инвазией	Инвазивная опухоль/карцинома.

Обобщить и унифицировать критерии диагностики эпителиальных предраковых и раковых опухолей желудка попытались классификацией ВОЗ 2010 (Odze RD et al., 2010), согласно которой выделяют несколько групп поражений:

1. Нет интраэпителиальной неоплазии/дисплазии – включены такие доброкачественные процессы как воспаление, метаплазия, реактивные изменения.

2. Неопределенная интраэпителиальная неоплазия/дисплазия – включает изменения слизистой оболочки желудка, когда у морфолога имеются сомнения в опухолевой или неопухолевой (реактивные или регенеративные) природе поражения, особенно при малых объемах биоптатов.

3. Интраэпителиальная неоплазия/дисплазия – предраковое эпителиальное поражение с эпителиальной клеточной и архитектурной атипией, но без очевидного инвазивного роста. Может иметь полиповидную (т.е. аденома в европейском понимании), уплощенную или слегка углубленную форму. ВОЗ предлагает двухуровневую систему градации неоплазии/дисплазии - низкой (low-grade dysplasia) и тяжелой (high-grade dysplasia) степени.

4. Внутрислизистая инвазивная неоплазия/карцинома – под этим термином понимается карцинома с погружением в собственную пластинку.

5. Инвазивная неоплазия/карцинома – карцинома с инвазией за собственную пластинку слизистой оболочки.

1.5.2. Классификация раннего рака желудка

По локализации выделяют 6 типов РРЖ: пилорический, малой кривизны, кардиальный, большой кривизны, фундальный и тотальный (Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition, 2011). Наиболее часто встречается РЖ пилорического типа (около 50%) . Также РРЖ может иметь многоочаговый характер (Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition, 2011).

На наш взгляд, в терминологическом аспекте классификации опухолевых поражений желудка более приемлем европейский подход, а именно - в случае очагового приподнятого на ножке или на широком основании образования СОЖ применять термин «аденома» с указанием степени дифференцировки, и при плоском или углубленном поражении -

термин «дисплазия» также с указанием степени дифференцировки. В неясных случаях (например, при отсутствии эндоскопических данных или при малых кусочках гастробиопсии) считаем возможным, основываясь на классификации ВОЗ-2010, использовать термин «дисплазия/аденома» с указанием степени дифференцировки.

Макроскопический тип - согласно Парижской эндоскопической классификации, которая была разработана группой экспертов в 2002г., к поверхностным опухолевым поражениям желудка относят эпителиальные образования с предраковыми изменениями и/или раком или с подозрением на таковые, ограниченные слизистой оболочкой и подслизистой основой стенки желудка (Lambert R., 2003; Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition, 2011; Sumiyama K., 2017).

Для макроскопической классификации РРЖ и поверхностных эпителиальных образований желудка был выделен дополнительный тип «0», внутри которого выделяют 3 подтипа (рисунок 4) (Japanese Gastric Cancer Association, 2017):

0-I выступающий (полиповидный), более 2,5мм высотой (0-Ip – на ножке, 0-Is – на широком основании),

0-II – поверхностный (плоский), не более 2,5мм высотой и 1,2мм глубиной (0-IIa – приподнятый, 0-IIb – плоский, 0-IIc - углубленный),

0-III – изъязвленный.

Кроме того, в Парижской классификации отмечено, что достаточно часто встречается сочетание двух типов опухоли – чаще 0-IIa+IIc и 0-IIb+IIc (Lambert R., 2003; Endoscopic Classification Review Group, 2005).

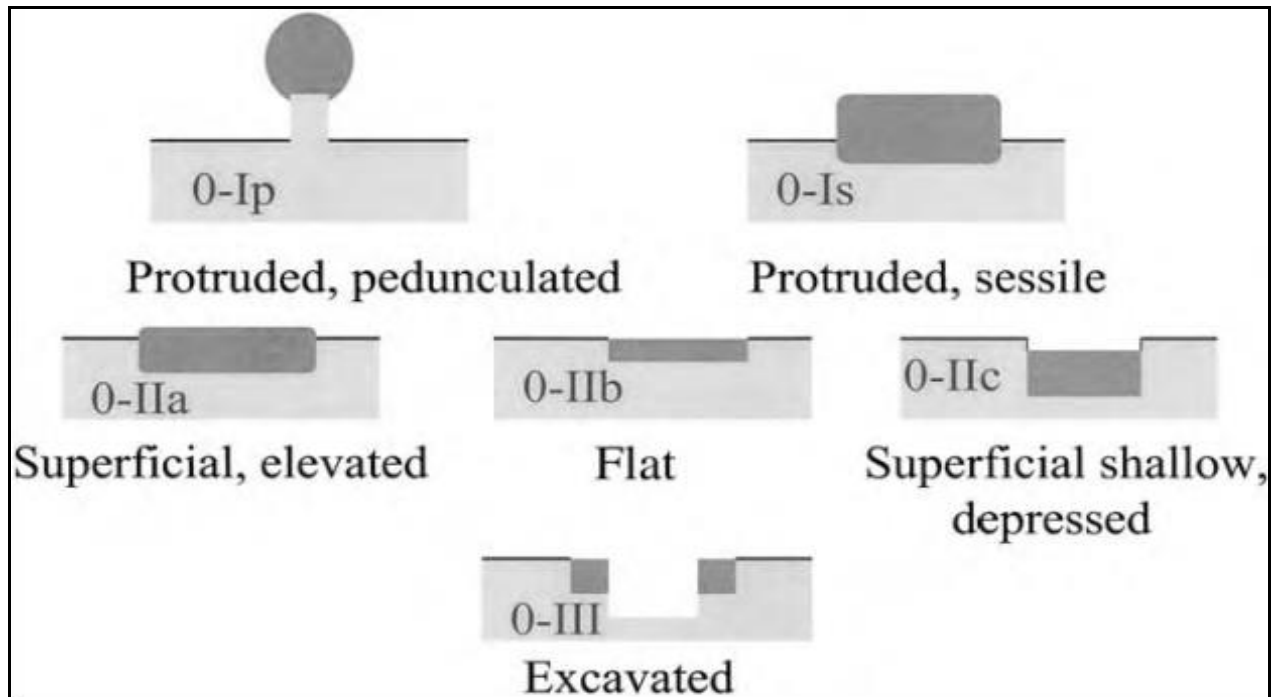


Рисунок 4 - Парижская эндоскопическая классификация поверхностных эпителиальных новообразований желудка

Гистологическая классификация ВОЗ 2010 (Hamilton S.R. et al., 2000; Bosman F.T. et al., 2010; Neil A. et al., 2013) к РРЖ относятся 5 типов аденокарцином: папиллярная, тубулярная, муцинозная, низкодифференцированная (включая перстневидноклеточный рак и другие варианты) и смешанноклеточная аденокарциномы. При определении гистологического типа опухоли для тубулярной и папиллярной аденокарцином необходимо указывать степень их дифференцировки. Для остальных аденокарцином дифференцировка не проводится.

Всего выделяют 3 степени дифференцировки: высоко-, умеренно- и низкодифференцированные (Carriaga M.T. et al., 1995; Bosman F.T. et al., 2010).

Гистологическая классификация рака желудка по Lauren (1965): кишечный, диффузный и смешанный типы РРЖ (Lauren P., 1965; Ming S.C., 1977; Lewin K.J. et al., 1996; Chen Y.C. et al., 2016).

По нашему мнению, в практической деятельности целесообразно применять гистологическую классификацию ВОЗ-2010.

TNM-классификация.

Согласно TNM-классификации злокачественных опухолей (8 издание) к раннему раку желудка относятся (James D. Brierley et al., 2018):

- •Tis – интраэпителиальная опухоль без инвазии в собственную пластинку слизистой оболочки и тяжелая дисплазия
- •T1 – опухоль прорастает в собственную пластинку слизистой оболочки, мышечную пластинку слизистой оболочки или подслизистую основу
- T1a – опухоль прорастает в собственную пластинку слизистой оболочки или мышечную пластинку слизистой оболочки
- T1b – опухоль прорастает в подслизистую основу

Однако, в настоящее время рубрика T1b уже не вполне отвечает задачам клиники и связано это с различной частотой лимфогенного метастазирования РРЖ в зависимости от глубины инвазии в подслизистой основе стенки желудка, что особенно важно при проведении ЭРСО/ЭДПС (The Paris endoscopic classification of superficial neoplastic lesions, 2002; Endoscopic Classification Review Group, 2005; Park K. et al., 2014). В связи с этим, Японская классификация предлагает деление стадии pT1b на три подстадии: T1b1 (SM1) - глубина инвазии в подслизистую основу до 500мкм, T1b2 (SM2) – до 1000мкм, T1b3 (SM3) – до мышечного слоя (Park K. et al., 2014; Japanese Gastric Cancer Association, 2017).

МКБ-10

C16 Злокачественное новообразование желудка (рисунок 5).

- C16.0 ЗНО кардии.
- C16.1 ЗНО дна желудка.
- C16.2 ЗНО тела желудка.
- C16.3 ЗНО преддверия привратника.
- C16.4 ЗНО привратника.
- C16.5 ЗНО малой кривизны желудка неутонченной части.
- C16.6 ЗНО большой кривизны желудка неутонченной части.
- C16.8 Поражение желудка, выходящее за пределы вышеуказанных областей.
- C16.9 ЗНО желудка неутонченной локализации.

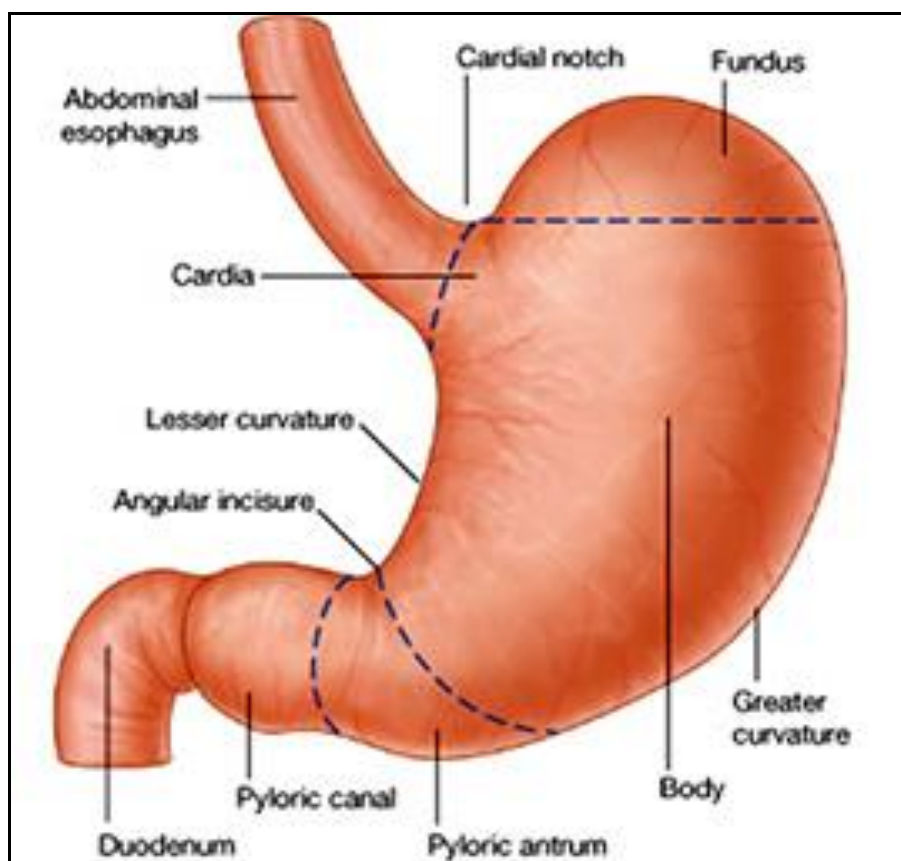


Рисунок 5 - Анатомическая локализация ЗНО желудка

Клинико-морфологическая характеристика эпителиальных образований желудка.

Морфологически дисплазия основывается на цитологических (снижение муцина в цитоплазме, увеличении плотности эпителиальных клеток, гиперхромные ядра, увеличенное ядерно-цитоплазматическое соотношение, увеличение количества митозов) и архитектурных (извитость желез, нерегулярное ветвление, расширение просвета желез) особенностях (Guindi M et al., 2001; Morson and Dawson`s gastrointestinal pathology. -5th. / edited by Neil A. Shepherd et al., 2013).

В литературе описывается несколько типов дисплазии (Jass JR, 1983; Morson and Dawson`s gastrointestinal pathology. -5th. / edited by Neil A. Shepherd et al., 2013), наиболее частой из которых является аденоматозная (кишечная) дисплазия (тип I), считается предшественником кишечного типа аденокарциномы желудка. Дисплазия I типа имеет кишечный фенотип и напоминают тубулярные аденомы толстой кишки, выстланные атипичными столбчатыми клетками, гиперхромными и/или полиморфными ядрами, с псевдостратификацией, снижением содержания муцина и поверхностного созревания (Jass JR, 1983). Дисплазия II типа (желудочная – фовеолярная или пилорическая) – характеризуется железами листовидной (сложно-разветвленной) формы с зубчатым эпителием, представленный кубическими или низкими столбчатыми клетками со светлой или эозинофильной цитоплазмой, круглыми/овальными ядрами, могут встречаться бокаловидные клетки, клетки Панета, эндокринные клетки. Эти типы дисплазии могут сочетаться друг с другом (Jass JR, 1983). Иммуногистохимически экспрессируют: аденоматозный тип дисплазии - Muc2, CD10 и CDX2, фовеолярный тип дисплазии – Muc5-AC, низкий уровень CDX2 и отсутствие экспрессии CD10 (Park do Y. et al., 2008; Park do Y. et al., 2010). Пилорический

тип дисплазии характеризуется близко расположенными железами, выстланными небольшими кубическими клетками со слабо эозинофильной цитоплазмой и мелкими гиперхромными ядрами; встречается главным образом в теле и дне желудка у пациентов старших возрастных групп и часто ассоциированы с аутоиммунным гастритом (Morson and Dawson`s gastrointestinal pathology. -5<sup>th</sup>. / edited by Neil A. Shepherd et all, 2013). Также выделяют крайне редко встречающуюся тубулярно-шеечную дисплазию, являющуюся предшественником карциномы диффузного типа (Morson and Dawson`s gastrointestinal pathology. -5th. / edited by Neil A. Shepherd et all, 2013).

В соответствии с тяжестью гистологических нарушений слизистой оболочки желудка дисплазию можно разделить на 2 степени (двухуровневая система) – низкой (легкой) и высокой (тяжелой) (Odze RD et al., 2010; Morson and Dawson`s gastrointestinal pathology. -5th. / edited by Neil A. Shepherd et all, 2013) или на 3 степени (трехуровневая система) – легкая, умеренная и тяжелая. Признано, что к дисплазии тяжелой степени (high-grade dysplasia) соотносится тяжелая и в большей степени умеренная дисплазия.

На наш взгляд, несмотря на более распространенную в России трехуровневую градацию степени дисплазии, с целью унификации подходов к опухолевым поражениям желудка между патологами различных стран, а также оптимизации лечебной тактики необходимо придерживаться установленной классификацией ВОЗ-2010 двухуровневой градации степени дисплазии – дисплазия слабой и тяжелой степени тяжести.

Дисплазия слабой степени характеризуется минимальными нарушениями архитектоники желез (слабо извитые, с небольшим ветвлением), которые выстланы однорядным эпителием с преимущественно базально расположенными вытянутыми близко расположенными ядрами с плотным хроматином, местами ядра могут «подниматься» к апикальной поверхности клеток, однако ограничены 2/3 базальной части клетки, митозы редки (Morson

and Dawson`s gastrointestinal pathology. -5th. / edited by Neil A. Shepherd et all, 2013).

Дисплазия тяжелой степени характеризуется более значимыми нарушениями архитектоники – железы близко расположены, извиты, с ветвлением, даже могут быть крибриформные структуры, отмечается псевдомногорядность эпителия, ядра округлой и овальной формы, с дисперсным более просветленным хроматином, расположены на разных уровнях клетки, в том числе многие в апикальной части, встречаются ядрышки, часты митозы (Morson and Dawson`s gastrointestinal pathology. -5th. / edited by Neil A. Shepherd et all, 2013).

Кроме дисплазии в СОЖ может присутствовать реактивную/атипическую регенерацию слизистой оболочки. В этом случае, клетки выстилающего эпителия имеют кубическую форму, базофильную цитоплазму, ядра небольшие и расположены без наслоений, хотя могут различаться по размеру и с участками псевдостратификации, митозы часты, но нет патологических.

Наиболее трудным вопросом в исследовании эпителиальных опухолей желудка является разграничение между дисплазией тяжелой степени и внутрислизистым раком. Внутрислизистая карцинома отличается от интраэпителиальной неоплазии/дисплазии наличием десмопластических изменений (однако они могут быть минимальны или даже отсутствовать), различными структурными нарушениями, такими как скученность желез, чрезмерное их ветвление и почкование (Grundmann E. et al., 1982; Goseki N. et al., 1992). В просвете желез довольно часто определяется некротический детрит. При отсутствии десмопластической реакции в строме могут присутствовать единичные воспалительные клетки (Huh C.W. et al., 2016; Shin D.H. et al., 2017). Опухолевые клетки внутрислизистой карциномы обычно

кубической формы с высоким ядерно-цитоплазматическим отношением. Митозы обычно многочисленны, в том числе встречаются и патологические.

Ранний рак желудка:

Папиллярная аденокарцинома – состоит из вытянутых папиллярных структур с заостренными или уплощенными верхушками и фиброваскулярной стромой, выстланных цилиндрическим или кубическим эпителием, как правило, с сохранной полярностью; могут быть микропапиллярные структуры, а также тубулярные структуры (рисунок 8 и 9). Клеточная атипия и митотическая активность варьируют. Опухоль может быть инфильтрирована клетками острого и хронического воспаления (Morson and Dawson`s gastrointestinal pathology. -5th. / edited by Neil A. Shepherd et all, 2013).

Тубулярная аденокарцинома – состоит из тубулярных структур различной формы и диаметра, окруженных десмопластической стромой различной выраженности, может встречаться ацинарный и светлоклеточный компонент. Тубулярные структуры выстланы столбчатыми, кубическими или уплощенной формы клетками, в просвете заметна слизь (рисунок 10). Выявляется клеточная и ядерная атипия от легкой до тяжелой степени (Morson and Dawson`s gastrointestinal pathology. -5th. / edited by Neil A. Shepherd et all, 2013).

Муцинозная аденокарцинома – редкая опухоль (менее 1% (Yoo C.H. et al., 2013)), состоящая из ракового эпителия с внеклеточными озерами слизи (не менее 50% опухоли), может присутствовать перстневидноклеточный компонент (Morson and Dawson`s gastrointestinal pathology. -5th. / edited by Neil A. Shepherd et all, 2013).

Низкодифференцированная аденокарцинома (включая перстневидноклеточный рак (рисунок 11) и другие варианты) – состоит из

разрозненных или группирующихся опухолевых клеток (Morson and Dawson`s gastrointestinal pathology. -5th. / edited by Neil A. Shepherd et all, 2013).

Смешанноклеточная аденокарцинома – состоит из тубулярной/папиллярной и низкодифференцированной аденокарциномы (Morson and Dawson`s gastrointestinal pathology. -5th. / edited by Neil A. Shepherd et all, 2013).

Классификация рака желудка по Lauren (1965) (Lauren P., 1965; Ming S.C., 1977; Lewin K.J. et al., 1996; Chen Y.C. et al., 2016):

- **Кишечный тип** (другое его название – интестинальный рак) – опухоль состоит из железистых структур различной степени дифференцировки из клеток кишечного типа. Обычно это высокодифференцированные аденокарциномы. Чаще всего развивается такой рак на фоне хронического атрофического гастрита с кишечной метаплазией эпителия и под действием экзогенных канцерогенных факторов. Диагностируется у мужчин в два раза чаще, чем у женщин. Иммуногистохимически обладают вариабельной экспрессией к CK7 (51%), CK20 (48%), CDX2 (60%), Muc1 (31%) и Muc5-AC (Hannah H. et al., 2017).
- **Диффузный тип** – опухоль состоит плохо связанных клеток с небольшим числом или полным отсутствием железистых структур. Чаще всего это перстневидноклеточный или недифференцированный рак, иногда – низкодифференцированная аденокарцинома. Кишечная метаплазия вне опухоли почти всегда отсутствует, в самой опухоли похожие на эпителий клетки также отсутствуют. При диффузном раке в основном наблюдаются неатрофические формы хронического гастрита или гипертрофия слизистой оболочки, диффузный рак в значительной мере связан с генетическими особенностями организма

и не связан с инфекцией *H.pylori*. Такой рак диагностируют у молодых пациентов, у мужчин и женщин – с одинаковой частотой. Свыше 70% случаев позитивны к CDX2, CK7 и обладают вариабельной экспрессией к CK20, Muc2 и Muc-5AC, но негативный к Muc-1 и E-cadgerin (Hannah H. et al., 2017).

- **Смешанный тип** – опухоль в равных пропорциях представлена кишечным и диффузным типами.

1.6. Варианты исхода и лечения

Выделение степени дисплазии слизистой оболочки желудка обусловлено не столько желанием морфолога подчеркнуть гистологические особенности эпителиальной опухоли, сколько пониманием решающего прогностического значения для выбора тактики ведения пациента. В качестве исхода дисплазии рассматривается ее регресс (снижение степени дисплазии или полное исчезновение), дисплазия без динамики и прогрессирование (в более тяжелую дисплазию и/или аденокарциному) (рисунок 6) (Saraga E-P et al., 1987; Rugge M et al., 1991; Di Gregorio C et al., 1993; Farinati F et al., 1993; Pathology and Genetics of Tumors of the Digestive System, 1993; Янкин А.В., 2010).

Трехуровневая система классификации дисплазии

Легкая дисплазия подвержена регрессу до 89% случаев, сохраняется на том же уровне в 11-19%, прогрессирует в более тяжелые формы до 19% и только до 5% случаев в конечном счете прогрессируют до аденокарциномы (Whiting JI et al., 2002; Dinis-Ribeiro et al., 2004; Yamada et al., 2004; de Vries et al., 2008; Park SY et al., 2008). Также высока вероятность того, что многие случаи легкой дисплазии являлись на самом деле реактивной пролиферацией и на повторных биопсиях не обнаруживается.

Умеренная дисплазия подвержена регрессу до легкой дисплазии или полного исчезновения в диапазоне 27-87% случаев, в 12-32% остаются без изменений и между 4 и 40% прогрессируют в тяжелую дисплазию за время наблюдения, при этом от 4 до 38% случаев умеренной дисплазии в конечном счете переходят в аденокарциному (Whiting JI et al., 2002; Dinis-Ribeiro et al., 2004; Yamada et al., 2004; de Vries et al., 2008; Park SY et al., 2008).

Тяжелая дисплазия до 30% случаев показывает регресс, от 0 до 12,5% без изменений, а от 60 до 81% случаев переходят в аденокарциному (Whiting JI et al., 2002; Dinis-Ribeiro et al., 2004; Yamada et al., 2004; de Vries et al., 2008; Park SY et al., 2008).

Двухуровневая система классификации дисплазии

Дисплазия слабой степени подвержена регрессу в 38-49% случаев, сохраняется на том же уровне в 19-28%, прогрессирует в более тяжелые формы до 23% (Whiting JI et al., 2002; Dinis-Ribeiro et al., 2004; Yamada et al., 2004; de Vries et al., 2008; Park SY et al., 2008).

Дисплазия тяжелой степени подвержена регрессу в 5% случаев, сохраняется на том же уровне в 14%, прогрессирует в аденокарциному 81-85% случаев (Whiting JI et al., 2002; Dinis-Ribeiro et al., 2004; Yamada et al., 2004; de Vries et al., 2008; Park SY et al., 2008).

В ряде исследований было показано, что между установлением тяжелой дисплазии и развитием аденокарциномы проходит от 1 до 39 месяцев (в среднем 4-23 месяца); от умеренной дисплазии – в среднем 10-30 месяцев с разбросом от 1 до 39 месяцев; от легкой дисплазии до развития аденокарциномы (в небольшой части случаев) 35-41 месяц (Whiting JI et al., 2002; Dinis-Ribeiro et al., 2004; Yamada et al., 2004; de Vries et al., 2008; Park SY et al., 2008).



Рисунок 6 - Биологическое поведение дисплазии желудка различной степени тяжести и сроки малигнизации

1.7. Лечебная тактика

Лечебная тактика при опухолевых поражениях желудка постоянно совершенствуется, меняются подходы, однако в целом, при наличии *H. pylori*-ассоциированного гастрита проводится его эрадикация. При дисплазии желудка низкой степени показано динамическое наблюдение, дисплазии высокой степени - эндоскопическая резекция/диссекция слизистой оболочки желудка; при РРЖ - эндоскопическая резекция/диссекция или ограниченная хирургическая резекция; при местнораспространенном раке желудка - радикальное хирургическое или комбинированное лечение; при генерализованном раке желудка - паллиативное лекарственное либо симптоматическое лечение (рисунок 7) (Соколов В.В. и соавт., 2012; Клинические рекомендации по диагностике и лечению больных раком желудка, 2014; Lambert R., 2003; Ryu D.G. et al., 2017).

Хирургические методы лечения

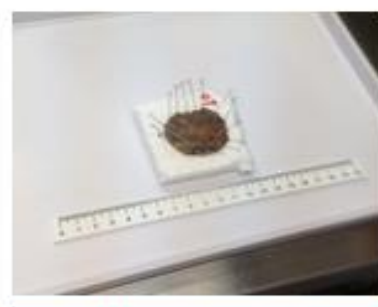
- Ранее золотым стандартом для лечения РЖ являлась субтотальная резекция желудка или гастрэктомия с лимфодиссекцией регионарных лимфоузлов D2, однако данная операция сильно влияет на качество жизни пациентов. Для лечения РРЖ с минимальным риском метастазирования в регионарные лимфатические узлы методом выбора является эндоскопическая резекция слизистой (EMR) и эндоскопическая субмукозная диссекция (ESD).



Субтотальная резекция



Гастрэктомия



Эндоскопическая
субмукозная диссекция

Рисунок 7 - Варианты хирургических методов лечения рака желудка

Однако, применение органосохраняющих эндоскопических операций возможно не во всех случаях РРЖ. Согласно рекомендациям Российского общества онкологов (Клинические рекомендации по диагностике и лечению больных раком желудка, 2014), показаниями для проведения эндоскопического лечения РРЖ служат отсутствие инвазивного роста рака в подслизистую основу желудка, высокая и/или умеренная степень дифференцировки рака, размер опухоли до 2 см без изъязвления, отсутствие клинически определяемых метастазов в регионарные лимфоузлы и отсутствие лимфоваскулярной инвазии. При этом показания к эндоскопическому лечению могут быть расширены у больных с высоким риском хирургического вмешательства.

Клинико-морфологические особенности малигнизации эпителиальных новообразований желудка, несмотря на достаточно большое количество научных работ, посвященных данной проблеме, изучены в настоящее время не в полном объеме, и посвящены преимущественно либо клиническим аспектам, либо морфологическим чертам рака желудка без акцента на ранние его формы.

Вместе с тем, учитывая актуальность проблемы рака желудка, все больше внимания уделяется возможностям эндоскопического его лечения на ранних стадиях, когда результаты сравнимы с классическими методами хирургического лечения (гастрэктомия, субтотальная резекция желудка). В связи с этим, все большую роль играет патологоанатомическое исследование удаленных новообразований желудка, позволяющее комплексно охарактеризовать злокачественные опухоли и провести оценку эффективности выполненного эндоскопического вмешательства.

Для решения задач патологоанатомического исследования новообразований желудка неотъемлемым методом становится иммуногистохимическое исследование, которое позволяет не только изучить патогенетические основы роста злокачественной эпителиальной опухоли желудка, но и зачастую выявить различия между дисплазией желудка тяжелой степени и ранним раком желудка. Кроме того, в завершении патологоанатомического исследования необходимо объективно оценить эффективность проведенного эндоскопического хирургического лечения.

Вышеизложенное свидетельствует о необходимости проведения комплексного клинико-морфологического изучения эпителиальных опухолей желудка с разработкой алгоритма.

ГЛАВА 2. Материал и методы исследования

2.1. Клиническая характеристика материала

Материалом для исследования послужили фрагменты опухолевой ткани желудка, удаленные у пациентов, проходивших лечение в ГБУЗ «Городская клиническая больница №31 Департамента здравоохранения города Москвы» в период с 2013 по 2017 годы. Всего на исследование было отобрано 135 случаев от 100 пациентов в возрасте от 32 до 85 лет, из них 114 – опухолевые поражения желудка (за исключением образований, относящихся к пищеводно-желудочному переходу) и 21 случай с диагностированным ХАГ (таблица 3).

Таблица 3

Количество исследованных случаев с СДЖ, ТДЖ и РРЖ по группам

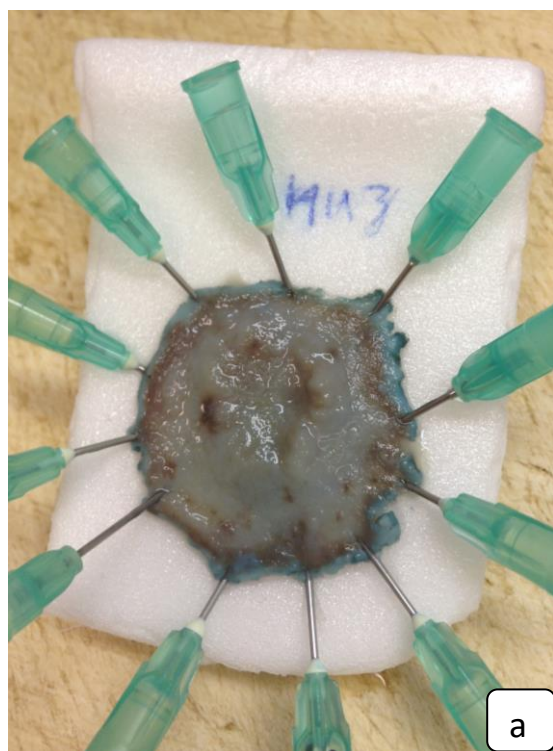
Хронический атрофический гастрит	Дисплазия желудка слабой степени	Дисплазия желудка тяжелой степени	Ранний рак желудка	
			Кишечный тип	Диффузный тип
21	22	57	31	4

Из 135 случаев – 77 удалены методами ЭРСО/ЭДПО (все случаи РРЖ и ХАГ, 21 случай ТДЖ); 58 случаев – биопсированные фрагменты.

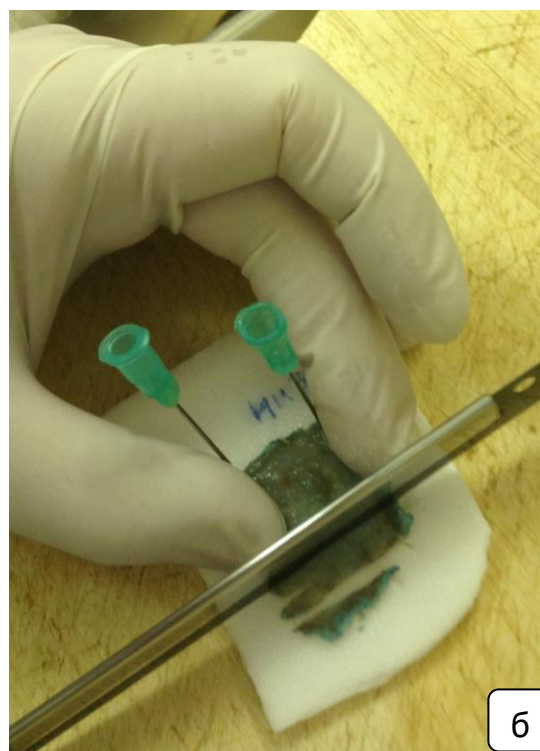
2.2. Методы исследования

Все фрагменты опухоли сразу после удаления были помещены в 10% забуференный раствор формалина, после фиксации в течение 24 часов выполнялась проводка по стандартной методике и заливка в парафин.

Эпителиальные новообразования, удаленные методами ЭРСО/ЭДПО, вырезались шагом в 2 мм и целиком брались в исследование (рисунок 8).



а



б



в

Рисунок 8 - Особенности вырезки раннего рака желудка, удаленного методами ЭРСО/ЭДПО. а) укладка и фиксация РРЖ к ровной поверхности сразу после операции; б) вырезка РРЖ на всю ширину РРЖ шагом в 2мм; в) укладка в гистологические кассеты

Гистологические срезы толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, а также проводили комбинированную ШИК-реакцию в сочетании с альциановым синим (для выявления нейтральных муцинов и высоко сульфатированных муцинов).

В группах с ХАГ (в 21 случае), ТДЖ (в 21 случае) и РРЖ кишечного типа (в 21 случае) дополнительно было проведено ИГХ, а в этой же группе с РРЖ кишечного типа - также ПЦР в режиме реального времени и окраска по Романовскому-Гимзе.

ИГХ проведено с готовыми первичными моноклональными АТ фирмы Leica Bond к цитокератинам (СК) 7 (клон RN7), 8/18 (клон 5D3), муцинам (Мус) -1 (клон Ма695), -2 (клон Сср58) и -5АС (клон CLH2), р53 (клон DO-7). Для ИГХ были изготовлены срезы толщиной 4 мкм, которые наносили на высокоадгезивные стекла и высушивали в термостате при температуре 70°C в течение 2 часов. В качестве детекционной системы применяли систему «Bond Polymer Refine Detection [DS9800]», в качестве хромогена – диаминобензидин. Реакции проводили с помощью автоматического иммуногистостейнера «Leica Bond-MAX».

Интерпретация ИГХ с указанными АТ проводилась по двум критериям: критерий №1 - количество опухолевых клеток, экспрессирующих АТ, критерий №2 – интенсивность экспрессии АТ [Соколов В.В. и соавт., 2012].

Оценку экспрессии АТ по критерию №1 производили путем подсчета количества окрашенных опухолевых клеток на 100 клеток препарата в 10 полях зрения (увеличение x40) и выражали полученные результаты в процентах. Интенсивность экспрессии оценивали полуколичественным способом по балльной шкале от 0 до 3:

0 – отсутствие реакции;

1– слабая реакция (светло-коричневое окрашивание);

2 – умеренная реакция (коричневое окрашивание);

3 – сильная реакция (темно-коричневое окрашивание).

Препараты изучались при помощи светового микроскопа «Leica DMLB» со стандартным набором оптики. Микрофотографирование производилось на микроскопе биологическом универсальном Leica DMLB с цветной цифровой камерой DFC420 при помощи стандартного программного средства Leica Application Suite v. 3.7.0.

Для оценки Нр использовали 3 метода – гистохимический (гистологические срезы окрашивали по Р-Г, ИГХ с кроличьими поликлональными АТ фирмы Cell Marque к Нр и ПЦР с использованием набора АмплиСенс Нр. Для оценки целостности мышечной пластинки слизистой оболочки проведено ИГХ с первичными моноклональными АТ фирмы Leica Bond к десмину (клон DE-R-11), а для оценки наличия или отсутствия раковых эмболов в просвете кровеносных сосудов - с первичными моноклональными АТ фирмы Leica Bond к CD34 (клон QBEnd/10) и фирмы Cell Marque к Podoplanin (D2-40). С целью подтверждения эпителиального генеза клеточных кластеров в просвете сосудов нами использовалось ИГХ с АТ к CK8/18.

Кроме того, методом ПЦР в режиме реального времени с набором KRAS/BRAF Mutation Analysis Kit (фирма EntroGen) и Real-time-PCR-HER2/new (фирма БиоЛинк) проведена оценка мутаций генов KRAS и BRAF, а также амплификации гена HER2 в 21 случае РРЖ кишечного типа. Оценка результатов ПЦР проводилась строго в соответствии с инструкциями производителя наборов KRAS/BRAF и HER2/new.

Генетическое исследование

Выделение ДНК для молекулярно-генетических методов исследования проводилось из фиксированного в 10% нейтральном формалине и

заключённого в гистологические парафиновые блоки, из которых производились параллельные срезы с шагом 3 мкм. Выделение ДНК проводилось с помощью набора материалов и реагентов Cobas DNA Sample Preparation Kit (производитель Roche Molecular Systems, США) и включало основные этапы: депарафинизация, лизис ткани, сорбция ДНК на сорбирующие колонки, промывка и элюция ДНК в ТЕ-буфер.

Количество и качество выделенной ДНК оценивалось спектрофотометрическим методом с помощью микрофотометра NanoDrop (Thermo Scientific, США).

Анализ на мутации генов KRAS и BRAF проводился методом аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени с помощью набора реагентов KRAS/BRAF Mutation Analysis Kit (EntroGen, США). Принцип метода заключается в использовании в реакции ПЦР аллель-специфичных праймеров, обладающих большим сродством к исследуемым однонуклеотидным заменам (мутациям), чем к нуклеотидной последовательности генов дикого типа. Комбинация аллель-специфичных праймеров с технологией ПЦР в режиме реального времени (в данной работе использовались ПЦР-смеси с TaqMan зондами) позволяет выявить искомые мутации. ПЦР-исследование проводилось согласно инструкциям к набору KRAS/BRAF Mutation Analysis Kit, предоставленные производителем. Термальный цикл и измерение флуоресценции проводилось на термоциклере C1000 с оптическим модулем CFX 96 (Bio-Rad, США) с использованием программного обеспечения Bio Rad CFX-Manager v.2.1.

При запуске каждой аналитической серии проводился анализ положительного и отрицательного контрольного образца (входят в состав набора реагентов) с целью контроля правильности постановки ПЦР-реакции, отсутствия контаминации. Кроме того, в качестве внутреннего контроля данным набором реагентов используется человеческая ДНК, выявление

которой по отдельному флуоресцентному каналу в каждом образце позволяет контролировать достаточность ДНК-матрицы в образце и отсутствие ингибиторов ПЦР-реакции. Выявление мутаций констатируется по итогам анализа данных, включая правильное прохождение всех контрольных точек и выявление специфических для мутаций кривых флуоресценции – согласно инструкции к набору реагентов.

Панель выявляемых мутаций включает: ген KRAS (12,13,61,117,146 кодоны): ген KRAS (12,13,61,117,146 кодоны): G12A (с.35G>C); G12D(с.35G>A); G12R (с.34G>C); G12C (с.34G>T) ; G12S (с.34G>A); G12V (с.35G>T); G13D (с.38G>A); Q61H (с.183A>C; с.183A>T); Q61H (с.182A>T); Q61R (с.182A>G); K117N (с.351A>C; с.351A>T); K117R(с.350A>G); K117E (с.349A>G); A146T (с.436G>A); A146P (с.436G>C); A146V (с.437C>T); ген BRAF: V600E (с.1799T>A). Лимит детекции мутаций – 5% на фоне ДНК дикого типа.

Выявление амплификации гена Her2 проводилось методом ПЦР в режиме реального времени с использованием набора реагентов Real- time-PCR-HER2/neu (БиоЛинк Россия). Принцип метода заключается в сравнении количества копий гена Her2 в образце по отношению к количеству копий контрольного участка ДНК в этом же образце методом d(дельта)Ct в сравнении с нормальным контролем (входит в состав набора), при превышении референсного значения dCt, обозначенного в инструкции к набору, констатируется амплификация гена Her2. Также в каждой серии анализов ставится положительный (образец с амплификацией гена Her2) и отрицательный (образец без ДНК-матрицы) контроль (входят в состав набора). Термальный цикл и измерение флуоресценции проводилось на термоциклере C1000 с оптическим модулем CFX 96 (Bio-Rad, США) с использованием программного обеспечения Bio Rad CFX-Manager v.2.1.

Выявление ДНК *Helicobacter Pylori* проводилось методом ПЦР с помощью набора Амплисенс *Helicobacter Pylori* (Амплисенс, Россия). Принцип ПЦР основан на детекции ДНК Нр специфичными праймерами с детекцией ПЦР продукта по нарастанию флуоресценции по технологии TaqMan. Постановка ПЦР и интерпретация результатов проводилась согласно инструкции к набору. Каждая аналитическая серия включала положительный, отрицательный и внутренний контроли (входят в набор реагентов).

Термальный цикл и измерение флуоресценции проводилось на термоциклере C1000 с оптическим модулем CFX 96 (Bio-Rad, США) с использованием программного обеспечения Bio Rad CFX-Manager v.2.1.

2.3. Обработка медицинской документации

Одним из этапов исследования явилась работа с медицинскими картами стационарных и амбулаторных больных с опухолевыми поражениями желудка, включая ранний рак. При этом учитывался пол и возраст пациента, методы эндоскопической операции, данные гастроскопии по размеру и макроскопическому типу опухоли, ее локализации.

2.4. Статистическая обработка данных

Перед началом работы методом Колмогорова-Смирнова был проведен анализ цифровых данных на нормальность распределения. Для статистической обработки данных использовали методы непараметрической статистики. Выборки описывали через медиану и межквартильные размахи (25% и 75%). Сравнение групп проводили методом дисперсионного анализа Kruskal-Wallis «multiple comparisons of mean ranks for all groups». Частотный анализ проводился с использованием метода хи-квадрат и оценкой стандартизованного смещения. Отличия считали статистически значимыми

при $p < 0,05$. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета статистических программ SPSS 16.0

Глава 3. Результаты исследования

3.1. Анализ клинико-морфологических особенностей эпителиальных новообразований и раннего рака желудка. Молекулярно-генетические черты раннего рака желудка

3.1.1. Поло-возрастные характеристики дисплазии желудка

При сопоставлении по полу суммарно групп с СДЖ, ТДЖ, РРЖ диффузного типа и РРЖ кишечного типа установлено, что всего мужчин исследовано 53, женщин 61 - статистически значимых различий по полу нет (таблица 4).

Таблица 4

Количество исследованных случаев с СДЖ, ТДЖ и РРЖ по полу*

		Пол		Всего
		Муж	Жен	
	Слабая дисплазия	10	12	22
	Тяжёлая дисплазия	27	30	57
	РРЖ кишечный тип	14	17	31
	РРЖ диффузный тип	2	2	4
Всего		53	61	114

* $p > 0,05$

При сопоставлении по возрасту суммарно групп с СДЖ, ТДЖ, РРЖ диффузного типа и РРЖ кишечного типа установлено, что средний возраст мужчин 65,1 лет, женщин 64,5 лет - статистически значимых различий по возрасту у мужчин и женщин нет (таблица 5).

Таблица 5

Количество исследованных случаев с СДЖ, ТДЖ и РРЖ по полу и возрасту*

Пол	Количество случаев	Среднее значение	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка среднего
Муж	53	65,1	8,1	1,1
Жен	61	64,5	13,3	1,7

**p>0,05*

При сопоставлении по возрасту отдельно по группам с СДЖ, ТДЖ и РРЖ кишечного типа установлено, что средний возраст в группе со СДЖ 64,3 лет, с ТДЖ – 63,8 лет, с РРЖ кишечного типа 67,2 лет - статистически значимых различий по возрасту в группах с СДЖ, ТДЖ и РРЖ кишечного типа нет (таблица 6).

Таблица 6

**Количество исследованных случаев с СДЖ, ТДЖ и РРЖ
кишечного типа по возрасту***

Патология	Количество случаев	Среднее значение	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка среднего
Слабая дисплазия	22	64,3	10,8	2,3
Тяжелая дисплазия	57	63,8	11,9	1,6
РРЖ кишечный тип	31	67,2	10,5	1,9

**p>0,05*

При сопоставлении типов опухоли по макроскопическому типу среди мужчин и женщин - статистически значимых различий нет (таблица 7).

Таблица 7

**Распределение исследованных случаев с СДЖ, ТДЖ и РРЖ
(суммарно) по полу в соответствии с Парижской эндоскопической
классификацией**

тип		пол		Всего
		жен	муж	
0- сочетанная	Количество случаев	8	7	15
	Стандартизированные остатки	0,0	0,0	
0-IIc	Количество случаев	3	2	5
	Стандартизированные остатки	0,2	-0,2	
0-IIa	Количество случаев	21	17	38
	Стандартизированные остатки	0,1	-0,2	
0-IIb	Количество случаев	13	17	30
	Стандартизированные остатки	-0,8	0,8	
0-Ip	Количество случаев	16	8	24
	Стандартизированные остатки	0,9	-0,9	
0-Is	Количество случаев	0	2	2
	Стандартизированные остатки	-1,0	1,1	
Всего		61	53	114

В целом, среди групп с СДЖ, ТДЖ и РРЖ кишечного и диффузного типа преобладают образования желудка 0-IIa и 0-IIb типов (более половины от всех случаев – 60%). Всего 1,5% образования желудка 0-Is типа, 0-III тип образований ни одного случая (таблица 8). Примечательно, что 13% всех случаев представлены сочетанием различных типов образований желудка.

Таблица 8

Распределение исследованных случаев по группам с СДЖ, ТДЖ и РРЖ в соответствии с Парижской эндоскопической классификации

Тип опухоли		патология				Всего
		СДЖ	ТДЖ	РРЖ кишечный тип	РРЖ диффузный тип	
0- сочетанная	Количество случаев	1	7	7	0	15
	Стандартизированные остатки	-1,1	-0,2	1,4	-0,7	
0-IIc	Количество случаев	2	1	1	1	5
	Стандартизированные остатки	1,1	-0,9	-0,3	2,0	
0-IIa	Количество случаев	8	18	9	3	38
	Стандартизированные остатки	0,2	-0,2	-0,4	1,4	
0-IIb	Количество случаев	4	18	8	0	30
	Стандартизированные остатки	-0,7	0,8	0,0	-1,0	
0-Is	Количество случаев	7	11	6	0	24
	Стандартизированные остатки	1,1	-0,3	-0,2	-0,9	
0-Is	Количество случаев	0	2	0	0	2
	Стандартизированные остатки	-0,6	1,0	-0,7	-0,3	
Всего		22	57	31	4	114

3.1.2. Дисплазия желудка слабой степени

Проведенное исследование в группе с СДЖ показало примерно равное распределение наблюдений по полу (рисунок 9): 10 наблюдений у мужчин и 12 - у женщин. Как видно из таблицы, пик заболеваемости приходится на возрастной период 60-69 лет (46% от всех случаев заболеваемости СДЖ).

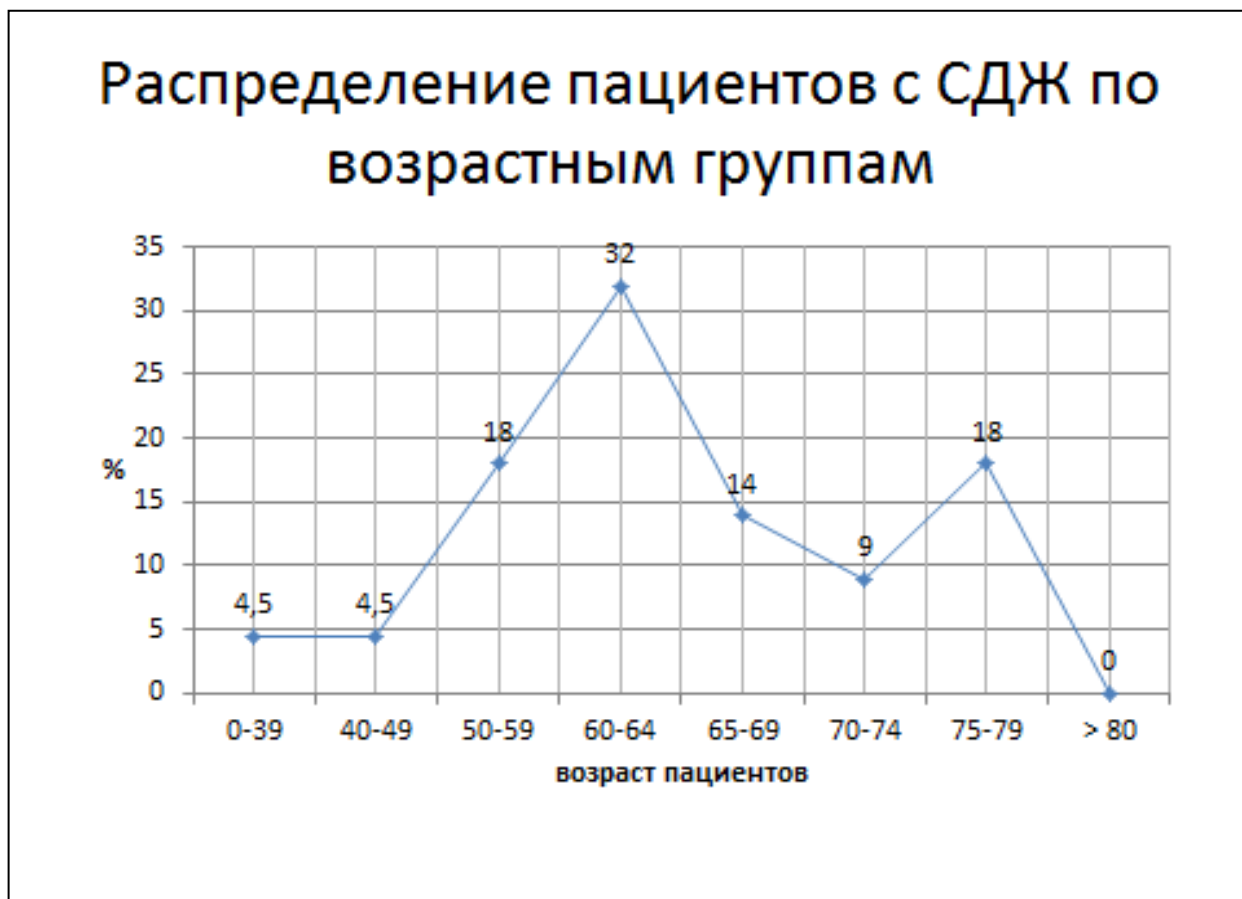


Рисунок 9 - Распределение пациентов со СДЖ по возрастным группам

При анализе наблюдений со СДЖ по полу и возрасту (рисунок 10) выявлено, что и у мужчин и у женщин имеется 2 пика заболеваемости: первый приходится на период 60-64 лет, второй – на период 75-79 лет (по 18% от всех случаев со СДЖ).

Распределение пациентов с СДЖ по полу и возрастным группам



Рисунок 10 - Распределение пациентов со СДЖ по полу и возрастным группам

При анализе наблюдений с СДЖ в соответствии с Парижской эндоскопической классификацией установлено, что преобладали наблюдения, относящиеся к 0-IIa (41%) и 0-Ip (32%) (рисунок 11). Схожие результаты были получены при разбивке макроскопического типа СДЖ у женщин (55% и 27% соответственно). Однако у мужчин преобладали наблюдения с 0-Ip (36%), затем в равных долях 0-IIa и 0-IIb (по 27%) (рисунок 12).



Рисунок 11 - Распределение пациентов со СДЖ по макроскопическому типу

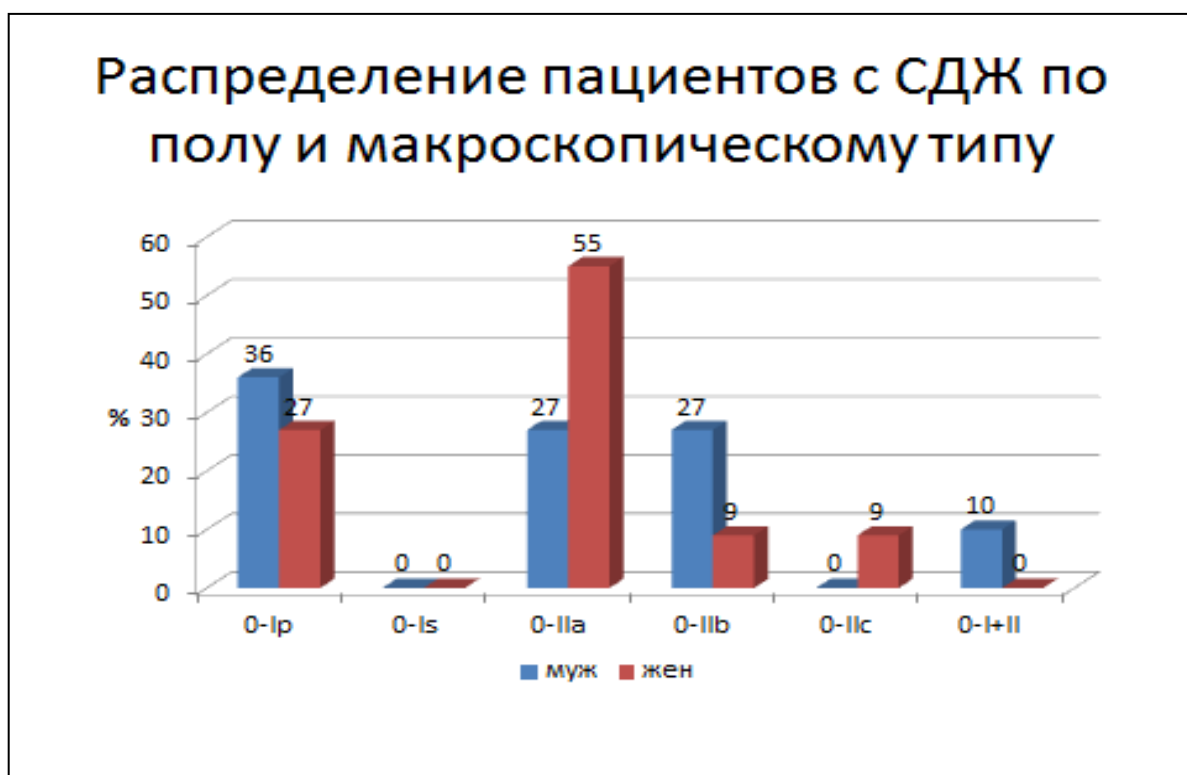


Рисунок 12 - Распределение пациентов со СДЖ по полу и макроскопическому типу

Гистологические особенности СДЖ выявили минимальные нарушения архитектоники желез, проявившиеся небольшой извитостью, выстланные однорядным эпителием с преимущественно базально и близко расположенными вытянутыми ядрами с плотным хроматином, местами ядра могут «подниматься» к апикальной поверхности клеток, однако ограничены 2/3 базальной части клетки, митозы редки (рисунок 13). В 94% случаев СДЖ сочетается с хроническим воспалением и в 69% случаев – толстокишечной метаплазией.

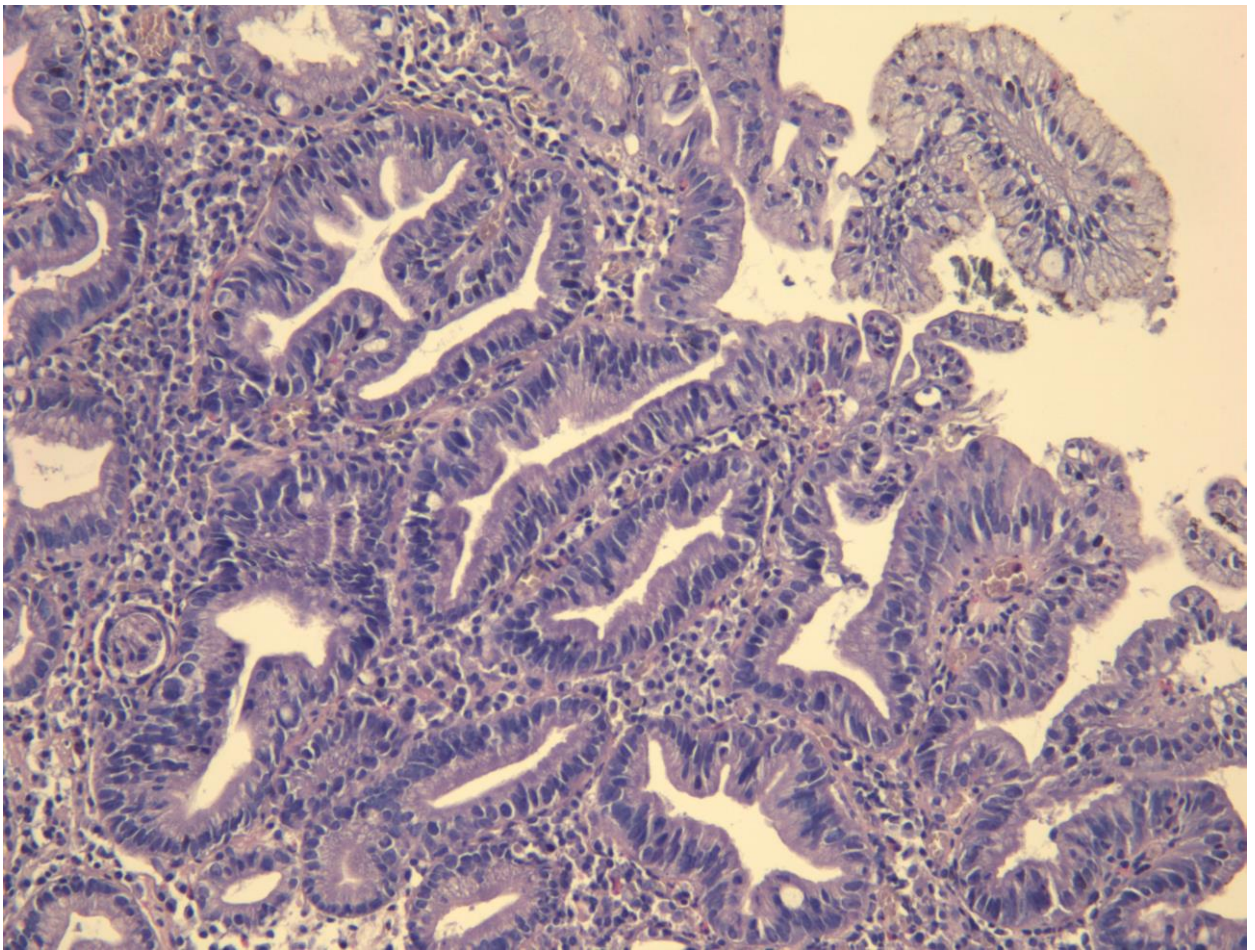


Рисунок 13 - Микрофотография. Дисплазия желудка слабой степени с хроническим воспалением. Окраска гематоксилином и эозином (x200)

3.1.3. Дисплазия желудка тяжелой степени

Проведенное исследование в группе с ТДЖ показало примерно равное распределение наблюдений по полу: 25 у мужчин (45%) и 30 у женщин (55%).

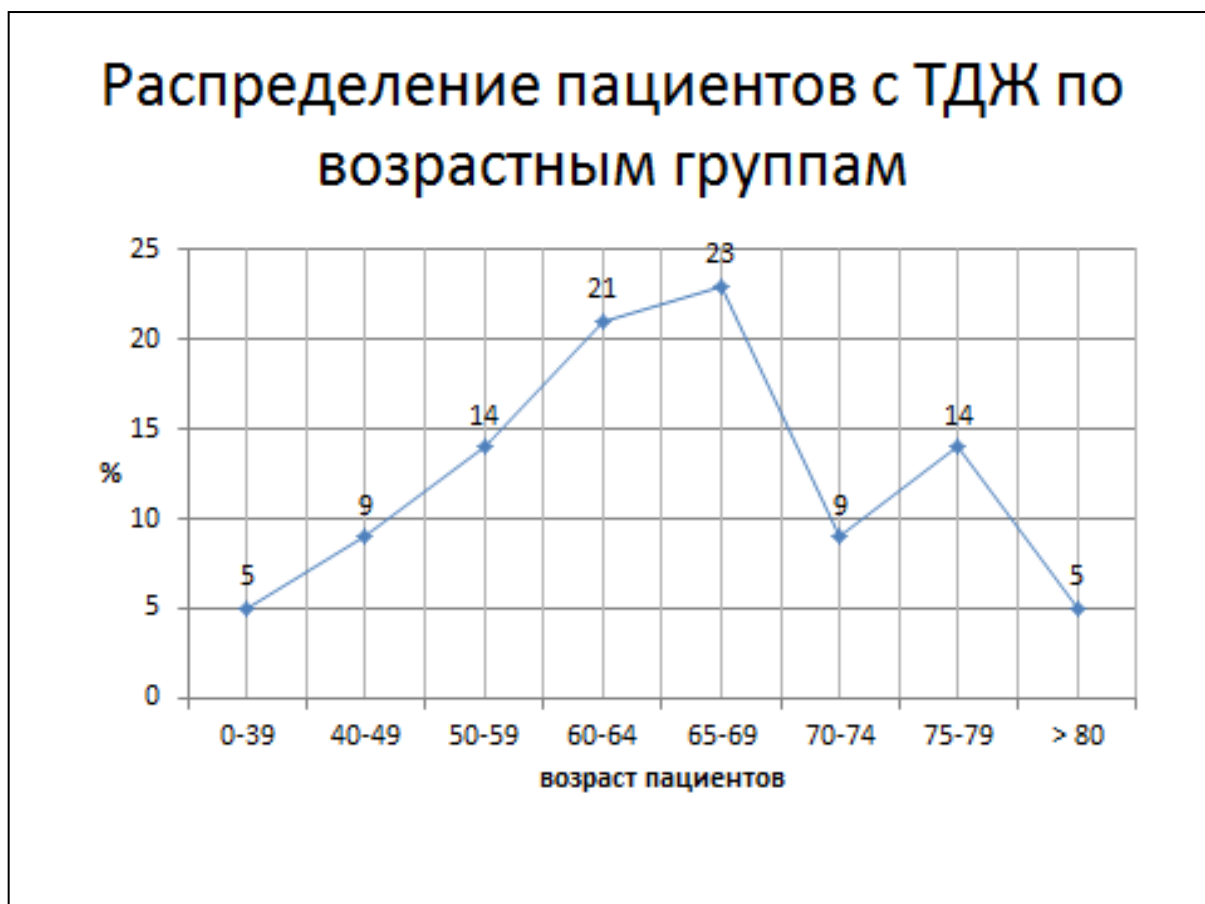


Рисунок 14 - Распределение пациентов с ТДЖ по возрастным группам

Как видно из рисунка 14, пик заболеваемости приходится на возрастной период 60-69 лет (44% от всех случаев заболеваемости ТДЖ).

При анализе наблюдений с ТДЖ по полу и возрасту выявлены следующие различия: у мужчин доля ТДЖ имеет максимальные значения в возрастной группе 60-69 лет (52% от всех случаев ТДЖ), а у женщин пиковые значения ТДЖ более пролонгированные и начинаются на 10 лет раньше

мужчин – с 50 до 69 лет. После 70 лет у мужчин и у женщин наблюдается схожая динамика удельного веса ТДЖ (рисунок 15).

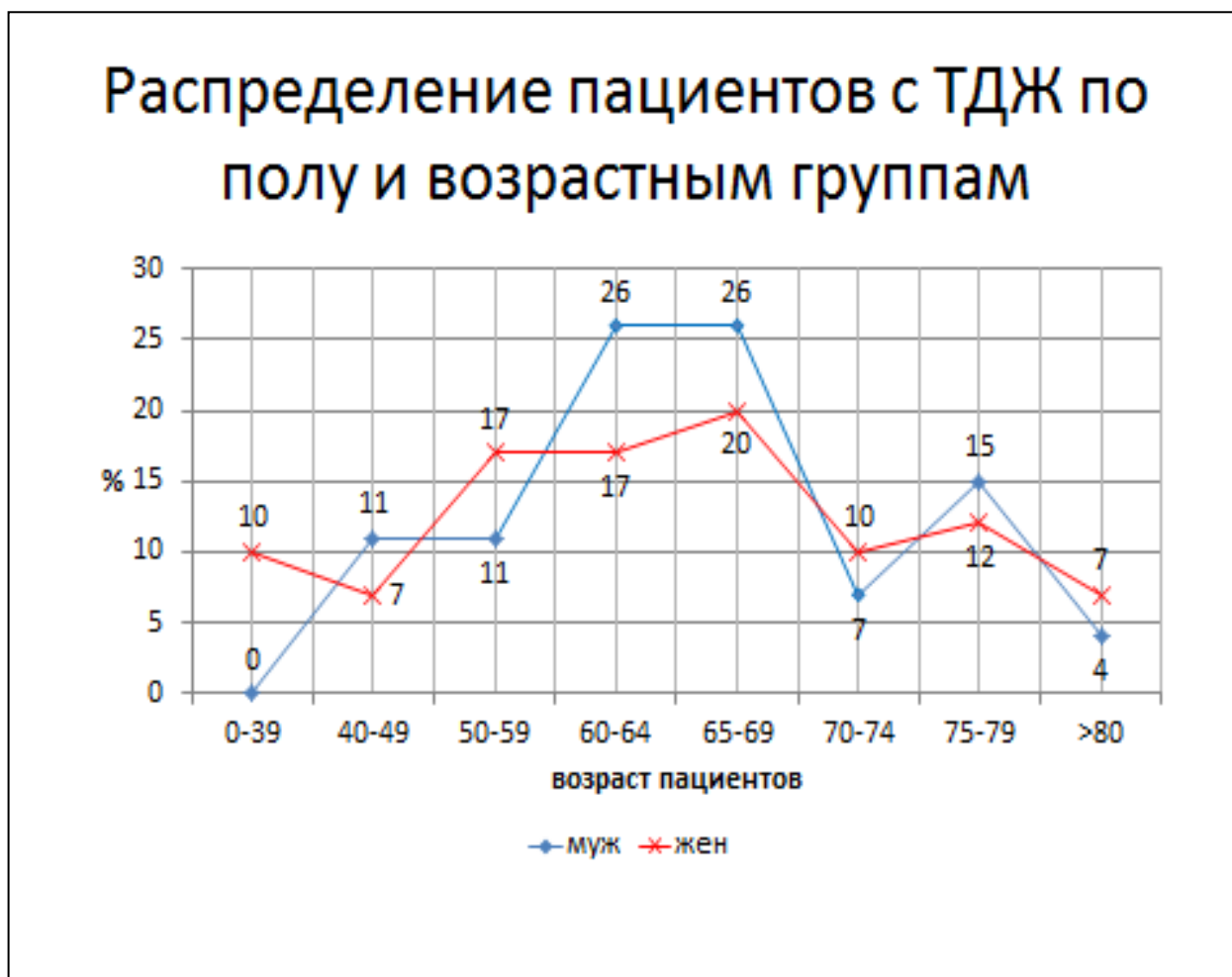


Рисунок 15 - Распределение пациентов с ТДЖ по полу и возрастным группам

При анализе наблюдений с ТДЖ в соответствии с Парижской эндоскопической классификацией установлено, что преобладали наблюдения, относящиеся к 0-IIa и 0-IIb (по 32%) (рисунок 16). Схожие результаты были получены при разбивке макроскопического типа ТДЖ по полу (рисунок 17).

Распределение пациентов с ТДЖ по макроскопическому типу

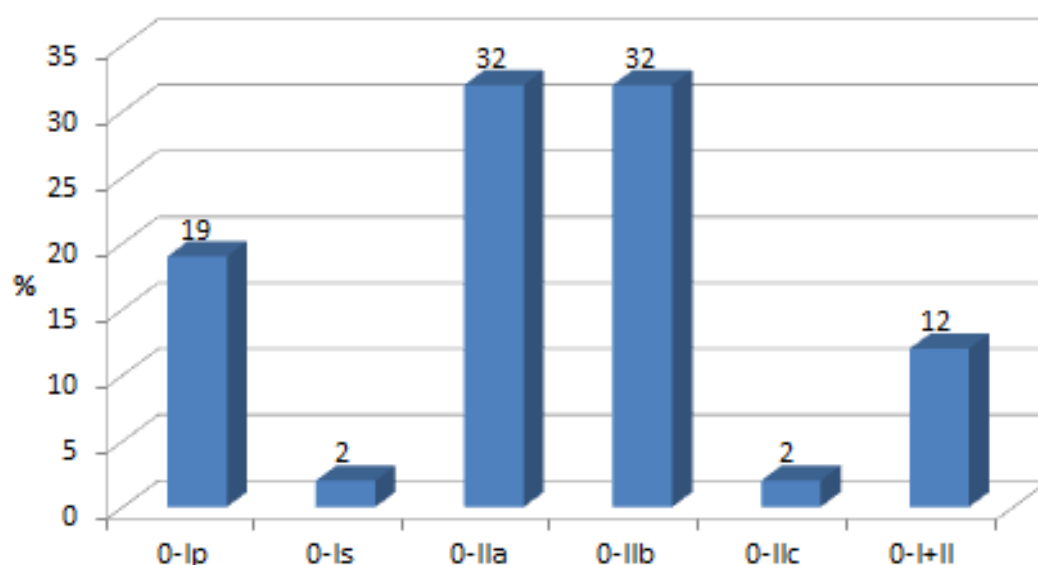


Рисунок 16 - Распределение пациентов с ТДЖ по макроскопическому типу

Распределение пациентов с ТДЖ по полу и макроскопическому типу

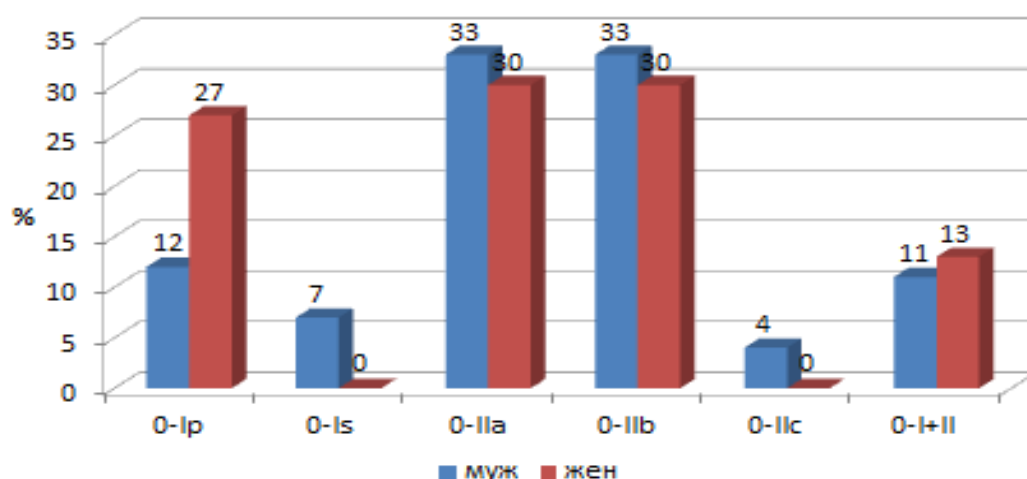


Рисунок 17 - Распределение пациентов с ТДЖ по полу и макроскопическому типу

Гистологические особенности ТДЖ выявили значимые нарушения архитектоники (рисунок 18-а).

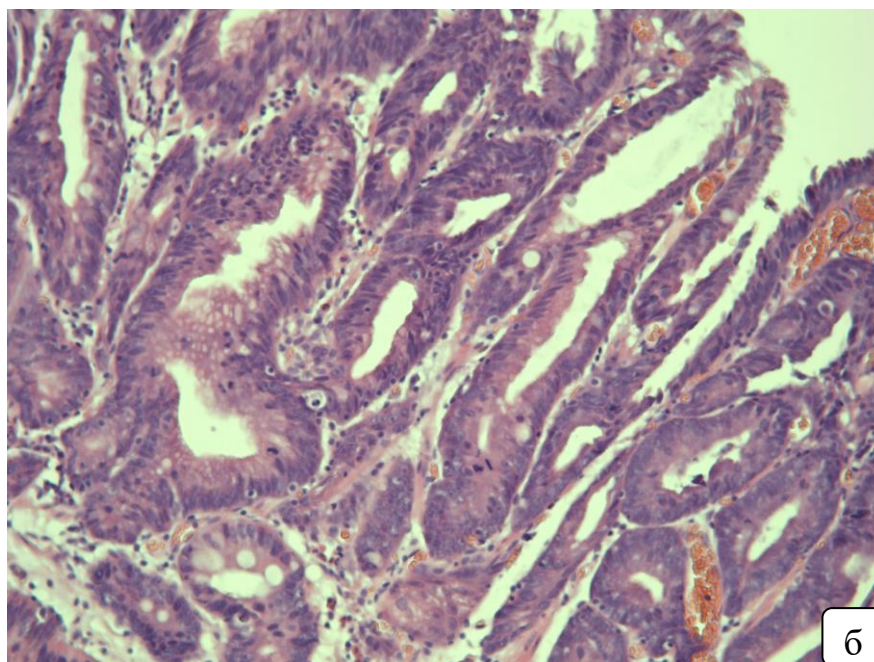
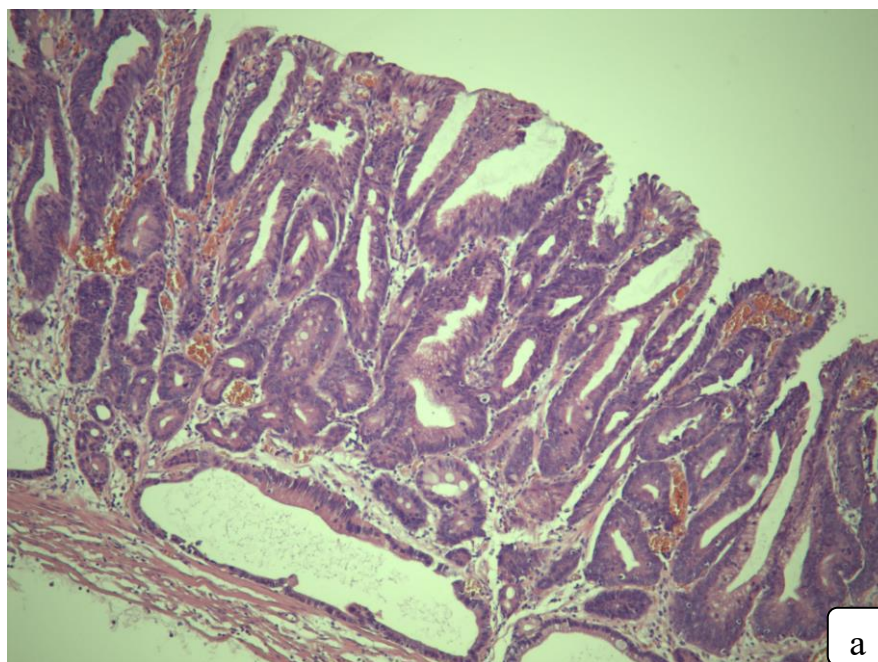


Рисунок 18 а-б - Микрофотографии. Дисплазия желудка тяжелой степени

Окраска гематоксилином и эозином.

а) x100; б) x200

железы близко расположены, извиты (рисунок 18), отмечается псевдомногорядность эпителия, ядра округлой и овальной формы, с дисперсным более просветленным хроматином, расположены на разных уровнях клетки, в том числе многие в апикальной части, встречаются ядрышки, часты митозы. В 68% случаев ТДЖ сочетается с толстокишечной метаплазией (рисунок 18-б) и в 95% случаев - с хроническим воспалением (рисунок 19).

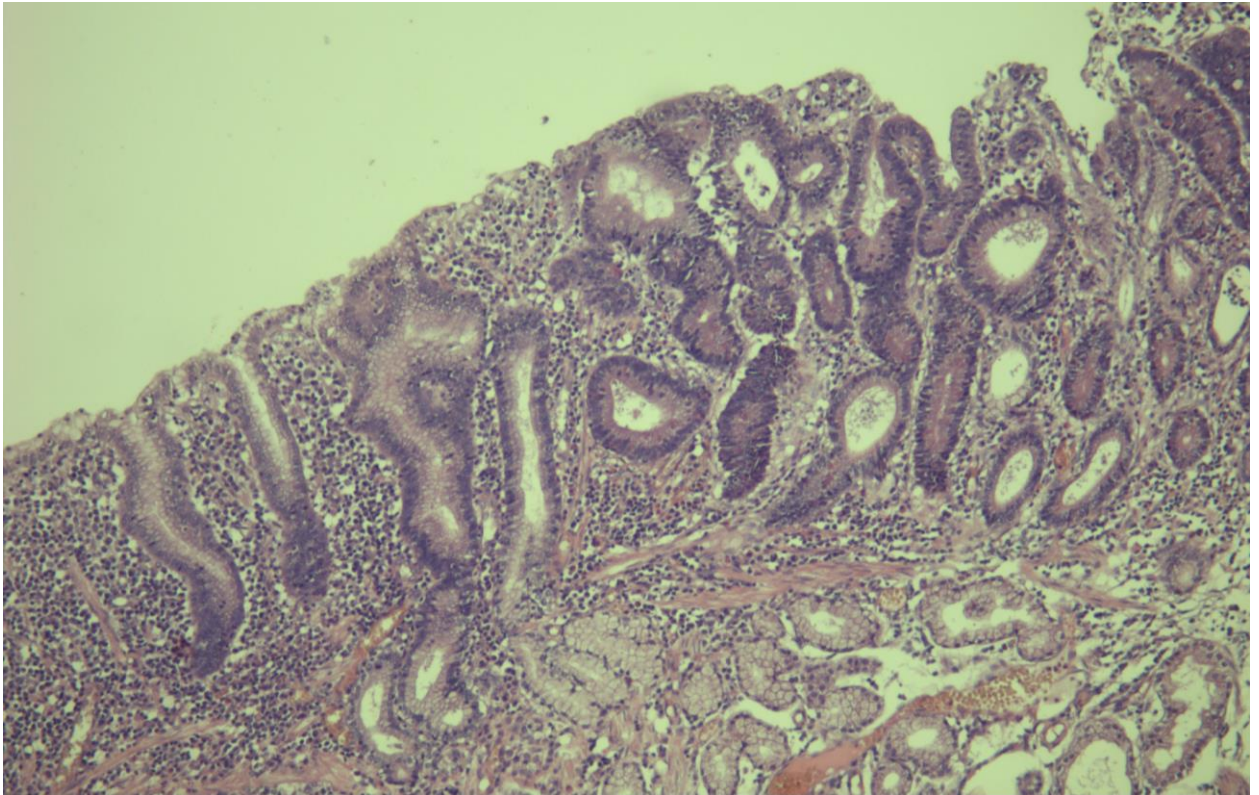


Рисунок 19 - Микрофотография. Хронический атрофический гастрит (слева) с фокусом дисплазии желудка умеренной степени (справа); удален методом ЭДПО. Окраска гематоксилином и эозином, x100

3.1.3. Ранний рак желудка

Проведенное исследование показало, что у 31 пациента (89%) с РРЖ

имел место рак кишечного типа (рисунок 21) и лишь у 4 пациентов (11%) – рак диффузного типа (рисунок 22). Распределение наблюдений по полу (рисунок 20): 16 наблюдений у мужчин (46%) и 19 - у женщин (54%). При этом в группе пациентов с РРЖ кишечного типа мужчин было 14 (45%), а женщин 17 (55%). Анализ случаев РРЖ диффузного типа не проводился в виду отличного от РРЖ кишечного типа патогенеза и некорректным сравнительным анализом с ХАГ и ТДЖ.



Рисунок 20 - Распределение раннего рака желудка по полу и гистологическому типу

Распределение РРЖ кишечного типа по возрастным группам представлено в рисунке 23. Как видно из рисунка, пик заболеваемости приходится на возрастной период 60-69 лет (55% от всех наблюдений заболеваемости РРЖ кишечного типа), затем спад и второй пик в возрастной группе 75-79 лет (23% от всех наблюдений заболеваемости РРЖ кишечного типа).

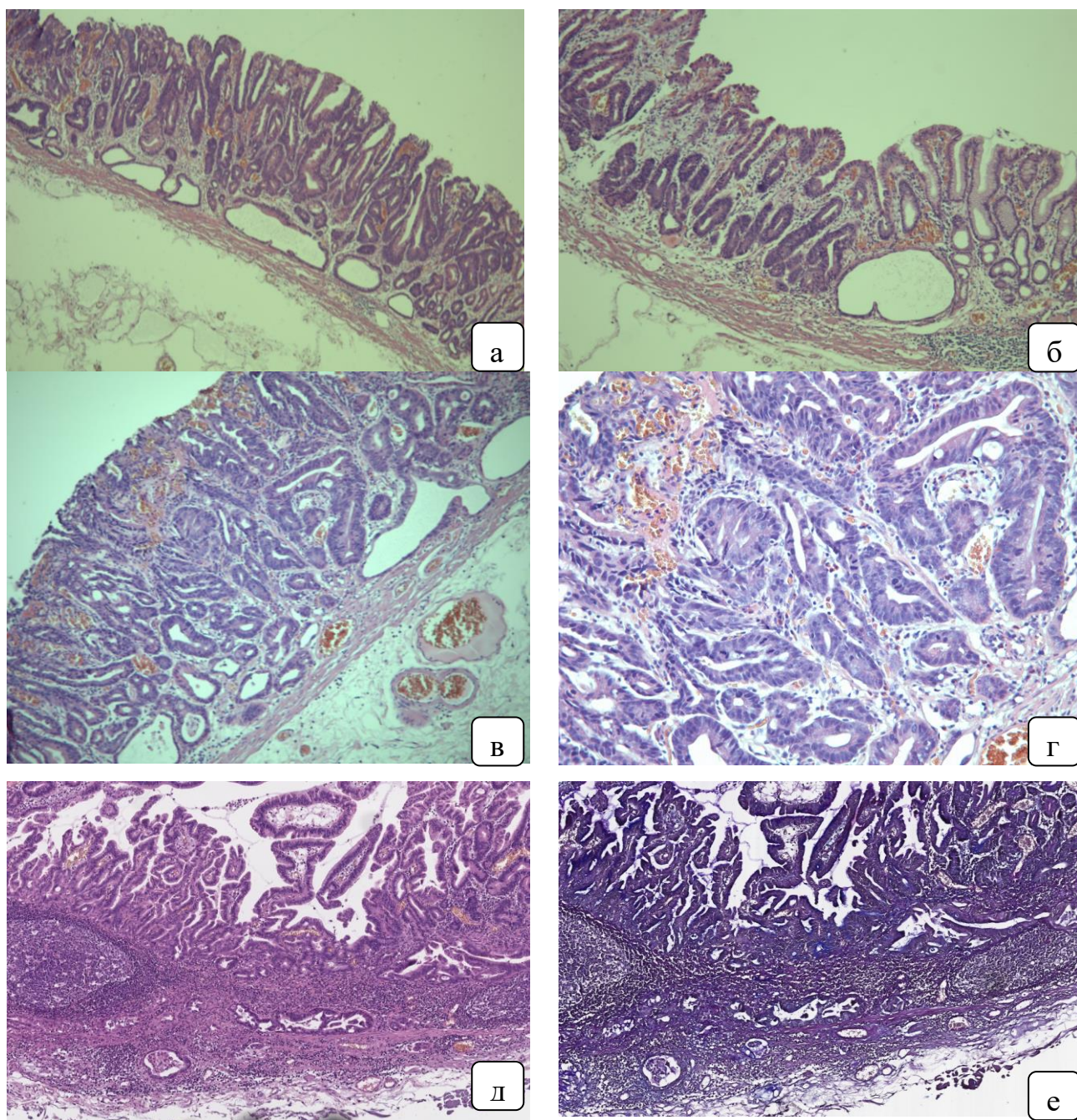


Рисунок 21(а-е) – Микрофотографии. а, в-г) РРЖ, тубулярная аденокарцинома – заметна структурная (а, в) и клеточная (г) атипия, прослеживается мышечная пластинка слизистой оболочки (а, в), рядом с РРЖ имеется очаг дисплазии умеренной степени и кишечной метаплазии (б). д-е) РРЖ, папиллярная аденокарцинома с инвазией в подслизистую основу. а-д) Окраска гематоксилином и эозином. е) Окраска - Шик-реакция в сочетании с альциановым синим. а, в) x50; б, д, е) x100; г) x200.

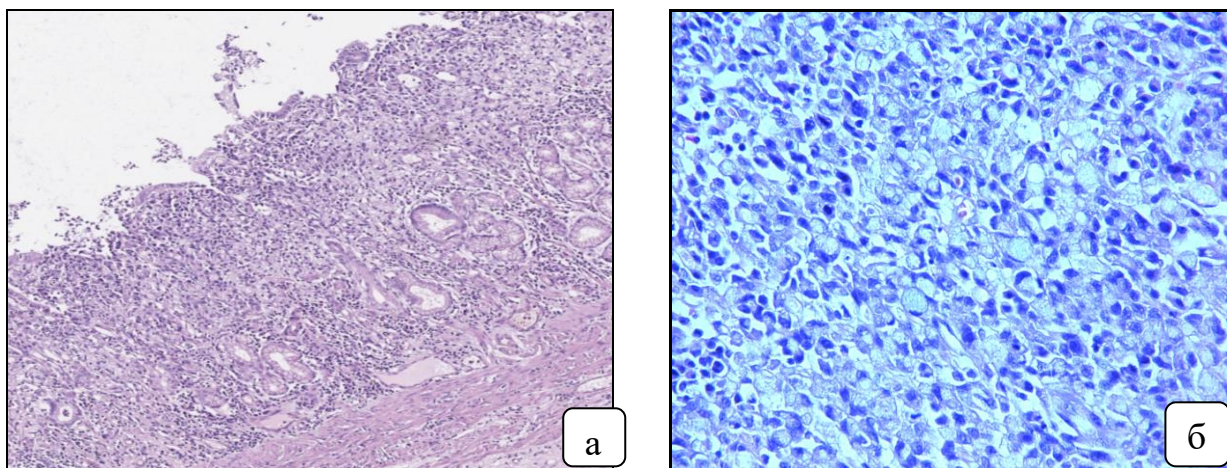


Рисунок 22 (а-б) - Микрофотографии. РРЖ, перстневидноклеточный рак желудка. а) Окраска гематоксилином и эозином, x100; б) Окраска Шик-реакция в сочетании с альциановым синим, x200

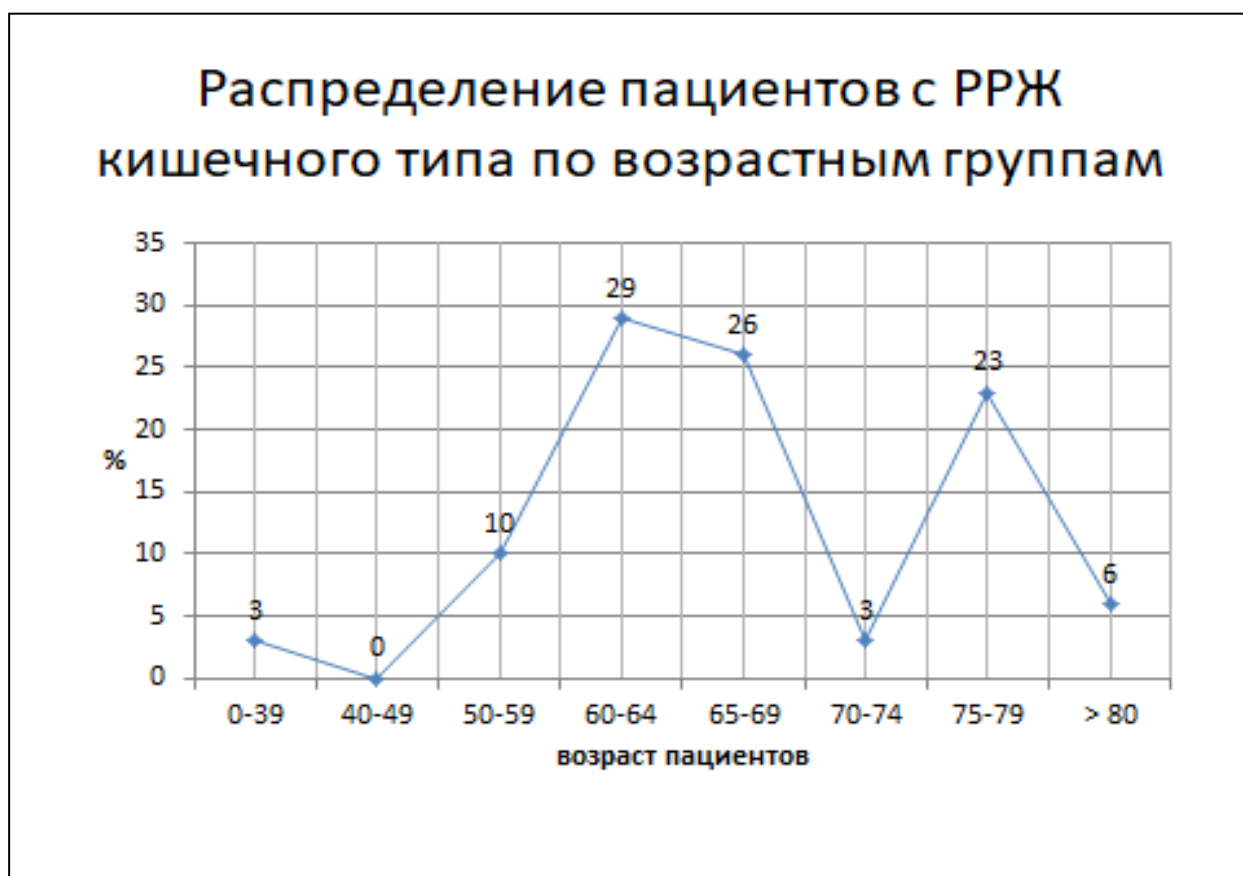


Рисунок 23 - Распределение пациентов с РРЖ кишечного типа по возрастным группам

При анализе наблюдений с РРЖ кишечного типа по полу и возрасту выявлены следующие различия (рисунок 24): у мужчин доля РРЖ кишечного типа имеет максимальные значения в возрастной группе 60-69 лет (72% от всех случаев РРЖ кишечного типа у мужчин) со вторым пиком в возрастной группе 75-79 лет (23% от всех случаев РРЖ кишечного типа у мужчин), а у женщин пиковые значения РРЖ кишечного типа более пролонгированные и начинаются на 10 лет раньше мужчин – с 50 до 69 лет (59% от всех случаев РРЖ кишечного типа у женщин), также как и у мужчин с наличием второго пика в возрастной группе 75-79 лет (21% от всех случаев РРЖ кишечного типа у женщин).

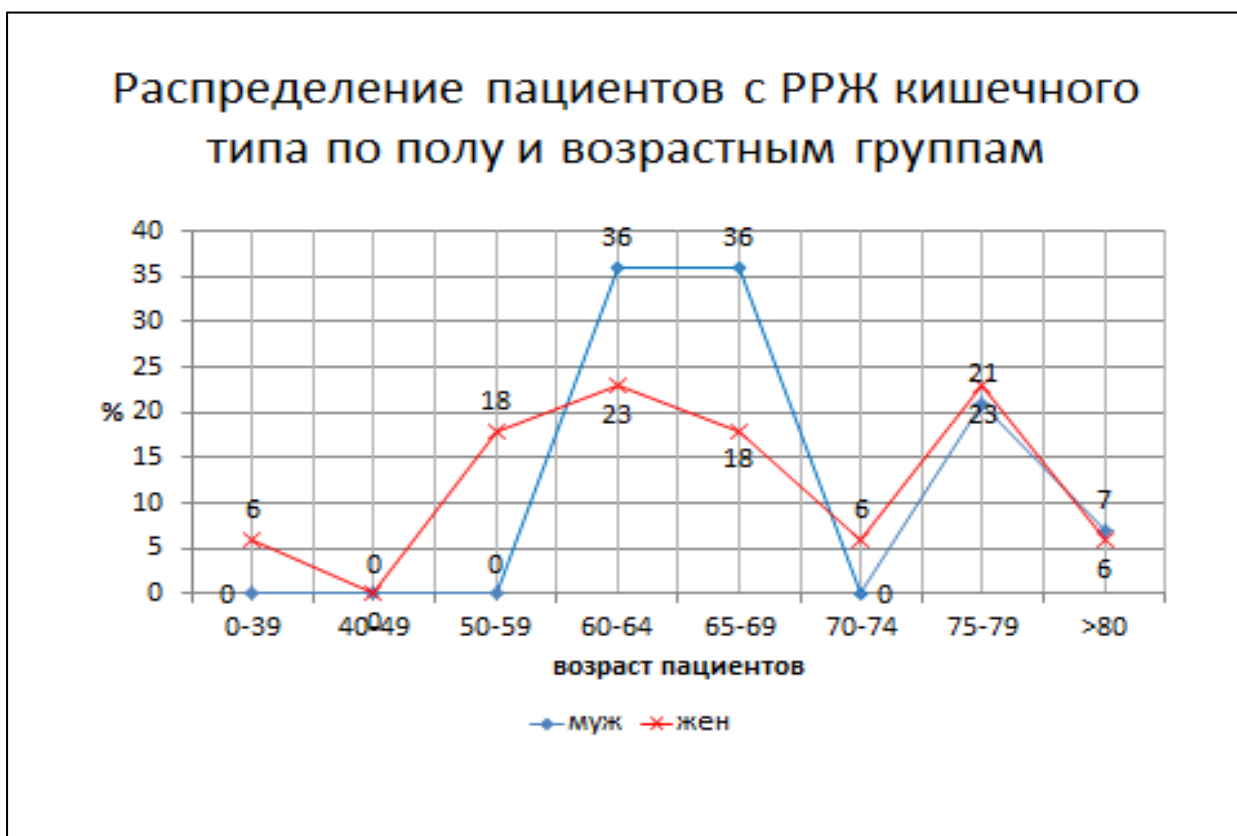


Рисунок 24 - Распределение пациентов с РРЖ кишечного типа по полу и возрастным группам

При анализе наблюдений с РРЖ кишечного типа в соответствии с Парижской эндоскопической классификацией установлено, что преобладали наблюдения, относящиеся к 0-IIa и 0-IIb (29% и 26% соответственно), 0-Is отсутствовали (рисунок 25). При разбивке макроскопического типа ТДЖ по полу (рисунок 26) выяснено, что у мужчин преобладали 0-IIb и 0-IIa (36% и 29% соответственно), а у женщин - 0-IIa и 0-Ip (по 29%).



Рисунок 25 - Распределение пациентов с РРЖ кишечного типа по макроскопическому типу

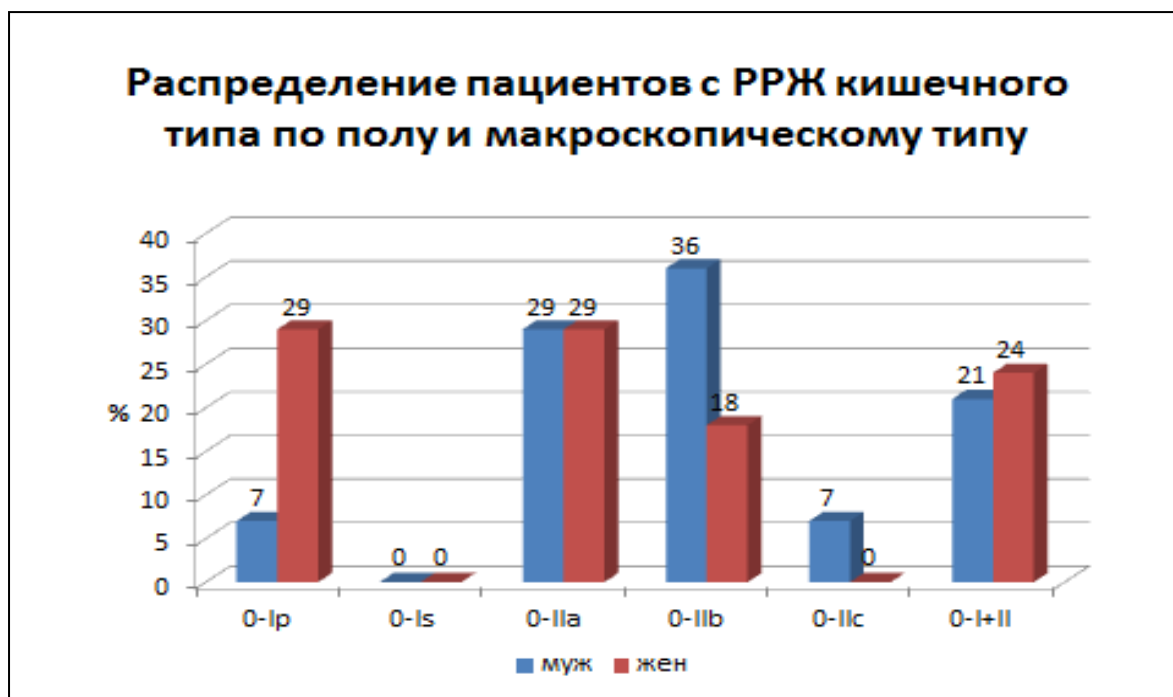


Рисунок 26 - Распределение пациентов с РРЖ кишечного типа по полу и макроскопическому типу

В 30 наблюдениях (97%) в слизистой оболочке желудка рядом с РРЖ кишечного типа (рисунок 27) определялись очаги ТДЖ (рисунок 27-б). Кроме того, в СОЖ рядом с РРЖ кишечного типа были диагностированы фокусы толстокишечной метаплазии в 77% наблюдений (рисунок 27-б) и ХАГ в 94% наблюдений.

В наблюдениях (87%) с РРЖ кишечного типа врастания в подслизистую основу желудка не было обнаружено (стадия pT1a), при этом у 10 из них (37%) диагностированы участки с инвазией рака в МП СОЖ без прорастания в подслизистую основу (рисунок 28). В 4 случаях (13%) было выявлено прорастание раком МП СОЖ и инвазия в подслизистую основу (разрушение МП СО четко визуализировалось с помощью АТ к десмину) – стадия pT1b (рисунок 21д-е, рисунок 27-в).

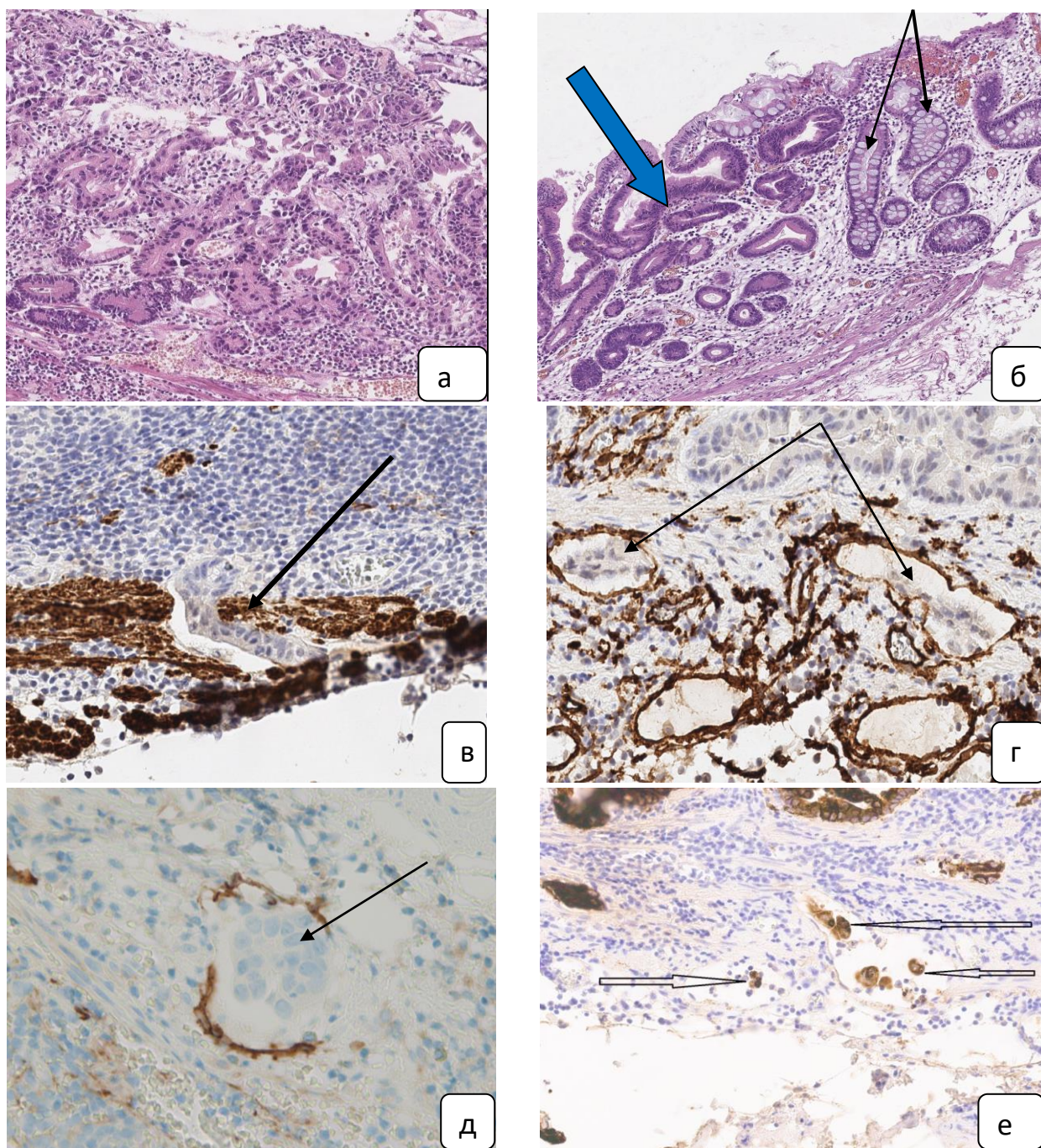


Рисунок 27 (а-е) - Микрофотографии. РРЖ кишечного типа (а) с прорастанием МП СО - стрелка (в), наличием раковых эмболов (стрелки) в просвете кровеносных (г) и лимфатических (д-е) сосудов; ТДЖ (толстая стрелка) и толстокишечная метаплазия (тонкая стрелка) слизистой оболочки желудка (б). а, б – окраска гематоксилином и эозином (x100); в-е - иммуногистохимическая реакция, окраска ДАБ-гематоксин (x200); в - с антителами к десмину; г – с антителами к CD34; д – с антителами к D2-40; е – с антителами к CK8/18

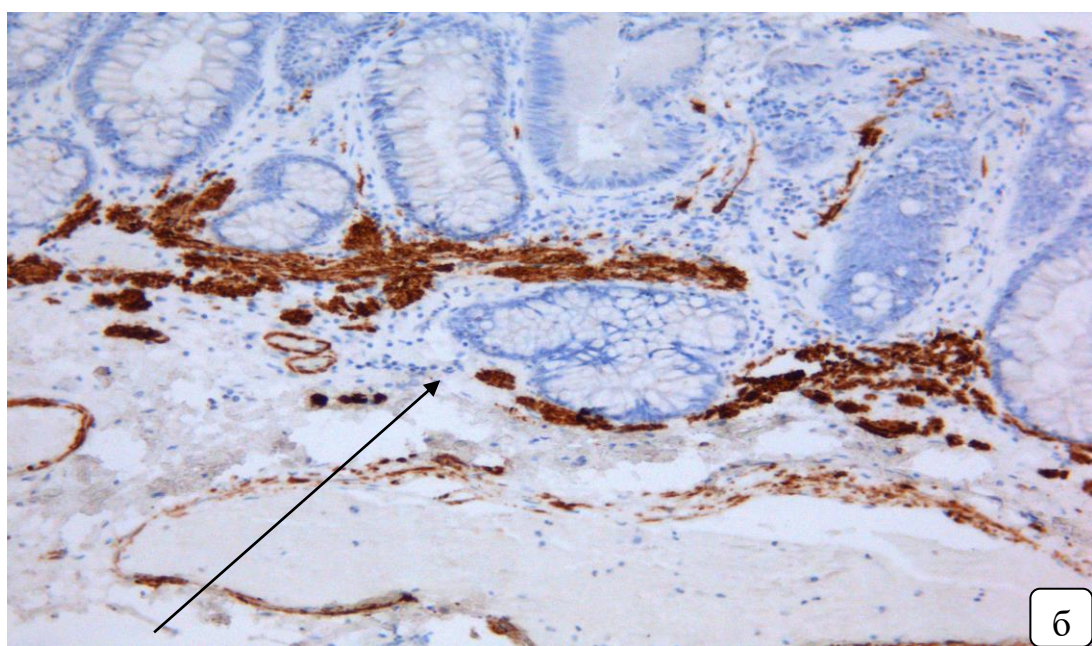
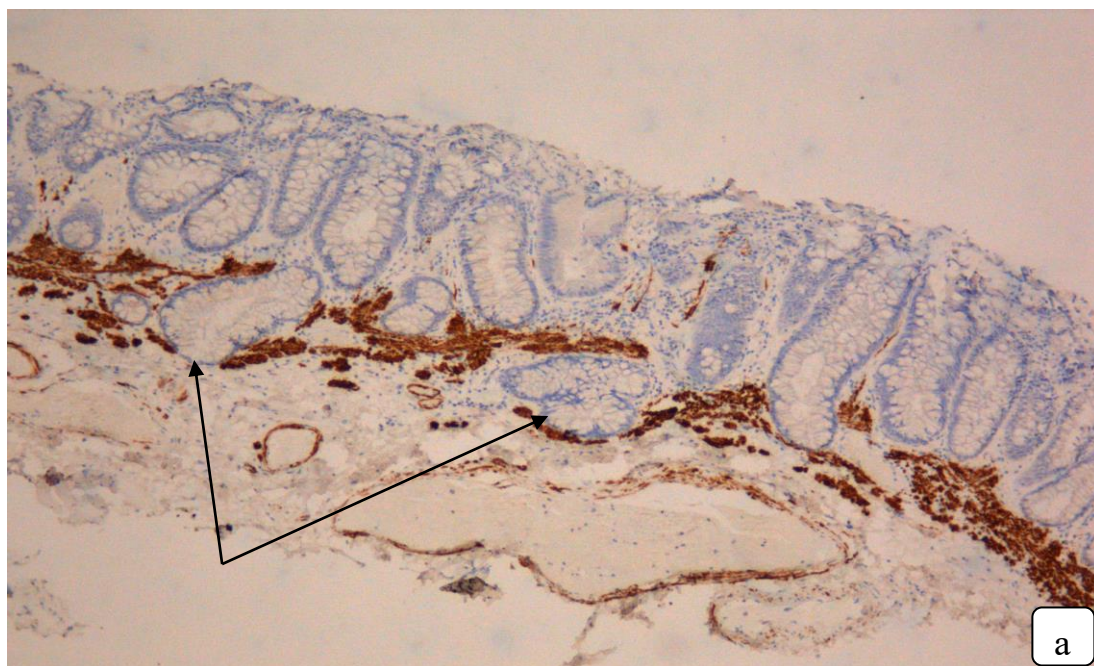


Рисунок 28 (а-б) - Микрофотографии. РРЖ кишечного типа – мышечная пластинка слизистой оболочки прерывистая, с очагами инвазии рака (стрелки).

Иммуногистохимическая реакция с антителами к десмину. Окраска ДАБ-гематоксилин. а) x50; б) x200

Наряду с этим, в 1 наблюдении из четырех (25%) с РРЖ кишечного типа со стадией pT1b были выявлены раковые эмболы в просвете

кровеносных (рисунок 27-г) и лимфатических (рисунок 27-д-е) сосудов подслизистой основы (ИГХ с АТ к CD34 и D2-40) и еще в 1 случае (25%) – метастазы в регионарных лимфатических узлах.

Сводные данные по клинико-морфологическим особенностям РРЖ кишечного типа представлены на рисунке 29.

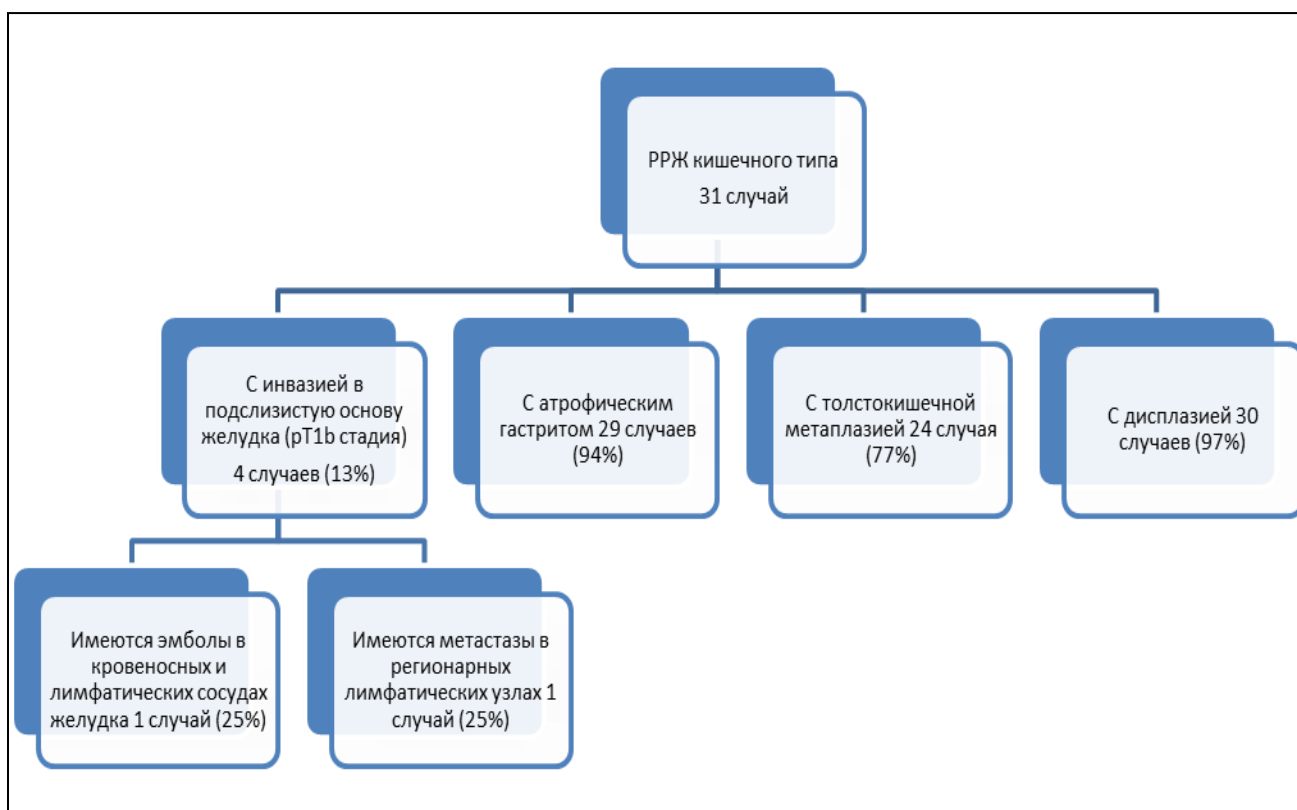


Рисунок 29 - Некоторые клинико-морфологические особенности РРЖ
кишечного типа

У 33,5% пациентов были обнаружены *Hp*, у 29% из которых они были диагностированы только методом ПЦР (таблица 9). Всеми тремя методами *Hp* были выявлены только у 1 пациента (14% от всех случаев с обнаруженными *Hp*). У оставшихся 57% пациентов *Hp* были обнаружены двумя методами из трех (ПЦР+Р-Г/ИГХ+Р-Г). Выраженная обсемененность *Hp* (+++) была лишь в одном случае (14% от всех случаев с выявленными *Hp*).

BRAF мутации не были обнаружены ни в одном наблюдении, KRAS

мутации – только в одном случае (таблица 9).

Таблица 9

**Результаты исследование РРЖ кишечного типа на *Helicobacter pylori*,
мутации KRAS, BRAF и Her2 амплификации**

<i>Helicobacter pylori</i>				Мутации KRAS	Мутации BRAF	Her2 амплификация	
Отрицательный результат		14 (66,5%)		20 (95%)	21 (100%)	15 (71%)	
Положительный результат		7 (33,5%)		1 (5%) KRAS с.38G>A	0 (0%)	6 (29%)	
		ПЦР + Р-Г + ИГХ	только ПЦР	ПЦР + Р- Г / Р-Г + ИГХ		+	+/-
		1 (14%)	2 (29%)	4 (57%)		4 (19%)	2 (10%)

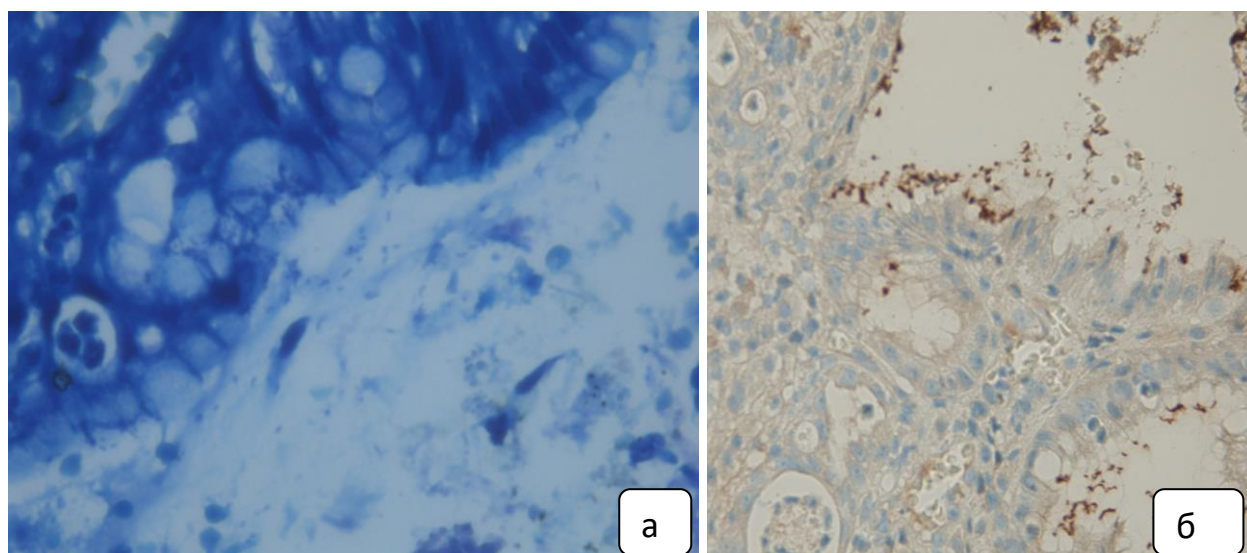


Рисунок 30 - Микрофотографии. РРЖ кишечного типа – *Helicobacter pylori* +++.

а) Окраска по Романовскому-Гимзе, x100; б) Иммуногистохимическая реакция с антителами к *Helicobacter pylori*. Окраска ДАБ-гематоксилин, x400

HER2 амплификация была диагностирована в 6 наблюдениях (29%), причем в 2 из них (10% от всех исследованных наблюдений с РРЖ) результат интерпретируется как +/- (сомнительный) (таблица 9).

3.2. Анализ иммуногистохимических особенностей тяжелой дисплазии и раннего рака желудка

Иммуногистохимическое исследование с АТ к СК8/18

Наше исследование показало, что статистически значимых различий в количестве клеток, экспрессирующих СК8/18 (таблица 10 и 11) между ХАГ, ТДЖ и РРЖ кишечного типа нет ($p>0,05$) – для всех них характерно высокое значение экспрессии АТ, медиана >96 (94,5 и 98) при небольшом стандартном отклонении (менее 3) (рисунок 31).

Таблица 10

Первичные результаты исследование РРЖ кишечного типа на СК8/18 по количеству экспрессирующих АТ клеток

Критерий №1 – количество позитивных клеток (в % на 100 клеток)																						
	Слизистая желудка при хроническом атрофическом гастрите																					
%	92	92	93	94	95	95	95	95	95	96	97	97	97	98	98	98	98	98	98	99	21 случай	
	Тяжелая дисплазия желудка																					
%	90	90	92	94	94	95	95	95	96	97	97	97	97	97	98	98	98	98	98	99	21 случай	
	Ранний рак желудка кишечного типа																					
%	90	91	93	94	94	95	95	96	96	96	96	97	97	98	98	98	98	98	98	99	21 случай	

Таблица 11

Результаты исследование РРЖ кишечного типа на СК8/18 по количеству экспрессирующих АТ клеток

		СОЖ ХАГ	ТДЖ	РРЖ кишечный тип
Количество случаев		21	21	21
Среднее значение		96,1	95,86	95,95
Стандартное отклонение		2,119	2,613	2,439
Наименьшее значение		92	90	90
Наибольшее значение		99	99	99
Процентили	25-я	95,0	94,5	94,5
	50-я (медиана)	97,0	97,0	96,0
	75-я	98,0	98,0	98,0

При анализе экспрессии СК8/18 по критерию 2 (интенсивность экспрессии АТ) во всех случаях наблюдалась сильная экспрессия АТ (таблица 12).

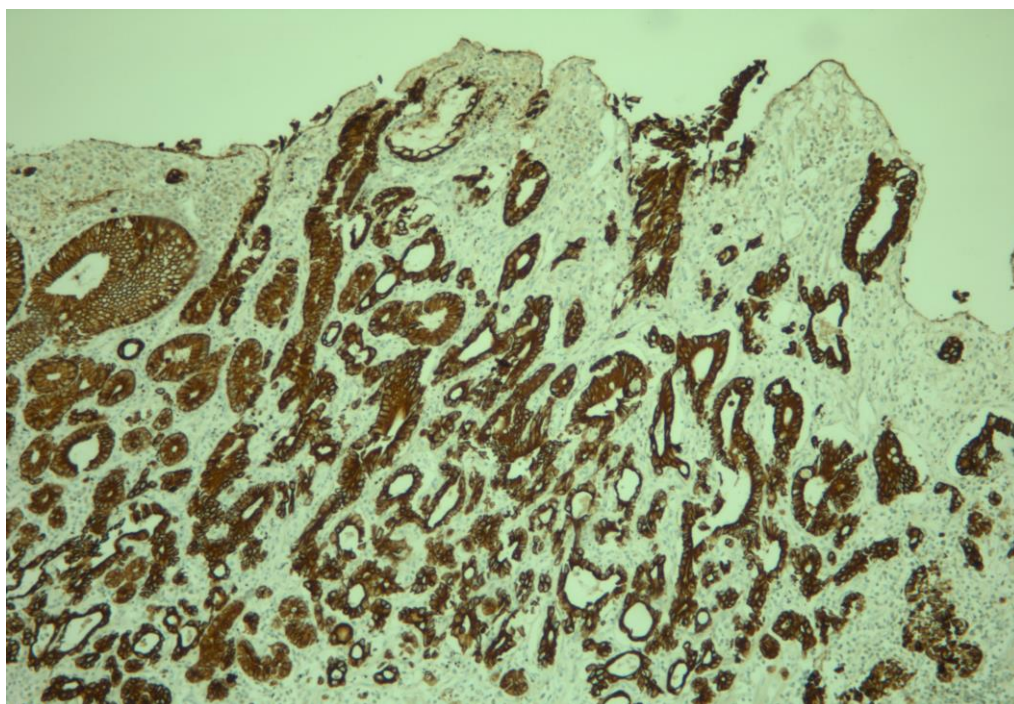


Рисунок 31 - Микрофотография. Выраженная экспрессия СК8/18 в РРЖ кишечного типа. Иммуногистохимическая реакция с антителами к СК8/18.

Окраска ДАБ-гематоксилин (x200)

Таблица 12

Результаты исследование РРЖ кишечного типа на СК8/18 по интенсивности экспрессии АТ

		патология			Всего
		СОЖ ХАГ	ТДЖ	РРЖ кишечный тип	
сильная экспрессия	Всего	21	21	21	63
	Стандартизированные остатки	0,0	0,0	0,0	
Всего		21	21	21	63

Так, если в ХАГ медиана СК7-положительных клеток равнялось 3,0 (2,0 и 4,0), то при ТДЖ это значение выросло более чем в 3,5 раза - до 11,0 (4,0 и 24,0), а при РРЖ кишечного типа – до 18,0 (10,5 и 48,0) - более чем в 6 раз по сравнению с ХАГ и более чем в 1,63 раза по сравнению с ТДЖ. (рисунок 32-35).

Первичные результаты исследование РРЖ кишечного типа на СК7 по количеству экспрессирующих АТ клеток

Критерий №1 – количество позитивных клеток (в % на 100 клеток)																						
	Слизистая желудка при хроническом атрофическом гастрите																					
%	1	1	1	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	5	21 случай
	Тяжелая дисплазия желудка																					
%	1	2	2	4	4	4	5	6	6	9	11	13	13	15	18	21	27	30	39	52	90	21 случай
	Ранний рак желудка кишечного типа																					
%	2	5	7	7	9	12	14	15	18	18	18	20	22	23	28	42	54	78	90	90	95	21 случай

Таблица 14

Результаты исследование РРЖ кишечного типа на СК7 по количеству экспрессирующих АТ клеток

		СОЖ ХАГ	ТДЖ	РРЖ кишечный тип
Количество случаев		21	21	21
Среднее значение		2,86	17,71	31,76
Стандартное отклонение		1,108	21,27	30,615
Наименьшее значение		1	1	2
Наибольшее значение		5	90	95
Процентили	25-я	2,0	4,0	10,5
	50-я (медиана)	3,0	11,0	18,0
	75-я	4,0	24,0	48,0

$p < 0,05$

Также нами было отмечено, что если в СОЖ ХАГ стандартное отклонение невелико, то в ТДЖ и РРЖ кишечного типа разброс значений экспрессии СК7 значительный – при ТДЖ стандартное отклонение больше среднего, а при РРЖ кишечного типа – почти равно среднему значению.

При анализе экспрессии СК7 по критерию 2 (интенсивность экспрессии АТ) во всех случаях наблюдалась либо слабая, либо умеренная экспрессия АТ (таблица 15). Сильной экспрессии СК7 не наблюдалось ни в СОЖ ХАГ, ни при ТД, ни при РРЖ кишечного типа. При этом имеются статистически значимые различия ($p < 0.05$) по критерию хи-квадрат – в СОЖ ХАГ слабая

экспрессия наблюдается статистически значимо чаще, чем при ТДЖ и РРЖ кишечного типа. Статистически значимых различий между ТДЖ и РРЖ кишечного типа по критерию 2 не выявлено.

Таблица 15

**Результаты исследование РРЖ кишечного типа на СК7 по
интенсивности экспрессии АТ**

		патология		Всего
		слабая экспрессия	умеренная экспрессия	
СОЖ ХАГ	Количество случаев	18	3	21
	Стандартизи- рованные остатки	1,3	-1,7	
ТДЖ	Количество случаев	12	9	21
	Стандартизи- рованные остатки	-0,4	0,5	
РРЖ кишечный тип	Количество случаев	10	11	21
	Стандартизи- рованные остатки	-0,9	1,2	
Всего		40	23	63

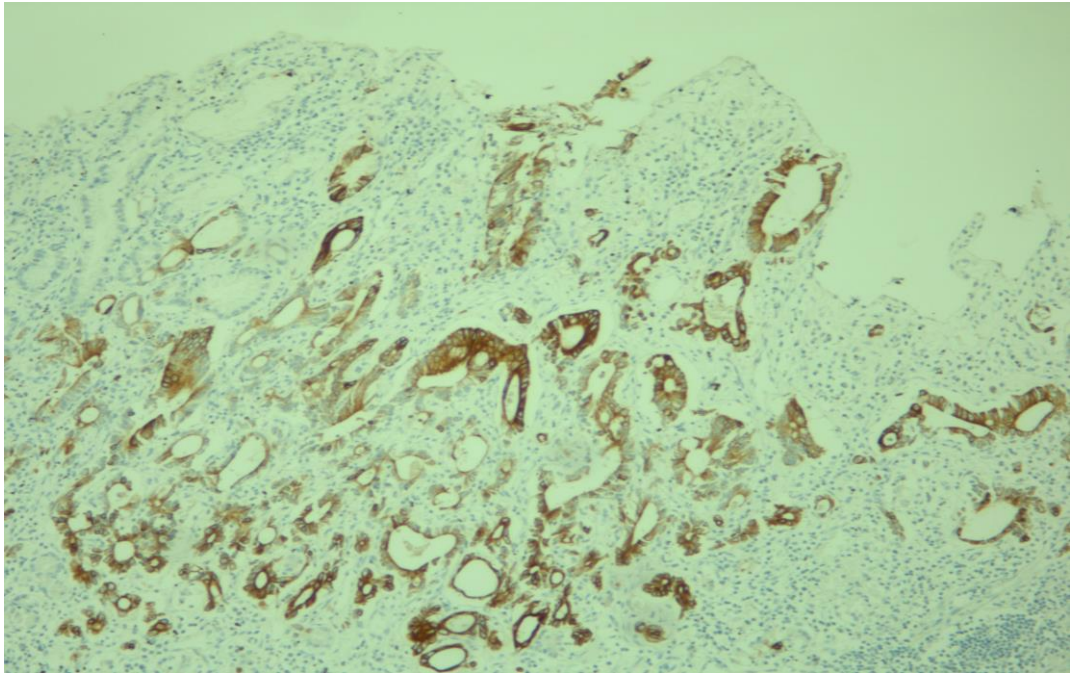


Рисунок 32 - Микрофотография. Умеренно выраженная экспрессия СК7 в РРЖ кишечного типа. Иммуногистохимическая реакция с антителами к СК7.

Окраска ДАБ-гематоксилин (x100)

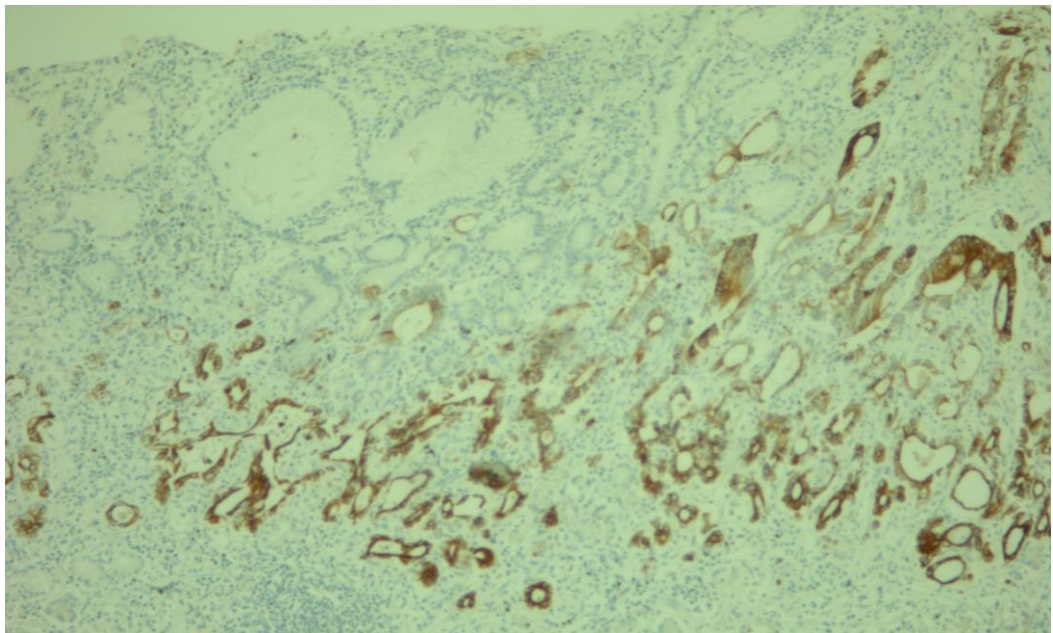


Рисунок 33 - Микрофотография. Экспрессия СК7 в РРЖ кишечного типа (справа), в СОЖ (слева) экспрессия СК7 отсутствует. Иммуногистохимическая реакция с антителами к СК7. Окраска ДАБ-гематоксилин (x100)

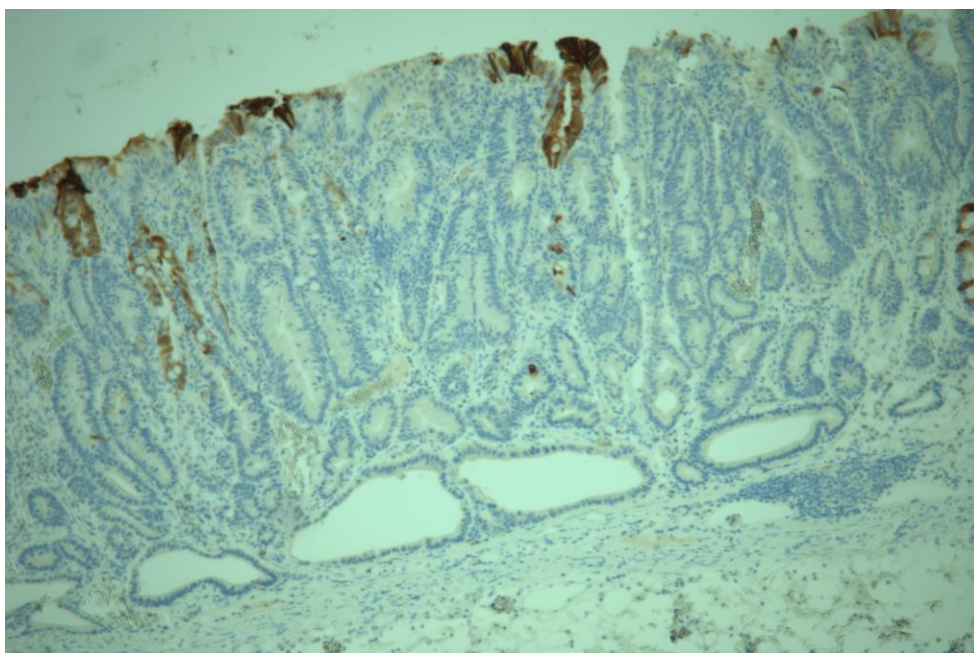


Рисунок 34 - Микрофотография. Слабо выраженная экспрессия СК7 в ТДЖ. Иммуногистохимическая реакция с антителами к СК7. Окраска ДАБ-гематоксилин (x100)

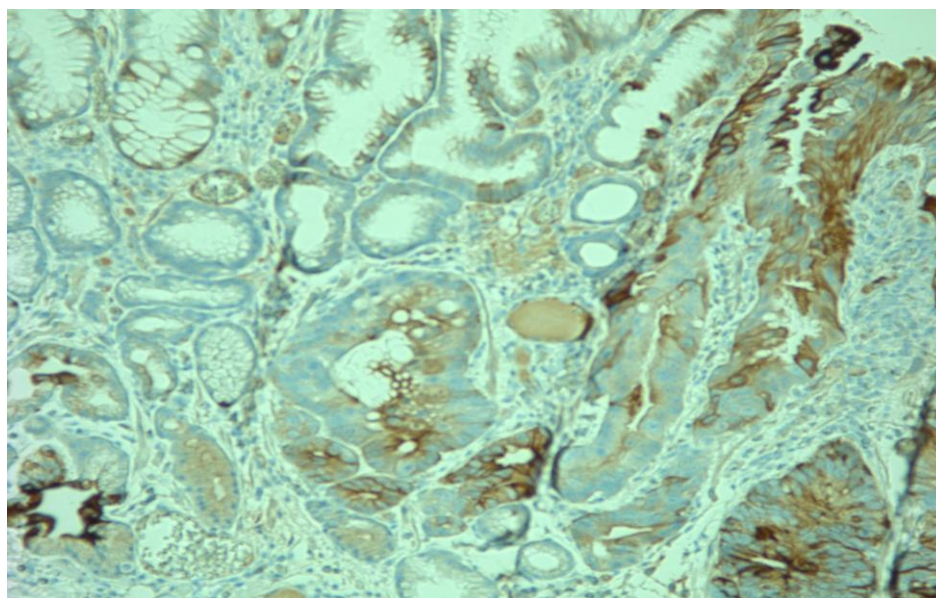


Рисунок 35 - Микрофотография. Неравномерная экспрессия СК7 в ТДЖ (справа). Иммуногистохимическая реакция с антителами к СК7. Окраска ДАБ-гематоксилин (x100)

Иммуногистохимическое исследование с АТ к Мис-1

Нами показано, что имеются достоверные различия в количестве (критерий 1) клеток, экспрессирующих Мис1 между СОЖ ХАГ, ТДЖ и РРЖ кишечного типа (таблица 16 и 17).

Так, если в ХАГ медиана Мис1-положительных клеток равнялось 3,0 (1,0 и 4,0), то при ТДЖ это значение выросло в 2 раза - до 6,0 (3,0 и 8,0), а при РРЖ кишечного типа - до 8,0 (6,0 и 9,0) - в 2,6 раза больше по сравнению с ХАГ и в 1,3 раза больше по сравнению с ТДЖ (рисунок 36-37).

Также нами было отмечено, что в СОЖ ХАГ, ТДЖ и РРЖ кишечного стандартное отклонение примерно вдвое меньше среднего значения количества экспрессирующих клеток.

Таблица 16

Первичные результаты исследование РРЖ кишечного типа на Мис-1 по количеству экспрессирующих АТ клеток*

Критерий №1 – количество позитивных клеток (в % на 100 клеток)																					
Слизистая желудка при атрофическом гастрите																					
%	0	0	0	1	1	1	1	2	2	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	21 случай
Тяжелая дисплазия желудка кишечного типа																					
%	1	2	2	2	3	3	5	5	5	6	6	7	7	7	7	8	8	9	16	17	18 21 случай
Ранний рак желудка кишечного типа																					
%	4	4	4	6	6	6	7	7	7	7	8	8	9	9	9	9	9	12	16	20	21 21 случай

Таблица 17

Результаты исследование РРЖ кишечного типа на Мис-1 по количеству экспрессирующих АТ клеток*

		СОЖ ХАГ	ТДЖ	РРЖ кишечный тип
Количество случаев		21	21	21
Среднее значение		2,38	6,86	8,95
Стандартное отклонение		1,465	4,82	4,706
Наименьшее значение		0	1	4
Наибольшее значение		4	18	21
Проценти ли	25-я	1,0	3,0	6,0
	50-я (медиана)	3,0	6,0	8,0
	75-я	4,0	8,0	9,0

*При сравнении ТД и РРЖ кишечного типа $p=0,05$

При анализе экспрессии Мис-1 по критерию 2 (интенсивность экспрессии АТ) во всех случаях значительно превалировала слабая экспрессия АТ (таблица 18). Сильной экспрессии Мис-1 не наблюдалось ни в СОЖ ХАГ, ни при ТД, ни при РРЖ кишечного типа. В 14% случаев в СОЖ ХАГ было полное отсутствие экспрессии Мис-1. Статистически значимых различий между ТДЖ и РРЖ кишечного типа по критерию 2 не выявлено.

Таблица 18

**Результаты исследование РРЖ кишечного типа на Мис-1 по
интенсивности экспрессии АТ**

		патология			Всего
		СОЖ ХАГ	ТДЖ	РРЖ кишечный тип	
нет экспрессии	Количество случаев	3	0	0	3
	Стандартизи- рованные остатки	2,0	-1,0	-1,0	
слабая экспрессия	Количество случаев	18	18	17	53
	Стандартизи- рованные остатки	0,1	0,1	-0,2	
умеренная экспрессия	Количество случаев	0	3	4	7
	Стандартизи- рованные остатки	-1,5	0,4	1,1	
Всего		21	21	21	63

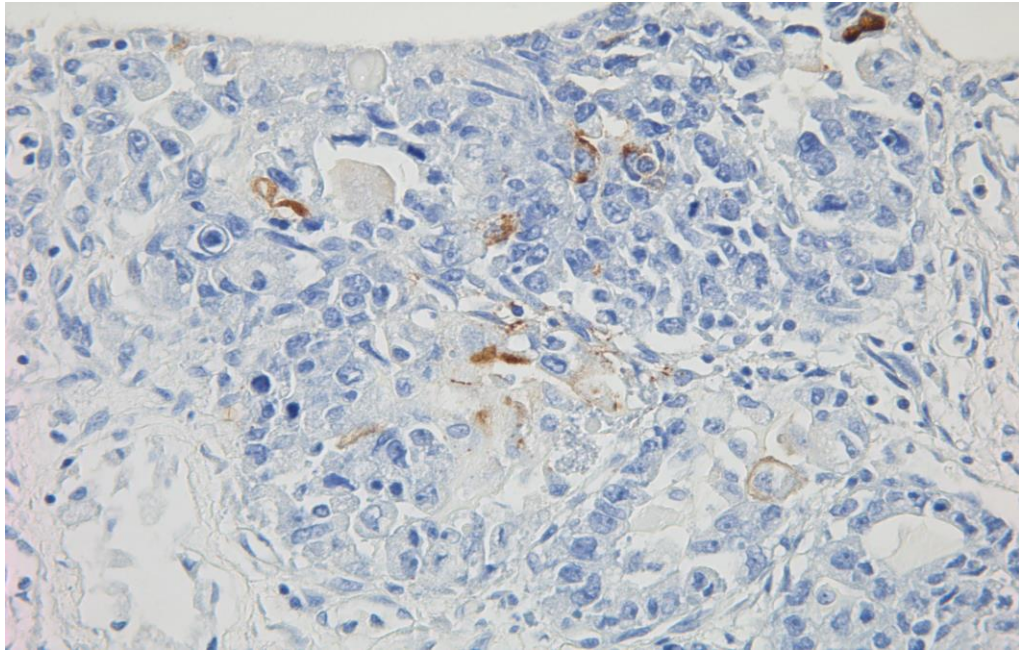


Рисунок 36- Микрофотография. Слабая экспрессия Мус-1 в единичных раковых клетках РРЖ кишечного типа. Иммуногистохимическая реакция с антителами к Мус-1. Окраска ДАБ-гематоксилин (x200)

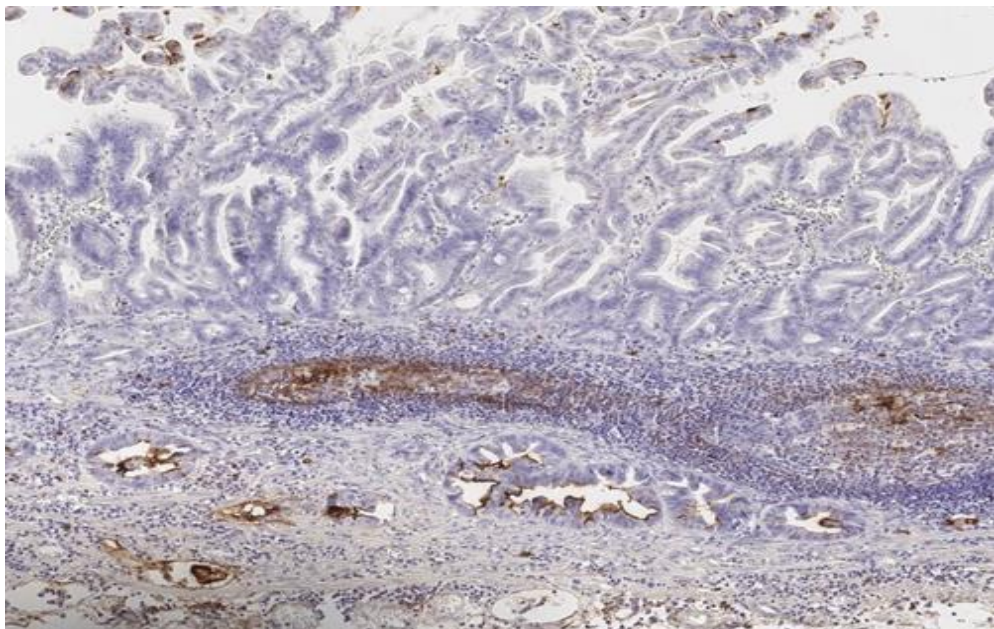


Рисунок 37 - Микрофотография. Умеренная экспрессия Мус-1 в инвазивном компоненте РРЖ кишечного типа. Иммуногистохимическая реакция с антителами к Мус-1. Окраска ДАБ-гематоксилин (x100)

Иммуногистохимическое исследование с АТ к Мис-2

Нами показано, что имеются достоверные различия в количестве (критерий 1) клеток, экспрессирующих Мис-2 между СОЖ ХАГ, ТДЖ и РРЖ кишечного типа (таблица 19 и 20).

Так, если в ХАГ медиана Мис2-положительных клеток составила 0,0 (0,0 и 0,0) (в 19 случаях из 21 экспрессия АТ отсутствовала), то при ТДЖ это значение было 20,0 (14,0 и 38,5). При РРЖ кишечного типа медиана экспрессирующих Мис-2 клеток равнялось 10,0 (6,5 и 15,0) - вдвое меньше, чем при ТДЖ (рисунок 38-40).

Таблица 19

Первичные результаты исследование РРЖ кишечного типа на Мис-2 по количеству экспрессирующих АТ клеток*

Критерий №1 – количество позитивных клеток (в % на 100 клеток)																						
	Слизистая желудка при атрофическом гастрите																					
%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	21 случай	
	Тяжелая дисплазия желудка																					
%	8	8	9	12	13	15	15	15	17	18	20	22	23	28	32	36	41	44	51	56	60	21 случай
	Ранний рак желудка кишечного типа																					
%	2	4	4	6	6	7	7	8	8	9	10	10	11	12	13	15	15	18	19	28	52	21 случай

Таблица 20

Результаты исследование РРЖ кишечного типа на Мис-2 по количеству экспрессирующих АТ клеток*

		СОЖ ХАГ	ТДЖ	РРЖ кишечный тип
Количество случаев		21	21	21
Среднее значение		0,1	25,86	12,57
Стандартное отклонение		0,301	16,187	10,847
Наименьшее значение		0	8	2
Наибольшее значение		1	60	52
Проценти	25-я	0	14,0	6,5
	50-я (медиана)	0	20,0	10,0
	75-я	0	38,5	15,0

*Имеются статистически значимые ($p < 0,05$) различия по всем группам.

При анализе экспрессии Мис-2 по критерию 2 (интенсивность экспрессии АТ) в СОЖ ХАГ экспрессия АТ была слабая (из трёх положительных случаев из двадцати одного исследованного). Для ТДЖ более характерна умеренная экспрессия (62% случаев) и в равной степени (по 19%) слабая и сильная. Для РРЖ кишечного типа более характерна слабая (48%) и умеренная (43%) экспрессия Мис-2 (таблица 21).

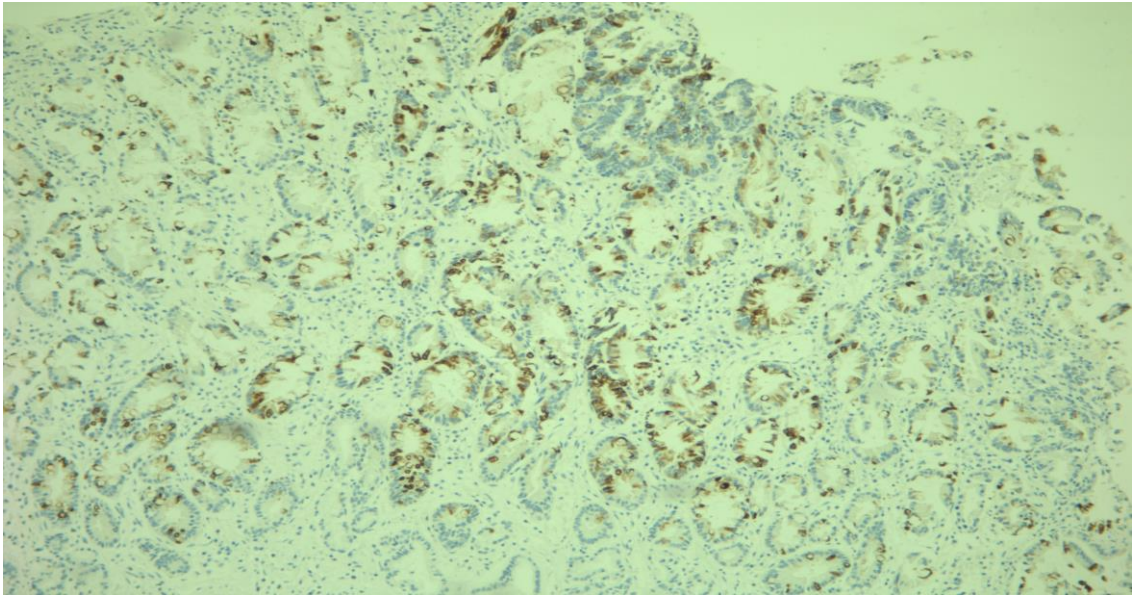


Рисунок 38 - Микрофотография. Умеренная экспрессия Мис-2 в ТДЖ.
Иммуногистохимическая реакция с антителами к Мис-2. Окраска ДАБ-
гематоксилин (x100)

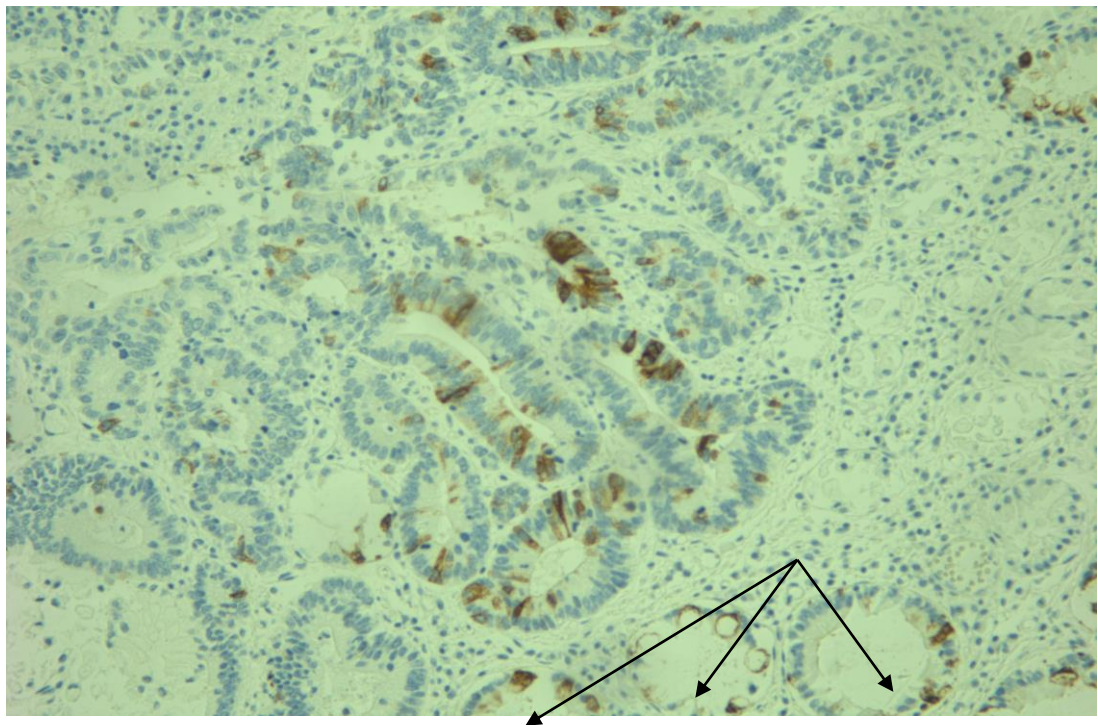


Рисунок 40 - Микрофотография. Экспрессия Мис-2 в РРЖ кишечного типа и
очаге толстокишечной метаплазии (стрелки). Иммуногистохимическая реакция
с антителами к Мис-2. Окраска ДАБ-гематоксилин (x200)

Таблица 21

**Результаты исследование РРЖ кишечного типа на Мис-2 по
интенсивности экспрессии АТ***

		патология			Всего
		СОЖ ХАГ	ТДЖ	РРЖ кишечный тип	
нет	Количество случаев	19	0	0	19
	Стандартизи- рованные остатки	5,0	-2,5	-2,5	
слабая экспрессия	Количество случаев	2	4	10	16
	Стандартизи- рованные остатки	-1,4	-0,6	2,0	
умеренная экспрессия	Количество случаев	0	13	9	22
	Стандартизи- рованные остатки	-2,7	2,1	0,6	
сильная экспрессия	Количество случаев	0	4	2	6
	Стандартизи- рованные остатки	-1,4	1,4	0,0	
Всего		21	21	21	63

*p<0,05

Иммуногистохимическое исследование с АТ к Мис-5АС

Наше исследование показало, что статистически значимых различий в количестве клеток, экспрессирующих Мис-5АС между ХАГ, ТДЖ и РРЖ кишечного типа нет ($p>0,05$), однако медиана снижается более чем в 4 раза в ряду от ХАГ к РРЖ (таблица 22 и 23): для ХАГ 30,0 (21,0 и 42,5), для ТДЖ – 24,0 (8,5 и 43,0), для РРЖ кишечного типа – 7,0 (5,0 и 45,5) (рисунок 41-42).

Таблица 22

Первичные результаты исследование РРЖ кишечного типа на Мис-5АС по количеству экспрессирующих АТ клеток

Критерий №1 – количество позитивных клеток (в % на 100 клеток)																						
	Слизистая желудка при атрофическом гастрите																					
%	9	9	10	14	21	21	23	24	25	28	30	34	34	35	38	42	43	47	48	48	50	21 случай
	Тяжелая дисплазия желудка																					
%	4	6	6	7	8	9	12	16	19	21	24	28	32	37	38	41	45	48	48	56	78	21 случай
	Ранний рак желудка кишечного типа																					
%	2	3	3	4	5	5	6	6	6	6	7	8	11	29	42	44	47	54	60	76	80	21 случай

Таблица 23

Результаты исследование РРЖ кишечного типа на Мис-5АС по количеству экспрессирующих АТ клеток* (*p>0,05)

		СОЖ ХАГ	ТДЖ	РРЖ кишечный тип
Количество случаев		21	21	21
Среднее значение		30,14	27,76	24,0
Стандартное отклонение		13,388	20,037	26,279
Наименьшее значение		9	4	2
Наибольшее значение		50	78	80
Процентили	25-я	21,0	8,5	5,0
	50-я (медиана)	30,0	24,0	7,0
	75-я	42,5	43,0	45,5

При анализе экспрессии Muc5AC по критерию 2 (интенсивность экспрессии АТ) во всех случаях наблюдалась экспрессия АТ различной степени (таблица 24). При этом статистически значимых различий по интенсивности экспрессии АТ между СОЖ ХАГ, ТДЖ и РРЖ кишечного типа выявлено не было ($p>0,05$).

Таблица 24

Результаты исследование РРЖ кишечного типа на Muc-5AC по интенсивности экспрессии АТ*

		патология			Всего
		СОЖ ХАГ	ТДЖ	РРЖ кишечный тип	
слабая экспрессия	Количество случаев	4	8	8	20
	Стандартизи- рованные остатки	-1,0	0,5	0,5	
умеренная экспрессия	Количество случаев	4	2	4	10
	Стандартизи- рованные остатки	0,4	-0,7	0,4	
сильная экспрессия	Количество случаев	13	11	9	33
	Стандартизи- рованные остатки	0,6	0,0	-0,6	
Всего		21	21	21	63

* $p>0,05$

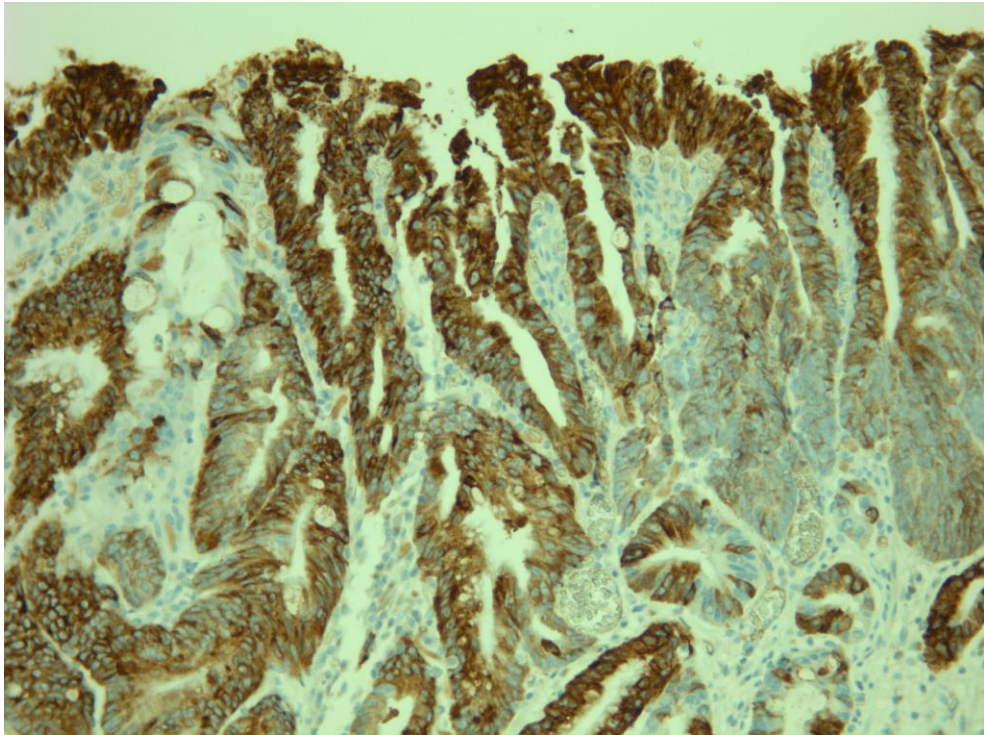


Рисунок 41 - Микрофотография. Экспрессия Мус-5АС в РРЖ кишечного типа. Иммуногистохимическая реакция с антителами к Мус-5АС. Окраска ДАБ-гематоксилин (x200)

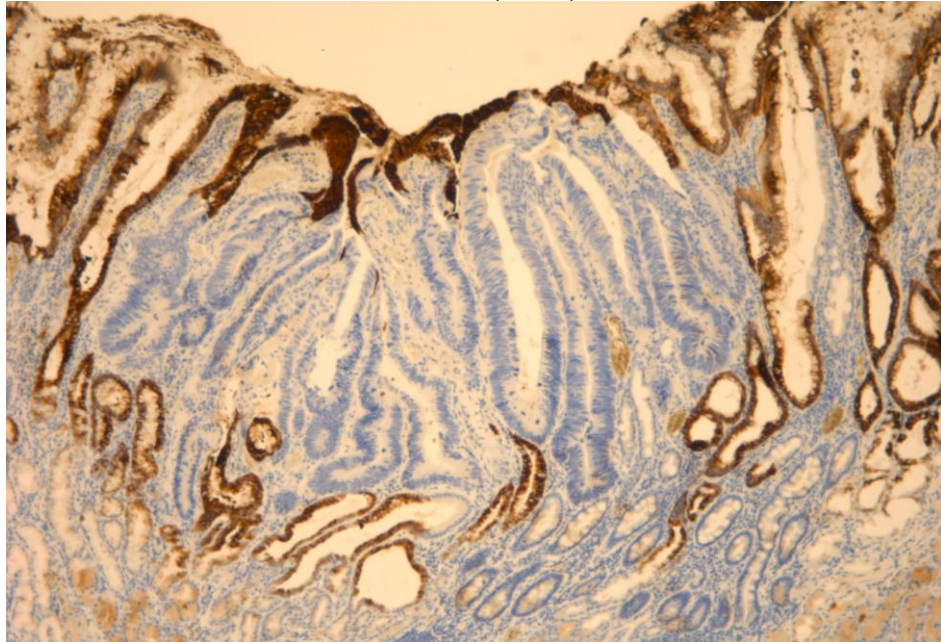


Рисунок 42 - Микрофотография. Отсутствие экспрессии Мус-5АС в РРЖ кишечного типа (в центре рисунка). Иммуногистохимическая реакция с антителами к Мус-5АС. Окраска ДАБ-гематоксилин (x100)

Иммуногистохимическое исследование с АТ к p53

Нами показано, что имеются достоверные различия в количестве (критерий 1) клеток, экспрессирующих p53 между СОЖ ХАГ, ТДЖ и РРЖ кишечного типа (таблица 25 и 26).

Так, если в ХАГ медиана p53-положительных клеток составила 0,0 (0,0 и 0,0), то при ТДЖ это значение было 12,0 (4,5 и 22,5), а при РРЖ кишечного типа - до 52,0 (17,5 и 69,0) - более чем в 4 раза больше по сравнению с ТДЖ (рисунок 43-45).

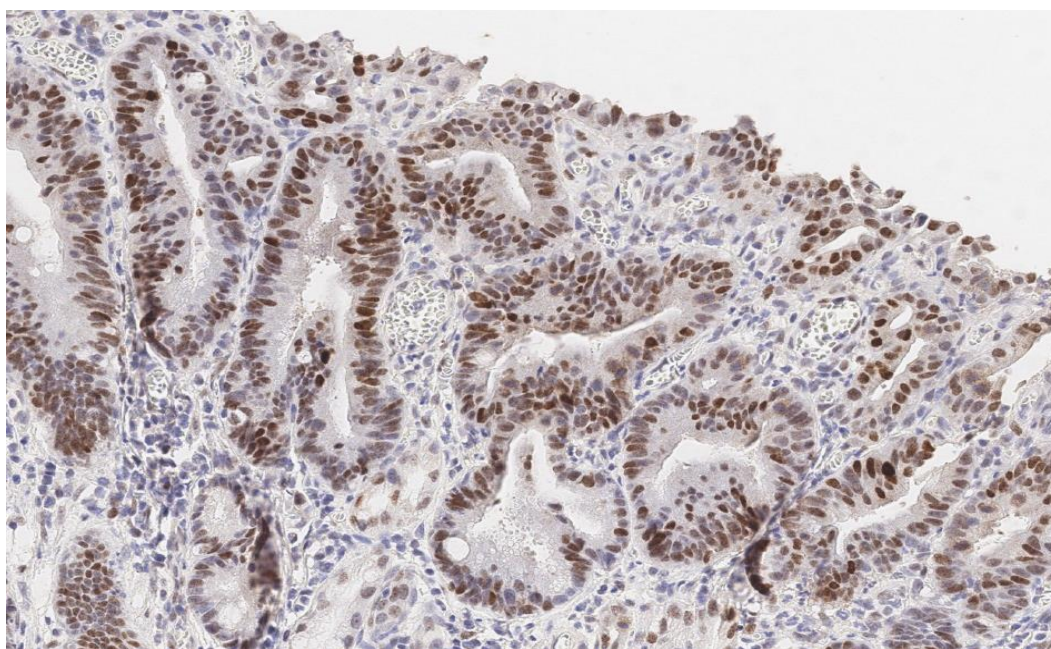


Рисунок 43 - Микрофотография. Умеренно выраженная экспрессия p53 в РРЖ кишечного типа. Иммуногистохимическая реакция с антителами к p53.

Окраска ДАБ-гематоксилин (x200)

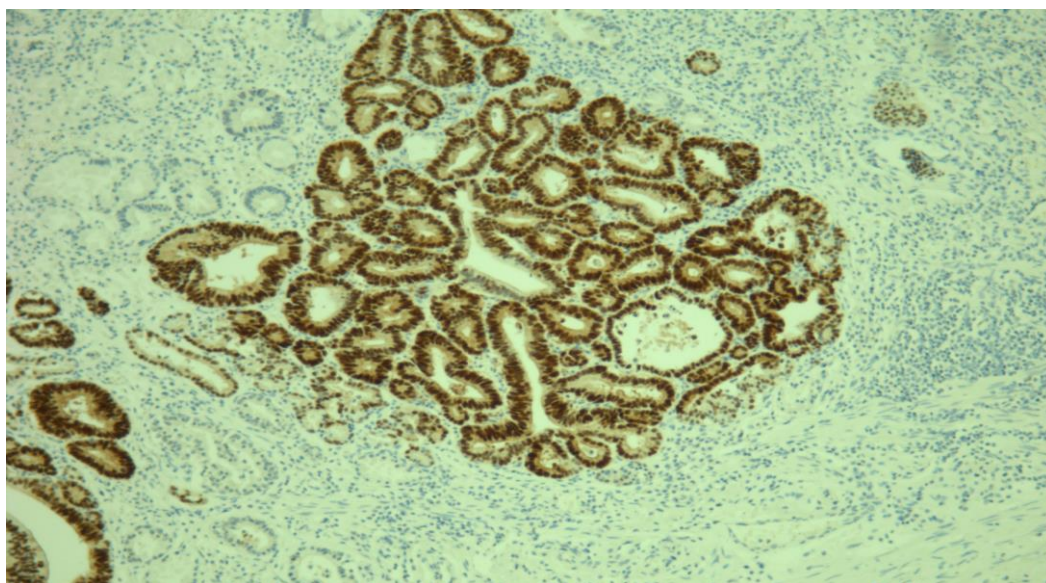


Рисунок 44 - Микрофотография. Выраженная экспрессия p53 в РРЖ
кишечного типа при отсутствии экспрессии в прилежащей СОЖ.
Иммуногистохимическая реакция с антителами к p53. Окраска ДАБ-гематоксилин
(x100)

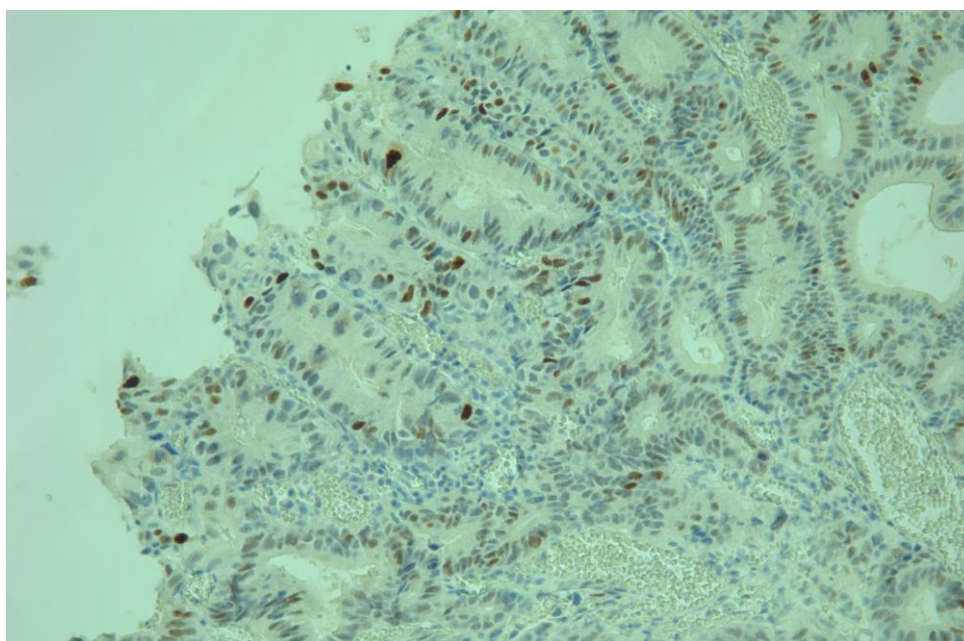


Рисунок 45 - Микрофотография. Слабо выраженная очаговая экспрессия p53
в ТДЖ. Иммуногистохимическая реакция с антителами к p53. Окраска ДАБ-
гематоксилин (x200)

Таблица 25

Результаты исследование РРЖ кишечного типа на p53 по количеству экспрессирующих АТ клеток

Критерий №1 – количество позитивных клеток (в % на 100 клеток)																						
	Слизистая желудка при атрофическом гастрите																					
%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	21 случай	
	Тяжелая дисплазия желудка																					
%	2	2	3	3	4	5	8	8	10	10	12	13	14	14	17	20	25	27	30	52	56	21 случай
	Ранний рак желудка кишечного типа																					
%	7	8	8	9	14	21	28	37	44	47	52	56	59	62	65	68	70	74	76	85	95	21 случай

Таблица 26

Результаты исследование РРЖ кишечного типа на p53 по количеству экспрессирующих АТ клеток* (*p<0,05)

		СОЖ ХАГ	ТДЖ	РРЖ кишечный тип
Количество случаев		21	21	21
Среднее значение		0,24	15,95	46,9
Стандартное отклонение		0,436	15,065	27,756
Наименьшее значение		0	2	7
Наибольшее значение		1	56	95
Процентили	25-я	0	4,5	17,5
	50-я (медиана)	0	12,0	52,0
	75-я	0	22,5	69,0

При анализе экспрессии p53 по критерию 2 (интенсивность экспрессии АТ) в СОЖ ХАГ наблюдалась только слабая экспрессия (из тех случаев, где имела место экспрессия АТ вообще). При ТДЖ сильная экспрессии мы не обнаружили, преобладала слабая экспрессия над умеренной в соотношении 2:1. При РРЖ кишечного типа превалировала умеренная экспрессия p53 (таблица 27).

Таблица 27

Результаты исследование РРЖ кишечного типа на p53 по интенсивности экспрессии АТ*

		патология			Всего
		СОЖ ХАГ	ТДЖ	РРЖ кишечный тип	
нет экспрессии	Количество случаев	16	0	0	16
	Стандартизи- рованные остатки	4,6	-2,3	-2,3	
слабая экспрессия	Количество случаев	5	14	6	25
	Стандартизи- рованные остатки	-1,2	2,0	-0,8	
умеренная экспрессия	Количество случаев	0	7	13	20
	Стандартизи- рованные остатки	-2,6	0,1	2,5	
сильная экспрессия	Количество случаев	0	0	2	2
	Стандартизи- рованные остатки	-0,8	-0,8	1,6	
Всего		21	21	21	63

*p<0,05

ГЛАВА 5 Обсуждение результатов

Изучение клинико-морфологических и молекулярно-генетических особенностей малигнизации эпителиальных новообразований желудка является актуальной проблемой современной онкоморфологии. Много работ как отечественных, так и зарубежных авторов посвящены вопросам предраковых изменений слизистой оболочки желудка и РЖ. Во многом изучены вопросы патогенеза, клинической картины, морфологии, иммуногистохимические и молекулярно-генетические особенности дисплазии и РЖ. Считается доказанной в развитии дисплазии и РЖ кишечного типа роль *Нр* и хронического атрофического гастрита, изучены молекулярно-генетические особенности развития РЖ, на основе которых была разработана молекулярно-генетическая классификация РЖ, а также выявлены маркеры для возможности проведения таргетной терапии.

Однако, не смотря на весь массив исследований, по-прежнему крайне скудной и разрозненной представлена научная информация, касающейся вопросов РРЖ. Во многом это определено относительно недавним выделением данной категории РЖ, для которой характерны высокие показатели выживаемости пациентов при низких рисках метастазирования и возможностях применения органосохраняющих эндоскопических операций. Также немалую роль в ограничении полноценных исследований РРЖ играет тот факт, что пациентов на I стадии РЖ выявляется недопустимо мало.

Недостаточная изученность морфологии ТДЖ и РРЖ кишечного типа затрудняет, а порой делает невозможной оценку и интерпретацию выявляемых при них изменений, особенно при изучении гастробиоптатов (Lambert R., 2003). В связи с этим, ряд исследователей (участники согласительной Парижской конференции, корейские ученые) предлагают для ТДЖ применять ту же лечебную тактику, что и для РРЖ в стадии p1a (то

есть, по сути, относят ТДЖ к раку *in situ*) (Lambert R., 2003; Ryu D.G. et al., 2017). Кроме того, методы ЭРСО/ЭДПО возможно применять уже и для дисплазии желудка II степени тяжести (Fertitta AM et al., 1993).

Для изучения эпителиальных новообразований желудка, в особенности ТДЖ и РРЖ недостаточно применение только рутинных гистологических методик (окраска гематоксилином и эозином, комбинированной ШИК-реакции в сочетании с альциановым синим), так как они далеко не всегда позволяют верно оценить морфологическую картину, выявить глубину инвазии опухоли, наличие раковых эмболов в просвете кровеносных и лимфатических сосудов. А только комплексная морфологическая оценка может удовлетворить запросы современного врача-клинициста. Связано это с разработанными и утвержденными критериями отбора больных для эндоскопической резекции/диссекции слизистой оболочки при РРЖ, а после операции – с критериями эффективности выполненной операции (показаниями для эндоскопической операции являются инвазия в пределах слизистой оболочки (включая рак *in situ*; T1a), аденокарцинома высокой или умеренной степени дифференцировки; I, Па–b тип опухоли по Парижской классификации размером до 2 см без изъязвления; отсутствие клинически определяемых (эндоУЗИ, РКТ) метастазов в регионарные лимфоузлы; отсутствие лимфоваскулярной инвазии).

В настоящее время большинство работ по морфологическому исследованию ТДЖ и РРЖ проводятся с использованием ИГХ. Принципиально важным моментом является изучение всей удаленной опухоли – для этих целей необходимо провести вырезку материала на всю ширину объекта с шагом в 2 мм (серийные срезы) и правильно ориентировать их в кассетах для заливки, что, безусловно, требует большого количества времени и реактивов для окрашивания. Необходимость изучения новообразования желудка целиком обусловлена частой гетерогенностью

морфологической картины, когда в одной и той же опухоли встречаются как структуры аденокарциномы, так и структуры дисплазии различной тяжести. Кроме того, именно такой подход позволяет оценить вертикальный и горизонтальный края резекции. Применение дополнительно ИГХ позволяет оценить с высокой достоверностью структурные изменения эпителиального новообразования желудка, глубину его инвазии, наличие эмболов в просвете кровеносных и лимфатических сосудов, края резекции.

Нами было выявлено, что во всех исследуемых группах (СДЖ, ТДЖ и РРЖ) несколько преобладали женщины (61 человек) над мужчинами (53 человека) - суммарно по группам соотношение 1,15:1. Вместе с тем, при статистической обработке достоверных различий по полу не выявлено ($p > 0,05$). Это касается как каждой из исследуемых групп в отдельности, так и в целом. Эти данные не в полной мере соотносятся с половыми различиями по РЖ в России, где заболеваемость РЖ несколько преобладает у мужчин (соотношение 1,3:1) (Каприн А.Д. и соавт., 2014; Каприн А.Д. и соавт., 2015). На наш взгляд, в этих различиях нет противоречий, т.к. статистика по России учитывает заболеваемость РЖ на всех стадиях и не учитывает СДЖ и ТДЖ вообще.

Изучены возрастно-половые характеристики – так, суммарно по группам средний возраст мужчин составил 65,1 лет при стандартном отклонении 8,1, а у женщин 64,5 лет при стандартном отклонении 13,3. Статистически значимых различий по возрасту не выявлено. При этом в группе с СДЖ средний возраст 64,3 лет, в группе с ТДЖ – 63,8 лет, а в группе с РРЖ кишечного типа – 67,2 лет. Исходя из общепринятой схемы развития РЖ кишечного типа через каскад изменений от хронического атрофического гастрита до дисплазии и рака, то можно предположить, что от группы с СДЖ к группе с ТДЖ и группе РРЖ кишечного типа средний возраст пациентов должен возрастать. Однако, в нашем исследовании мы обнаружили, что

группа с СДЖ «старше» группы с ТДЖ на 0,5лет. Вероятно, это связано с бессимптомным течением СДЖ либо клиническая картина мимикрирует под диагноз «хронический гастрит», что в свою очередь приводит к несвоевременному полноценному обследованию и проведению ЭГДС и следовательно, обнаружение СДЖ происходит достаточно случайно. Кроме того, СДЖ в значительном количестве случаев подвержена регрессу (и вероятно, сюда же следует отнести «реактивную» атипию).

Разница между средним возрастом в группе с ТДЖ и РРЖ кишечного типа 3,4лет. Данный возрастной интервал соотносится с литературными данными, показывающие, что между моментом установления дисплазии желудка II – III степени тяжести до развития РЖ проходит в среднем от 1 до 30 месяцев (Saraga E-P et al., 1987; Rugge M et al., 1991; Di Gregorio C et al., 1993; Farinati F et al., 1993; Pathology and Genetics of Tumors of the Digestive System, 1993; Янкин А.В., 2010).

Для группы с РРЖ кишечного типа средний возраст составил 67,2лет, при этом средний возраст пациентов с впервые выявленным РЖ по России около 67лет) (Каприн А.Д. и соавт., 2014; Каприн А.Д. и соавт., 2015).

При разбивке пациентов с СДЖ, ТДЖ и РРЖ по возрастным и возрастно-половым группам отмечаются пики по возрастной структуре данными нозологиями. Так, для СДЖ характерно 2 пика по возрастной структуре: в 60-64 года и в 75-79лет, причем это актуально как для мужчин, так и для женщин. Для ТДЖ также характерно 2 пика по возрастной структуре: первый период более пролонгированный и занимает 60-69 лет, второй период – 75-79 лет; данные показатели характерны в большей степени для мужчин, для женщин график по возрастным периодам выглядит более сглаженным – первый подъем по возрастной структуре отмечается в 50-59 лет и на одном уровне держится до 69 лет, после этого идет спад с незначительным подъемом в 75-79 лет. Для РРЖ кишечного типа также

характерно 2 пика по возрастной структуре, аналогичные ТДЖ: первый период продолжается 10 лет и приходится на возрастные группы 60-69 лет, второй период – 75-79 лет; при анализе по половым признакам данные показатели характерны в большей степени для мужчин, для женщин первый подъем по возрастной структуре более пролонгирован и отмечается в 50-59 лет и на одном уровне держится до 69 лет, после этого идет на спад со вторым подъемом в 75-79 лет.

Важную роль при исследовании РРЖ играет правильная оценка его макроскопического типа, что может служить косвенным критерием глубины инвазии опухоли и риска лимфогенного метастазирования (Lambert R., 2003; Abe S. et al., 2011; Ohara Y. et al., 2016). Так, при РРЖ 0-Ia типа инвазия в подслизистую основу стенки желудка отмечается в 57% случаев, при 0-IIa и 0-IIb – в 29% и 20% соответственно, при 0-IIc, 0-IIc+IIa и 0-IIa+IIc – в 37%, 47% и 65% соответственно.

Нами был изучен макроскопический тип эпителиальных новообразований желудка в соответствии с Парижской классификацией. Для СДЖ наиболее характерный тип 0-IIa (41%) и 0-Ip (32%), для ТДЖ - 0-IIa и 0-IIb, для РРЖ кишечного типа – также 0-IIa и 0-IIb, для РРЖ диффузного типа - 0-IIa. Схожесть результатов в группах с ТДЖ и РРЖ кишечного типа (преимущественно поверхностные типы поражения слизистой оболочки желудка) хорошо согласуется между собой, учитывая патогенетическую связь между двумя этими состояниями. А вот группа СДЖ, помимо поверхностного типа поражения слизистой оболочки желудка, характеризуется достаточно частым наличием выступающего типа поражения. На наш взгляд это, также как и «нестыковки» по возрастным критериям, говорит о гетерогенности данного типа поражения желудка.

Изучая макроскопический тип эпителиальных новообразований желудка в соответствии с Парижской классификацией, были

проанализированы группы и по полу. Выяснилось, что у мужчин с СДЖ незначительно преобладал 0-Ip тип (36%) и равные доли (по 27%) с 0-IIa и 0-IIb типами, у женщин же явно превалировала группа с 0-IIa (55%). У мужчин и у женщин с ТДЖ преобладали 0-IIa (по 33% и 30% соответственно) и 0-IIb типы (по 33% и 30% соответственно), однако у женщин была заметна также группа с 0-Ip (27%).

Подходы и критерии для проведения ЭРСО/ЭДПО постоянно совершенствуются и претерпевают изменения. Так, размер РРЖ при pT1a стадии перестает играть ключевую роль и позволяет радикально иссекать опухоль любого размера (Park Y.M. et al., 2011). А при pT1b стадии РРЖ для выполнения ЭРСО/ЭДПО размер опухоли не должен превышать 2,0см в диаметре (Park Y.M. et al., 2011; Park J.H. et al., 2015). Наибольший риск регионарного метастазирования имеют злокачественные опухоли при pT1b стадии и размере более 3,0см в диаметре (Hannah H. et al., 2017). При этом, при размере РРЖ менее 1,0см независимо от других критериев (макроскопический и гистологический тип, глубина инвазии и т.д.) риск метастазирования минимальный, что позволяет выполнять ЭРСО/ЭДПО (Park J.H. et al., 2015).

Важную роль в оценке прогностических факторов имеет и гистологическое строение опухоли. Особое место занимает РРЖ смешанного типа строения в виду ухудшения прогноза заболевания (Hwang C.S. et al., 2016). Описано, что наличие в перстневидноклеточном раке тубулярного компонента значительно увеличивает риск регионарного метастазирования (Kim Y.H. et al., 2017; Pyo J.H. et al., 2017), а при равных пропорциях в РРЖ кишечного и диффузного типов по Lauren отмечается высокая вероятность регионарного метастазирования даже при стадии pT1a (Lee J.H. et al., 2016; Pyo J.H. et al., 2016). Частота рецидивов после ЭРСО/ЭДПО при смешанном типе РРЖ также значительно выше (Han J.P. et al., 2015; Lim J.H. et al., 2015), может иметь место и наличие отдаленных метастазов (Han J.P. et al., 2015). При выполнении биопсии только в 2/3 случаев удается

выявить все компоненты смешанного типа РРЖ (Park H.K. et al., 2016); имеются рекомендации считать признаком смешанноклеточного типа РРЖ умереннодифференцированную аденокарциному (по результатам патологоанатомического исследования биопсии) (Shim C.N. et al., 2015).

Помимо гистологического строения РРЖ важную прогностическую роль имеет степень дифференцировки опухоли. Так, при наличии в РРЖ участков высокой и низкой степени злокачественности характеризуются значительно большим риском лимфогенного метастазирования, чем в РРЖ одной степени дифференцировки (Pyo J.H. et al., 2016).

Важнейшим параметром при патологоанатомическом исследовании РРЖ имеет оценка сосудистой (венозной и лимфатической) инвазии. В соответствии с классификацией Японского общества рака желудка выделяют 4 степени инвазии РРЖ в сосуды, причем отдельно оцениваются лимфатические сосуды (ly) и венозные сосуды (v): раковые эмболы отсутствуют (ly0/v0), небольшое количество раковых эмболов (ly1/v1), умеренное количество раковых эмболов (ly2/v2) и большое количество раковых эмболов (ly3/v3) (Ohara Y. et al., 2016).

С целью унификации и практического подхода при ЭРСО/ЭДПО, в 2017 году была разработана балльная шкала оценки риска лимфогенного метастазирования РРЖ «eCura» (Hatta W et al., 2017), которая предлагает 3 степени риска: при сумме баллов 0-1 - низкий (2,5%), сумме баллов 2-4 - умеренный (6,7%) и сумме баллов более 5 - высокий (22,7%). В качестве критериев предложены наличие раковых эмболов в лимфатических сосудах (3 балла), наличие раковых эмболов в венозных сосудах, размер РРЖ более 3см, глубина инвазии pT1b2, положительный вертикальный край резекции, изъязвление, низкая степень дифференцировки (по 1 баллу).

Из всех изученных наблюдений РРЖ преобладали РРЖ кишечного типа (89%), из них 87% были в стадии pT1a, при этом у трети из них (37%) были обнаружены очаги инвазии в мышечную пластинку слизистой

оболочки желудка. Наибольший вклад в оценке глубины инвазии рака, помимо гистологического исследования с окраской гематоксилином и эозином, внесло ИГХ с АТ к Desmin (позволило четко верифицировать мышечную пластинку слизистой оболочки желудка, ее непрерывность/прерывистость) и к CK8/18 (яркая экспрессия в раковых клетках позволяет оценить как морфологию аденокарциномы, так и увидеть и верифицировать мелкие раковые кластеры, особенно если они лежат отдельно от основной опухоли в строме). Соответственно, 13% случаев отнесены к стадии pT1b, когда отмечено полное прорастание мышечной пластинке слизистой оболочки желудка и вращение аденокарциномы в подслизистую основу стенки желудка. В случаях со стадией pT1b важно проведение морфометрического исследования на глубину инвазии в подслизистую основу стенки желудка. Связано это с имеющимися разработками, касающимися критериев эффективности выполненной эндоскопической резекции слизистой оболочки/диссекции подслизистой основы: если глубина инвазии более 500мкм, то выполненное оперативное вмешательство считается условно успешным.

В РРЖ кишечного типа для исключения сосудистой инвазии были проведено ИГХ с АТ к CD34 (для верификации кровеносных сосудов) и к D2-40 (для верификации лимфатических сосудов). При обнаружении в просвете сосудов опухолевых клеток помощью в подтверждении их эпителиальной природы дает оценка экспрессии в них CK8/18. Примечательно, что при глубине инвазии аденокарциномы желудка в пределах pT1a нами не было выявлено сосудистой инвазии ни в одном случае. Только при глубине инвазии аденокарциномы желудка в пределах pT1b в 25% были выявлены раковые эмболы в просвете кровеносных и лимфатических сосудов.

При изучении РРЖ кишечного типа нами были морфологически оценены участки слизистой оболочки желудка, прилегающие к раку, на предмет воспаления, метаплазии и дисплазии, инфицированности *Hp*. Было обнаружено, что в слизистой оболочке желудка, прилежащей к РРЖ кишечного типа, в 94% случаев имел место хронический атрофический гастрит, в 77% случаев – участки толстокишечной метаплазии, в 97% случаев – дисплазия различной степени тяжести. На наш взгляд, эти данные согласуются с общепринятой теорией развития РЖ кишечного типа от атрофического гастрита к дисплазии и к раку (Янкин А.В., 2010).

По данным литературы (Давыдов М.И. и соавт., 2008), частота выявления *Hp* у больных с дисплазией различной степени и с кишечной метаплазией находится на уровне 88-96%, при этом возрастая от СДЖ к ТДЖ; к тому же наличие кишечной метаплазии у пациентов с ХАГ также увеличивает частоту выявления *Hp*. Эти данные противоречат с полученными нами результатами. Для оценки инфицированности РРЖ кишечного типа *Hp* нами были использованы 3 метода: окраска по Р-Г, ИГХ и ПЦР в режиме реального времени. При этом *Hp* были обнаружены только в 1/3 случаев (33,5%), из них выраженная обсемененность *Hp* была только в 14% случаев, в оставшихся случаях 86% - слабая. На наш взгляд, наличие *Hp*-инфекции только в 1/3 случаев РРЖ кишечного типа достаточно закономерно в виду того, что изменении морфологии слизистой оболочки желудка (толстокишечная метаплазия, РРЖ кишечного типа) изменяются ее физико-химические свойства, что приводит к изменению микроусловий для жизнедеятельности *Hp*. Данный вопрос нуждается в дополнительной проработке.

При анализе используемых методов обнаружения *Hp* мы получили, что одновременно всеми тремя методами выявили только 14% *Hp*-положительных случаев РРЖ кишечного типа; 29% *Hp*-положительных

случаев РРЖ кишечного типа удалось диагностировать только методом ПЦР; в оставшихся 57% *Hr*-положительных случаях РРЖ кишечного типа бактерии были обнаружены одновременно двумя методами (ПЦР+Р-Г/Р-Г+ИГХ). Чувствительность различных методов для обнаружения *Hr* составила: ПЦР – 86%, Р-Г – 71%, ИГХ – 43%. Таким образом, ни один из методов не дал 100% чувствительности, комбинация ПЦР и Р-Г дает возможность выявить *Hr* в 100%. Такие данные связаны, как нам кажется, с небольшим количеством *Hr* в исследуемом материале (86% - слабая обсемененность *Hr*).

Ни в одном наблюдении не было выявлено в РРЖ кишечного типа мутации гена BRAF и в 5% была выявлена мутация гена KRAS. При этом, HER2 амплификация в РРЖ кишечного типа была отмечена в 29% наблюдений: 19% положительный HER2-статус, в 10% - неопределенный. Полученные данные согласуются с литературными источниками (Завалишина Л.Э. и соавт., 2014; Janjigian YY et al., 2012; Matsusaka S et al., 2016).

Полученные данные по экспрессии CK8/18 в СОЖ ХАГ, ТДЖ и РРЖ кишечного типа – отмечена сильная экспрессия практически во всех эпителиальных клетках – говорят об отсутствии различий по экспрессии указанного АТ, однако применение CK8/18 является чрезвычайно актуальным для диагностики РРЖ кишечного типа в виду несколько иного характера экспрессии (равномерная цитоплазматическая экспрессия в РРЖ кишечного типа и краевая цитоплазматическая экспрессия при ХАГ). Применение CK8/18 также значительно упрощает оценку архитектоники рака, глубины его инвазии (особенно в случаях наличия мелких опухолевых кластеров), а также позволяет выявлять раковые эмболы в кровеносных сосудах.

Нами в ходе исследования выявлены значительные отличия между СОЖ ХАГ, ТДЖ и РРЖ кишечного типа по экспрессии СК7. Особенно заметны отличия по количеству экспрессирующих АТ клеток между СОЖ САГ и ТДЖ и между СОЖ ХАГ и РРЖ кишечного типа. Выявлены также достоверные отличия по количеству экспрессирующих СК7 клеток между ТДЖ и РРЖ кишечного типа.

В настоящем исследовании мы обнаружили в целом низкие значения по количеству экспрессирующих Muc-1 клеток в СОЖ ХАГ, ТД и РРЖ кишечного типа. Вместе с тем, имеет место статистически значимое увеличение количества экспрессирующих клеток от СОЖ ХАГ к ТД и от ТД к РРЖ кишечного типа. Усиление экспрессии MUC-1 может играть определенную роль в злокачественной трансформации эпителиальных клеток не только желудка, но и в ряде других видов злокачественных опухолей, таких как рак молочной железы, толстой кишки и поджелудочной железы (Huang Q. Et al., 2002; Levi E. Et al., 2004; Rakha EA et al., 2005). Ряд исследователей показали связь между РЖ с положительной экспрессией MUC-1 и глубиной инвазии, наличием раковых эмболов в лимфатических или кровеносных сосудах, большего количества метастазов в лимфатических узлах (Akyurek N et al., 2002; Wang JY et al., 2003; Wang RQ et al., 2003). Предполагают, что MUC-1 является возможным индикатором дифференцировки РЖ и может использоваться для дифференцировки кишечного и диффузного типов РЖ. Следует отметить, что Wang et al. и Kocer et и др. не сообщали о различии в экспрессии MUC-1 между двумя типами карцином (Wang RQ et al., 2003; Kocer B et al., 2004). Таким образом, MUC-1 может лежать в основе молекулярных механизмов для дифференциации карциномы кишечника и диффузного типа и использоваться как индикатор биологического поведения РЖ. Так, средняя выживаемость в послеоперационном периоде у пациентов с Muc-1-

позитивным РЖ составила 12 месяцев, с MUC1-негативными карциномами 28,5 месяцев (С.М. den Hoed et al., 2013).

В СОЖ среднее значение экспрессия Muc-2 составили 0,1% при 75th перцентиле 0%, т.е. практически отсутствовало. Однако, в ТД экспрессия Muc-2 выявлялась во всех случаях в среднем в 25,86% клеток, достигая максимума в 60%. Были ожидания, что в РРЖ кишечного типа эти показатели будут еще выше, однако, мы выявили, что хотя Muc-2 обнаружился во всех случаях РРЖ кишечного типа, произошло двукратное снижение количества экспрессирующих Muc-2 раковых клеток по сравнению с ТД (такие результаты как по средним значениям, так и по перцентильям). Причем, в РРЖ кишечного типа половину случаев с экспрессией Muc-2 составило слабой интенсивности окрашивание (в ТД – слабая экспрессия только в 1/5 части). Литературные данные (Min Jong Lee B.S. et al., 2003; Bita Geramizadeh et al., 2012; D. Lasar et al.; Hannah H. et al., 2017) указывают на то, что в среднем Muc-2 выявляется в 30-35% случаев РЖ, при этом не выявлено взаимосвязи между pTNM и характером экспрессии Muc-2 в РЖ, а также показателями 5-и летней выживаемости пациентов (средние показатели выживаемости пациентов - 16 месяцев для пациентов с MUC2-положительными карциномами и 18,4 месяцев для пациентов с MUC2-негативными карциномами).

Литературные данные (Min Jong Lee B.S. et al., 2003; Bita Geramizadeh et al., 2012; D. Lasar et al.; Hannah H. et al., 2017) показывают, что Muc-5AC в РЖ положителен в 55-80% случаев и отличается в зависимости от локализации и гистологического типа рака; связь между лимфоваскулярной инвазией, стадией pTNM, отдаленных метастазов и экспрессией Muc5-AC также не обнаружена. Показатели 5-и летней выживаемости составляет 16,3% (18 месяцев) для Muc5-AC-положительных пациентов против 16,7%

(16 месяцев) для пациентов с отрицательным результатом Мuc-5АС. Широко исследована прогностическая роль уменьшенной экспрессии Мuc5АС при РЖ (Lee HS et al., 2001; Li-Jun Xiao et al., 2012) - установлено, что корреляции между уменьшенной экспрессией Мuc5АС и глубиной инвазии опухолей и метастазами в лимфатические узлы являются значительными. В нашем исследовании мы не обнаружили значимых отличий по количеству экспрессирующих Мuc-5АС клеток в СОЖ ХАГ, ТД и РРЖ кишечного типа. Однако, в РРЖ кишечного типа 50th перцентиль оставался на уровне 7%, в то время как в СОЖ ХАГ он был 30%, а в ТД 24%. Только при 75th перцентиле значения по количеству экспрессирующих Мuc-5АС клеток в СОЖ ХАГ, ТД и РРЖ кишечного типа примерно сравнялись. Предполагаем, что это связано с наличием фенотипических подтипов РРЖ кишечного типа по экспрессии Мuc-5АС.

Таким образом, современные представления о РРЖ претерпевают значительные изменения и рядом исследователей предлагается рассматривать РРЖ с точки зрения критериев эндоскопических возможностей его радикального удаления. С этих позиций к РРЖ предлагается относить высокодифференцированную аденокарциному кишечного типа в стадии T1aN0M0/T1b1N0M0, низкодифференцированную аденокарциному и диффузный тип РЖ в стадии T1aN0M0 размерами до 3см без изъязвления (Endoscopic Classification Review Group, 2005; Japanese classification of gastric carcinoma, 2011; Barreto S.G. et al., 2016; Kim Y.H. et al., 2016; Imamura T. Et al., 2016; Japanese Gastric Cancer Association, 2017; Lee I.S. et al., 2017). Выполненное нами исследование РРЖ кишечного типа позволяет применить полученные результаты для комплексной патологоанатомической оценки эпителиальных новообразований желудка с целью выработки тактики лечения пациента.

Предлагаемый нами алгоритм патологоанатомического исследования эпителиальных новообразований желудка, включая РРЖ, схематично представлен ниже (рисунок 45).

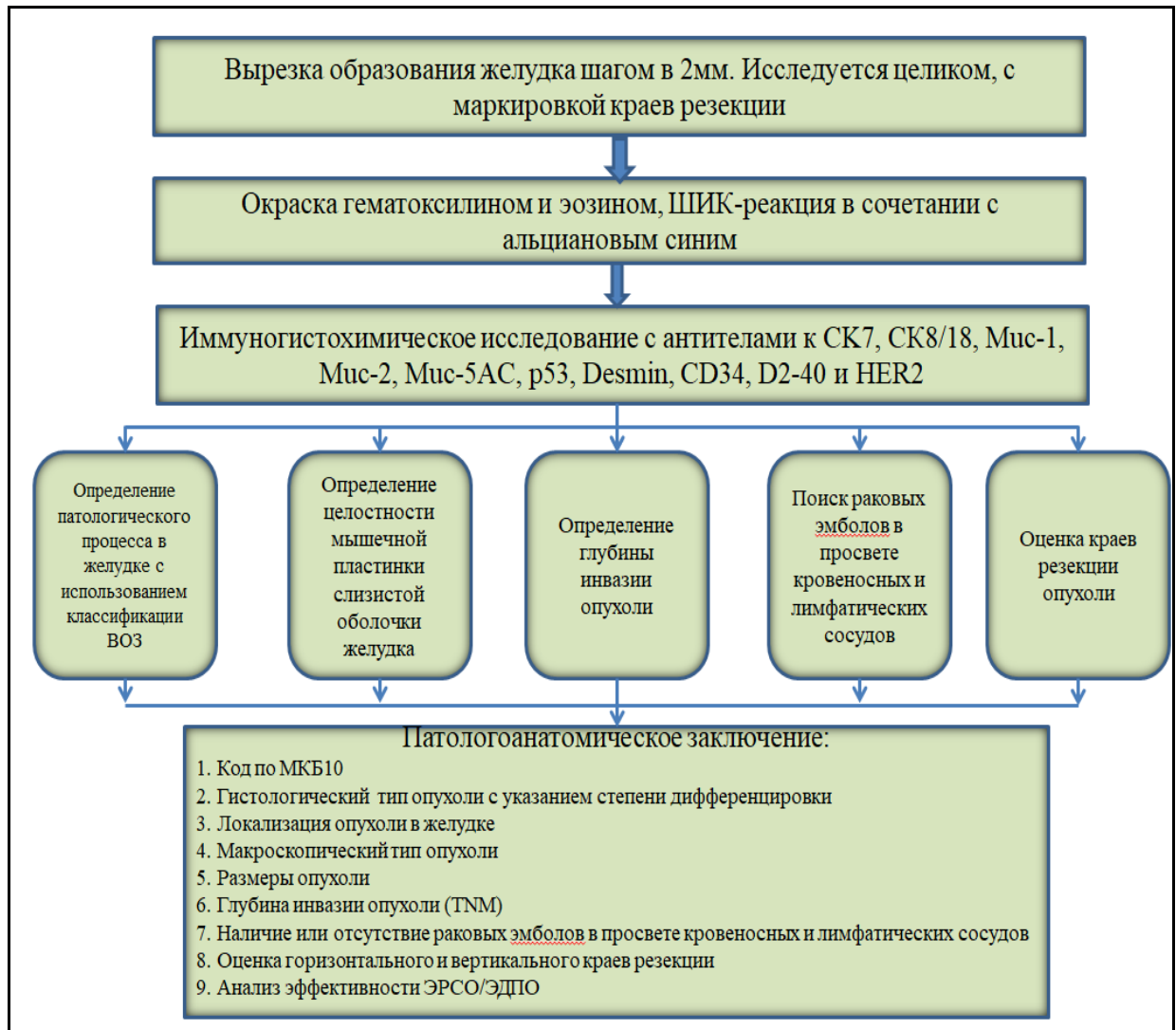


Рисунок 45. Алгоритм патологоанатомического исследования раннего рака желудка

ВЫВОДЫ

1. Для возрастной структуры пациентов с дисплазией желудка слабой и тяжелой степени, раннего рака желудка кишечного типа характерно 2 пика: первый пик для дисплазии слабой степени приходится на возрастной период 60-64 года, для дисплазии тяжелой степени и раннего рака желудка кишечного типа – на возрастной период 60-69 лет; второй пик заболеваемости во всех группах 75-79 лет.

2. Наиболее частыми макроскопическими типами для дисплазии желудка слабой степени являются 0-IIa и 0-Ip, а для дисплазии желудка тяжелой степени и раннего рака желудка кишечного типа - 0-IIa и 0-IIb.

3. Ранний рак желудка кишечного типа характеризуется наличием в прилежащих отделах слизистой оболочки желудка участков дисплазии тяжелой степени (в 97% случаев), хронического атрофического гастрита (в 94% случаев) и толстокишечной метаплазии (в 77% случаев). Для раннего рака желудка кишечного типа характерны низкие значения обсемененности *Helicobacter pylori*, который выявляется только в 33,5%.

4. В раннем раке желудка мутации гена BRAF отсутствовали; мутации гена KRAS выявлены в 5%; HER2-амплификация была выявлена в 29%.

5. Ранний рак желудка кишечного типа и дисплазия желудка тяжелой степени характеризуются во многом сходным иммунофенотипом, однако имеются статистически значимые отличия по характеру экспрессии ряда антител: для CK7, Muc-1 и p53 характерно нарастание количества экспрессирующих клеток в ряду «хронический атрофический гастрит – дисплазия желудка тяжелой степени – ранний рак желудка кишечного типа»; для CK8/18 и Muc-5AC статистически значимых отличий в экспрессии нет; а для Muc-2 характерно резкое увеличение количества экспрессирующих клеток в ряду «хронический атрофический гастрит – дисплазия желудка

тяжелой степени» и затем снижение вдвое в ряду «дисплазия желудка тяжелой степени – ранний рак желудка кишечного типа».

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Основываясь на результатах нашего исследования, результатах практического внедрения методик в работу патологоанатомического отделения ГБУЗ «ГКБ №31 ДЗМ», разработан алгоритм патологоанатомического исследования биопсийного и операционного материала с эпителиальными новообразованиями желудка, включая ранний рак желудка, отражающий значимые параметры, необходимые для стадирования заболевания (pTis, pT1a, pT1b) и определения тактики лечения. Предлагаем следующий алгоритм морфологического исследования эпителиальных новообразований желудка, удаленных методами ЭРСО/ЭДПО:

1. Определение характера патологического процесса в присланном объекте с использованием гистологической классификации эпителиальных опухолей желудка (ВОЗ, 2010). Помимо использования окраски гематоксилином и эозином, комбинированной ШИК-реакции в сочетании с альциановым синим, выполнение ИГХ с АТ к p53, Muc-1, Muc-2, Muc-5AC, CK8/18, CK7, HER2-статуса.
2. Определение целостности мышечной пластинки слизистой оболочки стенки желудка. Помимо использования окраски гематоксилином и эозином, комбинированной ШИК-реакции в сочетании с альциановым синим, для точной верификации мышечной пластинки рекомендуется ИГХ с АТ к Desmin;
3. Оценка глубины инвазии опухоли. Оценку глубины инвазии РРЖ проводят от мышечной пластинки слизистой оболочки до наиболее глубокой точки инвазии опухоли. Принципиальным моментом является выявление глубины инвазии более 500 мкм (The Paris endoscopic classification of

superficial neoplastic lesions, 2002; Endoscopic Classification Review Group, 2005; Park K. et al., 2014).

4. Определение наличия раковых эмболов в просвете кровеносных и лимфатических сосудов. Для верификации кровеносных сосудов применяют ИГХ с АТ к CD34, лимфатических сосудов - к D2-40, а собственно раковые эмболы экспрессируют CK8/18.

5. Оценка горизонтального края резекции. Для точного определения отсутствия опухолевого роста в краях резекции принципиальным моментом является правильная вырезка материала. Возможны два варианта: либо края резекции вырезаются по периметру новообразования и маркируются отдельно, либо (предпочтительнее) материал нарезают пластинами с шагом 2 мм, каждую из которых маркируют и укладывают в отдельную гистологическую кассету. Материал исследуется полностью.

6. Оценка вертикального края резекции. При отрицательном вертикальном крае резекции опухоль в глубоких отделах покрывает ткань желудка.

7. Заключение включает в себя:

7.1. Код по МКБ-10

7.2. Гистологический тип опухоли с указанием степени дифференцировки;

7.3. Локализация опухоли;

7.4. Макроскопический тип опухоли (по клиническим/эндоскопическим данным);

7.5. Размеры опухоли;

7.6. Глубина инвазии (TNM-классификация);

7.7. Наличие инвазии в лимфатических сосудах;

7.8. Наличие инвазии в кровеносных сосудах;

7.9. Оценка горизонтального края резекции;

7.10. Оценка вертикального края резекции;

7.11. Анализ эффективности ЭРСО/ЭДПО.

Под эффективно выполненной ЭРСО/ЭДПО понимают метод лечения РРЖ при минимальных рисках лимфогенного метастазирования и рецидива, сравнимых с операционным риском традиционных хирургических вмешательств. Наибольшее значения для прогнозирования риска лимфогенного метастазирования при РРЖ имеют следующие критерии (Endoscopic Classification Review Group, 2005; Gotoda T. et al., 2000; Sekiguchi M. Et al., 2016; Kim Y.H. et al., 2017)

- 1) размеры опухоли (чем больше размер опухоли, тем больше риск);
- 2) макроскопический тип опухоли (риск метастазирования возрастает при О-Ia и смешанных типах опухоли);
- 3) степень дифференцировки и гистологический тип (при сочетании высокой и низкой степени злокачественности, смешанных типах рака риск возрастает);
- 4) глубина инвазии опухоли (минимальные показатели метастазов при Tis и T1a и значительно большие при pT1b стадии TNM);
- 5) наличием раковых эмболов в кровеносных и лимфатических сосудах (риск резко возрастает).

Критерии неэффективного ЭРСО/ЭДПО при любом типе раке желудка (Lee HS et al., 2001; Park J.H. et al., 2015; Zhao B.W. et al., 2015; Ajani J.A. et al., 2016; Imamura T. et al., 2016; Japanese Gastric Cancer Association, 2017):

1. Инвазия в лимфатические или кровеносные сосуды;
 2. Гистологически положительный или неподдающийся оценке горизонтальный или вертикальный хирургический край;
 3. Опухоль не резецирована единым блоком;
 4. Наличие участков муцинозной аденокарциномы (Fang W.L. et al., 2009)
- (хотя ряд авторов считают, что прогноз при муцинозном типе РРЖ не отличается от

иных типов рака и не должен влиять на выбор лечебной тактики (Caruso R.A., 1999)).

Таким образом, для оценки эффективности ЭРСО/ЭДПО при патологоанатомическом исследовании эпителиальных новообразований желудка, включая РРЖ, необходимо максимально полно оценивать все характеристики опухоли и отображать их в заключении.

Список литературы

1. Вернигородский С.В. Предраковые изменения слизистой оболочки желудка и инфекция *Helicobacter pylori* / С.В. Вернигородский, М.В. Мнихович // Клиническая морфология. - 2015. - №1(13). – с.4-8.
2. Давыдов М.И. Злокачественные новообразования в России и странах СНГ в 2001 году / М.И. Давыдов, Е.М. Аксель // М.: Медицинское информационное агентство, 2003.
3. Давыдов М.И. Факторы риска лимфогенного метастазирования раннего рака желудка / М.И. Давыдов, И.Н. Туркин, В.В. Мочальникова // Материалы V съезда онкологов и радиологов СНГ. Ташкент. -2008. – с. 286.
4. Завалишина Л.Э. Сравнительный анализ определения HER2-статуса рака желудка в биопсийном и операционном материале / Л.Э. Завалишина, Ю.Ю. Андреева, И.Ю. Виноградов, Н.В. Данилова, О.А. Кузнецова, Г.А. Франк // Архив патологии. - 2014. - №6.- с.22-27.
5. Каприн А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2013 году (заболеваемость и смертность) / А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.П. Петрова // М.: МНИОИ им. П.А. Герцена филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава России. - 2014.
6. Каприн А.Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2014 году / А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.П. Петрова - М.: МНИОИ им. П.А. Герцена филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава России. - 2015.
7. Клинические рекомендации по диагностике и лечению больных раком желудка // Общероссийский союз общественных объединений Ассоциация онкологов России 2014.

8. Левицкий А.В. Особенности распространения, лимфогенного метастазирования и результаты хирургического лечения больных ранним раком желудка: Автореф. Дисс...к.м.н. – М., - 2009. – с.173
9. Маев И.В. Рак желудка: факторы риска и возможности канцеропревенции. / И.В. Маев, Д.Н. Андреев // Consilium Medicum. - 2014. - №12. – с.45-50.
10. Михалева Л.М. Алгоритм клинико-морфологической диагностики раннего рака желудка / Л.М. Михалева, А.Е. Бирюков, Р.В. Плахов // Клиническая и экспериментальная морфология. - 2015. - №1(13). – с.19-23.
11. Михалева Л.М. Современный клинико-морфологический подход к раннему раку желудка / Л.М. Михалева, А.Е. Бирюков, Р.В. Плахов // Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. - 2014. - №4. – с.35-41.
12. Петерсон Б.Е. Ранняя онкологическая патология / Б.Е. Петерсон., В.И. Чиссов., Г.И. Авдеев // Медицина. - 1985. – с.320.
13. Поддубный Б.К. Современное состояние эндоскопической диагностики и лечения ранних форм рака пищевода и желудка / Б.К. Поддубный, Ю.П. Кувшинов, О.Н. Ефимов // Современная онкология. - 2009. - №2. – с.68-72.
14. Рак желудка. Эпидемиологические особенности на современном этапе / Н.А. Шаназаров и др // Современные проблемы науки и образования. - 2014. - №4. – с.256.
15. Соколов В.В., Карпова Е.С., Павлов П.В., Чиссов В. И., Вашакмадзе Л.А., Франк Г.А., Белоус Т.А. / Варианты эндоскопического лечения при раке пищевода и желудка у инкурабельных больных // Эндоскопия. - 2012. - №4. – с.2-10.

16. Частота и распространенность эпителиально-мезенхимальной трансформации в основных типах рака желудка и ее роль в определении свойств этих опухолей / И.В. Василенко и др. // Медицинская наука и образование Урала. – 2016. - №1. – с.36-40.
17. Янкин А.В. Скрининг рака желудка / А.В. Якунин // Практическая онкология. – 2010. - №2(11). – с.96-101.
18. Abe S., Oda I., Nakajima T., Suzuki H., Nonaka S., Yoshinaga S., Sekine S., Taniguchi H., Kushima R., Iwasa S., Saito Y., Katai H. A case of local recurrence and distant metastasis following curative endoscopic submucosal dissection of early gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2015; 18(1): 188–192.
19. Abe S., Oda I., Shimazu T., Kinjo T., Tada K., Sakamoto T., Kusano C., Gotoda T. Depth-predicting score for differentiated early gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2011; 14(1):35–40.
20. Araujo-Filho I., Brando-Neto J. Prevalence of helicobacter pylori infection in advanced gastric carcinoma // *Arq. Gastroenterol*. 2006; 43:288-292.
21. Ajani J.A., D’Amico T.A., Almhanna K., Bentrem D.J., Chao J., Das P., Denlinger C.S., Fanta P., Farjah F., Fuchs C.S., Gerdes H., Gibson M., Glasgow R.E., Hayman J.A., Hochwald S., Hofstetter W.L., Ilson D.H., Jaroszewski D., Johung K.L., Keswani R.N., Kleinberg L.R., Korn W.M., Leong S., Linn C., Lockhart A.C., Ly Q.P., Mulcahy M.F., Orringer M.B., Perry K.A., Poultsides G.A., Scott W.J., Strong V.E., Washington M.K., Weksler B., Willett C.G., Wright C.D., Zelman D., McMillian N., Sundar H. Gastric cancer, version 3.2016, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2016; 14 (10): 1286–1312.
22. Akyurek N, Akyol G, Dursun A, Yamac D and Gunel N: Expression of MUC1 and MUC2 mucins in gastric carcinomas: their relationship with clinicopathologic parameters and prognosis. *Pathol Res Pract*. 2002; 198: 665-674.

23. Annemarie C. de Vries, Nicole C.T. van Grieken, Caspar W.N. Looman, Mariël K. Casparie, Esther de Vries, Gerrit A. Meijer, Ernst J. Kuipers. Gastric Cancer Risk in Patients With Premalignant Gastric Lesions: A Nationwide Cohort Study in the Netherlands. *Gastroenterology* 2008; 134:945-952
24. Baldus SE, Zirbes TK, Engel S, Hanisch FG, Monig SP, Lorenzen J, Glossmann J, Fromm S, Thiele J, Pichlmaier H and Dienes HP: Correlation of the immunohistochemical reactivity of mucin peptide cores MUC1 and MUC2 with the histopathological subtype and prognosis of gastric carcinomas. *Int J Cancer* 79: 133-138, 1998.
25. Barreto S.G., Windsor J.A. Redefining early gastric cancer. *Surg Endosc.* 2016 Jan; 30 (1): 24–37.
26. Bieche I and Lidereau R: A gene dosage effect is responsible for high overexpression of the MUC1 gene observed in human breast tumors. *Cancer Genet Cytogenet.* 1997; 98: 75-80.
27. Bitar Geramizadeh, Maral Mokhtari, Salma Sefidbakht, Marjan Rahsaz. Mucin Profile Expression in Gastric Adenocarcinoma //Middle East J Dig Dis. 2012; 4(4): 211–215.
28. Borchardt H., Borrmann R., Christeller E., Dietrich A., Fischer W., Gierke E.V., Mayer E. *Verdauungsschlauch: Dritter Teil.* Softcover reprint of the original 1st ed. 1929 edition. Berlin: Springer. 2012; 1076.
29. Bosman F.T., Carneiro F., Hruban R.H., Theise N.D. WHO classification of tumours of the digestive system. World Health Organization, Lyon: IARC Press, 2010; 417.
30. Carrato C, Balague C, de Bolos C, Gonzalez E, Gambus G, Planas J, Perini JM, Andreu D, Real FX. Differential apomucin expression in normal and

- neoplastic human gastrointestinal tissues. *Gastroenterology* 1994; 107: 160-172.
31. Carriaga M.T., Henson D.E. The histologic grading of cancer. *Cancer*. 1995; 75 (1): 406–421.
 32. Caruso R.A. The histogenesis of mucinous adenocarcinoma of the stomach from observations in early gastric cancer. *Ann Diagn Pathol*. 1999; 3 (3): 160–4.
 33. Celli JP , Turner BS, Afdhal NH, Keates S, Ghiran I, Kelly CP, Ewoldt RH, McKinley GH, So P, Erramilli S, Bansil R. *Helicobacter pylori* moves through mucus by reducing mucin viscoelasticity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106:14321-14326.
 34. Cesaretti M., Zarzavadjian L.E., Bian A. In vivo medical imaging technologies: new possibility in diagnosis of gastric cancer. *Minerva Chir*. 2016; 71 (4): 270–277.
 35. Chen Y.C., Fang W.L., Wang R.F., Liu C.A., Yang M.H., Lo S.S., Wu C.W., Li A.F., Shyr Y.M., Huang K.H. Clinicopathological Variation of Lauren Classification in Gastric Cancer. *Pathol Oncol Res*. 2016; 22 (1): 197–202.
 36. Chu PG, Weiss LM: Keratin expression in human tissues and neoplasms. *Histopathology* 2002; 40: 403–439.
 37. Chu P, Wu E, Weiss LM: Cytokeratin 7 and cytokeratin 20 expression in epithelial neoplasms: a survey of 435 cases. *Mod Pathol* 2000; 13: 962–972.
 38. C. M. den Hoed, I. L. Holster, L. G. Capelle, A. C. de Vries, B. den Hartog, F. ter Borg, K. Biermann, E. J. Kuipers. Follow-up of premalignant lesions in patients at risk for progression to gastric cancer. *Endoscopy* 2013; 45: 249-256.

39. Corfield AP, Myerscough N, Longman R, Sylvester P, Arul S, Pignatelli M. Mucins and mucosal protection in the gastrointestinal tract: new prospects for mucins in the pathology of gastrointestinal disease. *Gut* 2000; 47: 589-594.
40. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process. First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Res.* 1992; 52:6735-40.
41. Correa P. Is gastric cancer preventable? // *Gut* 2004; 53:1217-1219.
42. Cozzi PJ, Wang J, Delprado W, Perkins AC, Allen BJ, Russell PJ and Li Y: MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC and MUC6 expression in the progression of prostate cancer. *Clin Exp Metastasis.* 2005; 22: 565-573.
43. de Vries AC, van Grieken NC, Looman CWet al. Gastric cancer risk in patients with premalignant gastric lesions: a nationwide cohort study in the Netherlands. *Gastroenterology* 2008; 134: 945–952.
44. Di Gregorio C, Morandi P, Fante R, et al. Gastric dysplasia. A follow-up study. *Am J Gastroenterol* 1993; 88:1714–19.
45. Dinis-Ribeiro M, Lopes C, da Costa-Pereira A et al. A follow up model for patients with atrophic chronic gastritis and intestinal metaplasia. *J Clin Pathol* 2004; 57: 177–182.
46. Dinis-Ribeiro M et al Management of precancerous conditions and lesions in the stomach (MAPS): guideline from the European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE), European Helicobacter Study Group (EHSg), European Society of Pathology (ESP), and the Sociedade Portuguesa de Endoscopia Digestiva (SPED)*Endoscopy* 2012; 44: 74–94.
47. D.Lasar, S.Taban, S.Ursoniu. Immunohistochemical Profile of Mucin in Gastric Carcinoma //DOI:http://cdn.intechopen.com/pdfs/17210/InTech-Immunohistochemical_profile_of_mucins_in_gastric_carcinoma.pdf.

48. Endoscopic Classification Review Group. Update on the Paris classification of superficial neoplastic lesions in the digestive tract. *Endoscopy*. 2005; 37 (6): 570–578.
49. Everett S.M., Axon A.T. Early gastric cancer in Europe *Gut*. 1997 Aug; 41(2):142-50.
50. Fang C., Shi J., Sun Q., Gold J.S., Xu G.F., Liu W.J., Zou X.P., Huang Q. Risk factors of lymph node metastasis in early gastric carcinomas diagnosed by WHO criteria in 379 Chinese patients. *J Dig Dis*. 2016; 17(8): 526–537.
51. Fang W.L., Wu C.W., Lo S.S., Chen J.H., Hsieh M.C., Shen K.H., Li A.F., Tai L.C., Lui W.Y. Mucin-producing gastric cancer: clinicopathological difference between signet ring cell carcinoma and mucinous carcinoma. *Hepatogastroenterology*. 2009 Jul-Aug; 56 (93): 1227–31.
52. Farinati F, Rugge M, Di Mario F, et al. Early and advanced gastric cancer in the follow-up of moderate and severe gastric dysplasia patients. A prospective study. *Endoscopy* 1993; 25:261–4
53. Fattorossi A, Battaglia A, Malinconico P, Stoler A, Andreocci L, Parente D, Coscarella A, Maggiano N, Perillo A, Pierelli L and Scambia G: Constitutive and inducible expression of the epithelial antigen MUC1 (CD227) in human T cells. *Exp Cell Res* 280: 107-118, 2002.
54. Felicity E.B. May, S.Michael Griffin, Bruce R. Westley. The trefoil factor interacting protein TFIZ1 binds the trefoil protein TFF1 preferentially in normal gastric mucosal cells but the co-expression of these proteins is deregulated in gastric cancer. *Int J of Biochem Cell Biol*. 2009; 41(3): 632-640.
55. Fertitta AM, Comin U, Terruzzi V, et al. Clinical significance of gastric dysplasia: a multicenter follow-up study. *Endoscopy* 1993; 25:265–8

56. Figueiredo C, Constanza Camargo M, et al. Pathogenesis of Gastric Cancer: Genetics and Molecular Classification. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2017; 400:277-304.
57. Fred T. Bosman, Fatima Carneiro, Ralph H. Hruban, Neil D. Theise WHO Classification of Tumors of the Digestive Sydtem. 4th Edition. Lyon, 2010.
58. Gaemers IC, Vos HL, Volders HH, van der Valk SW and Hilkens J: A stat-responsive element in the promoter of the episialin/MUC1 gene is involved in its overexpression in carcinoma cells. *J Biol Chem*. 2001; 276:6191-6199.
59. Global Cancer Facts & Figures 3rd Edition/American Cancer Society
60. Goldgar D.E., Easton D.F., Cannon-Albright L.A., Skolnick M.H. Systematic population-based assessment of cancer risk in first-degree relatives of cancer probands // *J. Natl. Cancer Inst*. 1994; 86:1600–1608.
61. Goseki N., Takizawa T., Koike M. Differences in the mode of the extension of gastric cancer classified by histological type: new histological classification of gastric carcinoma. *Gut*. 1992; 33 (5): 606–12.
62. Gotoda T., Iwasaki M., Kusano C., Seewald S., Oda I. Endoscopic resection of early gastric cancer treated by guideline and expanded National Cancer Centre criteria. *Br J Surg*. 2010; 97 (6): 868–71.
63. Gotoda T., Yanagisawa A., Sasako M., Ono H., Nakanishi Y., Shimoda T., Kato Y. Incidence of lymph node metastasis from early gastric cancer: estimation with a large number of cases at two large centers. *Gastric Cancer*. 2000 Dec; 3 (4): 219–225.
64. Grundmann E., Schlake W. Histological classification of gastric cancer from initial to advanced stages. *Pathol Res Pract*. 1982; 173 (3):260–74.
65. Guindi M, Riddell RH. The pathology of epithelial pre-malignancy of the gastrointestinal tract. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2001; 15: 191–210.

66. Hamilton S.R., Aaltonen L.A. WHO classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of the digestive system. Geneva WHO, IARC Press, Lyon 2000; 103–19.
67. Han J.P., Hong S.J., Kim H.K. Long-term outcomes of early gastric cancer diagnosed as mixed adenocarcinoma after endoscopic submucosal dissection. *J Gastroenterol Hepatol*. 2015 Feb; 30 (2): 316–20.
68. Han S., Hsu A., Wassef W.Y. An update in the endoscopic management of gastric cancer. *Curr Opin Gastroenterol*. 2016; 32 (6): 492–500
69. Hannah H. Wong, Peiguo Chu. Immunohistochemical features of the gastrointestinal tract tumors//*J Gastrointest Oncol* 2012;3(3):262-284 8-1
70. Hasuike N., Ono H., Boku N., Mizusawa J., Takizawa K., Fukuda H., Oda I., Doyama H., Kaneko K., Hori S., Iishi H., Kurokawa Y., Muto M., Gastrointestinal Endoscopy Group of Japan Clinical Oncology Group (JCOG-GIESG). A non-randomized confirmatory trial of an expanded indication for endoscopic submucosal dissection for intestinal-type gastric cancer (cT1a): the Japan Clinical Oncology Group study (JCOG0607). *Gastric Cancer*. 2017 Feb 21.
71. Haekyama M. *Helicobacter pylori* CagA and gastric cancer: a paradigm for hit-and-run carcinogenesis. *Cell Host Microbe* 2014; 15 (3): 306–16 8-1
72. Hatta W, Gotoda T, Oyama T, Kawata N, Takahashi A, Yoshifuku Y, Hoteya S, Nakagawa M, Hirano M, Esaki M, Matsuda M, Ohnita K, Yamanouchi K, Yoshida M, Dohi O, Takada J, Tanaka K, Yamada S, Tsuji T, Ito H, Hayashi Y, Nakaya N, Nakamura T, Shimosegawa T. A Scoring System to Stratify Curability after Endoscopic Submucosal Dissection for Early Gastric Cancer: "eCura system". *Am J Gastroenterol*. 2017 Jun;112(6):874-881.

73. Ho SB , Shekels LL, Toribara NW, Kim YS, Lyftogt C, Cherwitz DL, Niehans GA. Mucin gene expression in normal, preneoplastic and neoplastic human gastric epithelium. *Cancer Res* 1995; 55:2681-2690.
74. Huang Q., Fang C., Shi J., Sun Q., Wu H., Gold J.S., Weber H.C., Guan W., Zhang Y., Yu C., Zou X., Mashimo H. Differences in Clinicopathology of Early Gastric Carcinoma between Proximal and Distal Location in 438 Chinese Patients. *Sci Rep*. 2015; 5: 13439.
75. Huang Q., Zou X. Clinicopathology of Early Gastric Carcinoma: An Update for Pathologists and Gastroenterologists. *Gastrointest Tumors*. 2017; 3 (3–4): 115–124.
76. Huang WB, Shi LH, Zhu XQ, Zhu XQ, Xu GX and Qi Q: Expression of mucin MUC1 and MUC2 in colorectal carcinoma and their clinical significance. *Ai Zheng* 21: 1231-1234, 2002.
77. Huh C.W., Jung D.H., Kim H., Kim H., Youn Y.H., Park H., Kim J.W., Choi S.H., Noh S.H., Kim J.H. Clinicopathologic features of gastric carcinoma with lymphoid stroma in early gastric cancer. *J Surg Oncol*. 2016; 114 (6): 769–772.
78. Hwang C.S., Ahn S., Lee B.E., Lee S.J., Kim A., Choi C.I., Kim D.H., Jeon T.Y., Kim G.H., Song G.A., Park D.Y. Risk of lymph node metastasis in mixed-type early gastric cancer determined by the extent of the poorly differentiated component. *World J. Gastroenterol*. 2016; 22(15): 4020–6.
79. Imamura T., Komatsu S., Ichikawa D., Kawaguchi T., Kosuga T., Okamoto K., Konishi H., Shiozaki A., Fujiwara H., Otsuji E. Early signet ring cell carcinoma of the stomach is related to favorable prognosis and low incidence of lymph node metastasis. *J Surg Oncol*. 2016; 114 (5): 607–612.
80. Isozaki H., Okajima K., Ichiinona T., Fujii K., Nomura E., Izumi N., Ohyama T. Distant lymph node metastasis of early gastric cancer. *Surg. Today*. 1997; 27 (7): 600–605.

81. Jae Kyu Sung Diagnosis and management of gastric dysplasia. Korean J Intern Med. 2016; 31:201-209.
82. Janjigian YY, Werner D, Pauligk C, et al Prognosis of metastatic gastric and gastroesophageal junction cancer by HER2 status: a European and USA International collaborative analysis. Ann Oncol. 2012; 23(10):2656-62.
83. Japanese classification of gastric carcinoma: 2nd English edition. Japanese Gastric Cancer Association. Gastric Cancer. 1998/ 1:10-24.
84. Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition. Japanese Gastric Cancer Associated. Gastric Cancer. 2011/ 14:101-112.
85. Japanese Gastric Cancer Association. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2014 (ver. 4). Gastric Cancer. 2017; 20 (1): 1–19.
86. Jass JR A classification of gastric dysplasia. Histopathology 1983; 7:181.
87. James D. Brierly, Mary K. Gospodarowicz, Christian Wittekind TNM Classification of Malignant Tumors. Eighth Edition. Union for International Cancer Control. 2018
88. Kajitani T. The general rules for the gastric cancer study in surgery and pathology. Jpn J Surg. 1981 Mar; 11 (2): 127–39.
89. Kim SM, Kwon CH, Shin N, Park do Y, Moon HJ, Kim GH, Jeon TY. Decreased Muc5AC expression is associated with poor prognosis in gastric cancer. Int J Cancer 2014; 134: 114-124.
90. Kim Y.H., Park J.H., Park C.K., Kim J.H., Lee S.K., Lee Y.C., Noh S.H., Kim H. Histologic purity of signet ring cell carcinoma is a favorable risk factor for lymph node metastasis in poorly cohesive, submucosa-invasive early gastric carcinoma. Gastric Cancer. 2017 Jul; 20 (4): 583–590.
91. Kim Y.H., Kim J.H., Kim H., Kim H., Lee Y.C., Lee S.K., Shin S.K., Park J.C., Chung H.S., Park J.J., Youn Y.H., Park H., Noh S.H., Choi S.H. Is the recent WHO histological classification for gastric cancer helpful for

- application to endoscopic resection? *Gastric Cancer*. 2016 Jul; 19 (3): 869–75.
92. Kim YS, Gum JR. Diversity of mucin genes, structure, function, and Expression. *Gastroenterology* 1995;109: 999-1001.
 93. Kocer B, Soran A, Kiyak G, Erdogan S, Eroglu A, Bozkurt B, Solak C, Cengiz O. Prognostic significance of mucin expression in gastric carcinoma. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 954-964.
 94. Kodama Y., Inokuchi K., Soejima K., Matsusaka T., Okamura T. Growth patterns and prognosis in early gastric carcinoma. Superficially spreading and penetrating growth types. *Cancer*. 1983; 51 (2):320–6.
 95. Kufe DW. Mucins in cancer: function, prognosis and therapy. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 874-885.
 96. Lambert R. Participants in the Paris Workshop. The Paris endoscopic classification of superficial neoplastic lesions: esophagus, stomach, and colon: November 30 to December 1, 2002. *Gastrointest. Endosc.* 2003; 58 (6 Suppl): S3–43.
 97. Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand*. 1965; 64: 31–49.
 98. Lauwers GY, Shimizu M, Correa P et al. Evaluation of gastric biopsies for neoplasia: differences between Japanese and Western pathologists. *Am J Surg Pathol* 1999; 23: 511–518.
 99. Lee H.J., Kim G.H., Park D.Y., Lee B.E., Jeon H.K., Jhi J.H., Song G.A. Is endoscopic submucosal dissection safe for papillary adenocarcinoma of the stomach? *World J. Gastroenterol.* 2015; 21 (13): 3944–3952.
 100. Lee HS, Lee HK, Kim HS, Yang HK, Kim YI and Kim WH: MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6 expressions in gastric carcinomas: their roles as prognostic indicators. *Cancer* 92:1427-1434, 2001.

101. Lee I.S., Lee S., Park Y.S., Gong C.S., Yook J.H., Kim B.S. Applicability of endoscopic submucosal dissection for undifferentiated early gastric cancer: Mixed histology of poorly differentiated adenocarcinoma and signet ring cell carcinoma is a worse predictive factor of nodal metastasis. *SurgOncol*. 2017; 26 (1): 8–12.
102. Lee J.H., Choi I.J., Kook M.C., Nam B.H., Kim Y.W., Ryu K.W. Risk factors for lymph node metastasis in patients with early gastric cancer and signet ring cell histology. *Br J Surg*. 2010 May; 97(5):732–6.
103. Lee J.H., Min Y.W., Lee J.H., Kim E.R., Lee H., Min B.H., Kim J.J., Jang K.T., Kim K.M., Park C.K. Diagnostic group classifications of gastric neoplasms by endoscopic resection criteria before and after treatment: real-world experience. *Surg Endosc*. 2016; 30(9): 3987–93.
104. Levi E, Klimstra DS, Andea A, Basturk O and Adsay NV: MUC1 and MUC2 in pancreatic neoplasia. *J Clin Pathol* 57: 456-462, 2004.
105. Lewin K.J., Appelman H.D. Morphological variants of gastric adenocarcinoma. *Tumors Esophagus Stomach. Armed Forces Inst. Pathol. Wash. DC*. 1996; 313–317.
106. Li-Jun Xiao, Shuang Zhao, En-Hong Zhao, Xin Zheng, Wen-Feng Gou, Ya-Nan Xing, Yasuo Takano, Hua-Chuan Zheng. Clinicopathological and Prognostic Significance of MUC-2, MUC-4 and MUC-5AC Expression in Japanese Gastric Carcinomas. doi.org/10.7314/APJCP.2012.13.12.6447.
107. Lim J.H., Kim S.G., Choi J., Im J.P., Kim J.S., Jung H.C. Risk factors for synchronous or metachronous tumor development after endoscopic resection of gastric neoplasms. *Gastric Cancer*. 2015; 18 (4): 817–823.
108. Lim H., Lee I.S., Lee J.H., Park Y.S., Kang H.J., Na H.K., Ahn J.Y., Kim D.H., Choi K.D., Song H.J., Lee G.H., Jung H.Y., Kim J.H., Kim B.S., Yook J.H., Kim B.S. Clinical application of early gastric carcinoma

- with lymphoid stroma based on lymph node metastasis status. *Gastric Cancer*. 2017 Feb 15.
109. Margaritescu Cl., Mogoanta L., Manescu P., Cristiana Simonescu, Pirici D., Letitia Streba, Mercut D. The immunohistochemical profile of the adenocarcinoma of upper gastric pole// *Romanian Journal of Morphology and Embryology* 2007; 48(3):215–235.
 110. Matsusaka S, Kobunai T, Yamamoto N, et al. Prognostic impact of KRAS mutant type and MET amplification in metastatic and recurrent gastric cancer patients treated with first-line S-1 plus cisplatin chemotherapy. *Genes Cancer*. 2016; 7(1-2):27-35.
 111. M F Dixon Gastrointestinal epithelial neoplasia: Vienna revisited. *Gut* 2002;51:130–131
 112. Min Jong Lee B.S., Hye Seung Lee M.D., Woo Ho Kim M.D., Yunhee Choi Ph.D. and Mihi Yang Ph.D. Expression of Mucins and Cytokeratins in Primary Carcinomas of the Digestive System // *Mod Pathol* 2003;16(5):403–410.
 113. Min Jung Jo, Ji Yeon Park, Joon Seon Song, Myeong-Cherl Kook at all. Biopathologic features and clinical significance of micrometastasis in the lymph node of early gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2015; 21(2): 667-674.
 114. Ming S.C. Gastric carcinoma. A pathobiological classification. *Cancer*. 1977; 39 (6): 2475–2485.
 115. Moll R: Cytokeratins in the histological diagnosis of malignant tumors. *Int J Biol Markers* 1994; 9:63–69.
 116. Moll R , Lowe A, Laufer J, Franke W W: Cytokeratin 20 in human carcinomas. A new histodiagnostic marker detected by monoclonal antibodies. *Am J Pathol* 1992; 140:427–447.

117. Monahan K.J., Hopkins L. Diagnosis and Management of Hereditary Gastric Cancer. *Recent Results Cancer Res.* 2016; 205: 45–60.
118. Morson and Dawson`s gastrointestinal pathology. -5th. / edited by Neil A. Shepherd, Bryan F. Warren, Geraint T. Williams, Joel K. Greenson, Gregory Y. Lauwers and Marco R. Novelli.
119. Murakami T., Iwanami E., Yasui A., Watanabe H., Chai S. The newest problems in the diagnosis of early stomach cancer. *Rinsho Geka.* 1962 May; 17: 321–30.
120. Nakamura T., Yao T., Kakeji Y., Anai H., Morita M., Oda Y., Maehara Y. Depressed type of intramucosal differentiated-type gastric cancer has high cell proliferation and reduced apoptosis compared with the elevated type. *Gastric Cancer.* 2013; 16 (1): 94–9.
121. Nardone G., Rocco A., Malfertheiner P. Review article: *Helicobacter pylori* and molecular events in precancerous gastric lesion // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2004; 20:261-270.
122. Neil A. Shepherd, Bryan F. Warren, Geraint T. Williams, Joel K. Greenson, Gregory Y. Lauwers, Marco R. Novelli Morson and Dawson`s *Gastrointestinal Pathology.* 5th Edition. 2013
123. Nogueira C., Silva A.S., Santos J.N. Early Gastric Cancer: Ten years of Experience // *World J. Surg.* 2002; 26 (Suppl. 3):330-334.
124. Nordman H, Davies JR, Lindell G, Carlstedt I. Human gastric mucins- -a major population identified as MUC5. *Biochem Soc Trans* 1995; 23:533.
125. Odze RD, Riddell RH, Bosman FT et al. (ed.) Premalignant lesions of the digestive system. In: Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND (ed) *WHO Classification of Tumours of the Digestive System.* 4: edn. Lyon: IARC Press; 2010.
126. Ohara Y., Toshikuni N., Matsueda K., Mouri H., Yamamoto H. The superficial elevated and depressed lesion type is an independent factor

- associated with non-curative endoscopic submucosal dissection for early gastric cancer. *Surg Endosc.* 2016; 30 (11): 4880–88.
127. Pandey R, Misra V, Misra SP et al. *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2010; 11 (3): 583–8.
 128. Pandey R, Kharbanda S and Kufe D: Association of the DF3/MUC1 breast cancer antigen with Grb2 and the Sos/Ras exchange protein. *Cancer Res.* 1995; 55: 4000-4003.
 129. Park do Y, Srivastana A, Kim GH, et al. Adematous and foveolar gastric dysplasia: distinct patterns of mucin expression and background intestinal metaplasia. *Am J Surg Pathol* 2008; 32:524.
 130. Park do Y, Srivastana A, Kim GH, et al. CDX2 expression in the intestinal-type gastric epithelial neoplasia: frequency and significance. *Mod Pathol* 2010; 23:54.
 131. Park H.K., Lee K.Y., Yoo M.W., Hwang T.S., Han H.S. Mixed Carcinoma as an Independent Prognostic Factor in Submucosal Invasive Gastric Carcinoma. *J Korean Med Sci.* 2016; 31 (6): 866–72.
 132. Park K., Jang G., Baek S., Song H. Usefulness of combined PET/CT to assess regional lymph node involvement in gastric cancer. *Tumori.* 2014; 100 (2): 201–6.
 133. Park J.H., Lee S.H., Park J.M., Park C.S., Park K.S., Kim E.S., Cho K.B. Prediction of the indication criteria for endoscopic resection of early gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2015 Oct 21; 21 (39): 11160–7.
 134. Park SY, Jeon SW, Jung MK et al. Long-term follow-up study of gastric intraepithelial neoplasias: progression from low-grade dysplasia to invasive carcinoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20: 966–970.
 135. Park Y.M., Cho E., Kang H.Y., Kim J.M. The effectiveness and safety of endoscopic submucosal dissection compared with endoscopic mucosal

- resection for early gastric cancer: a systematic review and metaanalysis. *Surg Endosc*. 2011 Aug; 25 (8): 2666–77.
136. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System Edited by Stanley R. Hamilton Lauri A. Aaltonen. Pathology Study Group. *Endoscopy*. 1993; 25 (4): 265–268.
 137. Peng Wang, Qiao Shi, Wen-Hong Deng, Jia Yu at all. Relationship between expression of NADPN oxidase 2 and invasion and prognosis of human gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2015; 21(20): 6271-6279.
 138. Pyo J.H., Ahn S., Lee H., Min B.H., Lee J.H., Shim S.G., Choi M.G., Lee J.H., Sohn T.S., Bae J.M., Kim K.M., Yeon S., Jung S.H., Kim J.J., Kim S. Clinicopathological Features and Prognosis of Mixed-Type T1a Gastric Cancer Based on Lauren's Classification. *Ann Surg Oncol*. 2016 Dec; 23 (Suppl 5): 784–91.
 139. Pyo J.H., Lee H., Min B.H., Lee J.H., Choi M.G., Lee J.H., Sohn T.S., Bae J.M., Kim K.M., Yeon S., Jung S.H., Kim J.J., Kim S. Early gastric cancer with a mixed-type Lauren classification is more aggressive and exhibits greater lymph node metastasis. *J Gastroenterol*. 2017; 52 (5):594–601.
 140. Rakha EA, Boyce RW, Abd El-Rehim D, Kurien T, Green AR, Paish EC, Robertson JF and Ellis IO: Expression of mucins (MUC1, MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC and MUC6) and their prognostic significance in human breast cancer. *Mod Pathol* 18: 1295-1304, 2005.
 141. Reis CA , David L, Correa P, Carneiro F, de Bolós C, Garcia E, Mandel U, Clausen H, Sobrinho-Simões M. Intestinal metaplasia of human stomach displays distinct patterns of mucin (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) expression. *Cancer Res* 1999; 59: 1003-1007.

142. Reis CA, David L, Nielsen PA, Clausen H, Mirgorodskaya K, Roepstorff P, Sobrinho-Simões M. Immunohistochemical study of MUC5AC expression in human gastric carcinomas using a novel monoclonal antibody. *Int J Cancer* 1997; 74: 112-121.
143. Rugge M, Farinati F, Di Mario F, et al. Gastric epithelial dysplasia: a prospective multicenter follow-up study from the interdisciplinary group on gastric epithelial dysplasia. *Hum Pathol* 1991;22:1002–8.
144. Rugge M, Nitti D, Farinati F, di Mario F, Genta RM. Non-invasive neoplasia of the stomach. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005;17:1191-1196.
145. Ryu D.G., Choi C.W., Kang D.H., Kim H.W., Park S.B., Kim S.J., Nam H.S. Clinical outcomes of endoscopic submucosa dissection for highgrade dysplasia from endoscopic forceps biopsy. *Gastric Cancer*. 2017 Jul; 20 (4): 671–678.
146. Saraga E-P, Gardiol D, Costa J. Gastric dysplasia. A histologic follow-up study. *Am J Surg Pathol* 1987;11:788–96.
147. Saragoni L., Gaudio M., Morgagni P., Folli S., Vio A., Scarpi E., Saragoni A. The role of growth patterns, according to Kodama's classification, and lymph node status, as important prognostic factors in early gastric cancer: analysis of 412 cases. *Gastric Cancer*. 2000; 3 (3):134–140.
148. Saragoni L., Morgagni P., Gardini A., Marfisi C., Vittimberga G., Garcea D., Scarpi E. Early gastric cancer: diagnosis, staging, and clinical impact. Evaluation of 530 patients. New elements for an updated definition and classification. *Gastric Cancer*. 2013; 16 (4): 549–54.
149. Schlemper RJ, Itabashi M, Kato Y, et al. Differences in diagnostic criteria for gastric carcinoma between Japanese and western pathologists. *Lancet* 1997; 349:1725-1729.

150. Schwerer MJ, Baczako K: Expression of cytokeratins typical for ductal and squamous differentiation in the human stomach: an immunohistochemical study of normal foveolar epithelium, *Helicobacter pylori* gastritis and intestinal metaplasia. *Histopathology* 1996; 29: 131–137.
151. Sekiguchi M., Oda I., Taniguchi H., Suzuki H., Morita S., Fukagawa T., Sekine S., Kushima R., Katai H. Risk stratification and predictive risk-scoring model for lymph node metastasis in early gastric cancer. *J. Gastroenterol.* 2016; 51 (10): 961–970.
152. Shim C.N., Chung H., Park J.C., Lee H., Shin S.K., Lee S.K., Lee Y.C. Early gastric cancer with mixed histology predominantly of differentiated type is a distinct subtype with different therapeutic outcomes of endoscopic resection. *Surg Endosc.* 2015 Jul; 29 (7): 1787–94.
153. Shin D.H., Kim G.H., Lee B.E., Lee J.W., Ha D.W., Jeon H.K., Baek D.H., Song G.A., Ahn S.J., Park D.Y. Clinicopathologic features of early gastric carcinoma with lymphoid stroma and feasibility of endoscopic submucosal dissection. *Surg Endosc.* 2017.
154. Shin Kono, Takuji Gotoda, Shigeaki Yoshida, Ichiro Oda, Hitoshi Kondo, Luigi Gatta, Greg Naylor, Michael Dixon, Fuminori Moriyasu, Anthony Axon. Can endoscopic atrophy predict histological atrophy? Historical study in United Kingdom and Japan. *World J Gastroenterol.* 2015 December 14; 21(46): 13113-13123
155. Siddavaram Nagini. Carcinoma of the stomach: A review of epidemiology, pathogenesis, molecular genetics and chemoprevention. *World J of Gastrointestinal Oncology.* 2012; 4(7): 156-169.

156. Stolte M The new Vienna classification of epithelial neoplasia of the gastrointestinal tract: advantages and disadvantages. 2003. *Virchows Arch.* 442(2): 99-106.
157. Suh YS, Lee HJ, Jung EJ, Kim MA, Nam KT, Goldenring JR, Yang HK, Kim WH. The combined expression of metaplasia biomarkers predicts the prognosis of gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2012; 1240-1249.
158. Sumiyama K. Past and current trends in endoscopic diagnosis for early stage gastric cancer in Japan. *Gastric Cancer.* 2017; 20 (S1): 20–27.
159. Tan D., Lauwers G. *Gastric Cancer.* Lippincott Williams & Wilkins. 2011; 348.
160. Tanabe S., Hirabayashi S., Oda I., Ono H., Nashimoto A., Isobe Y., Nunobe S. Gastric cancer treated by endoscopic submucosal dissection or endoscopic mucosal resection in Japan from 2004 through 2006: JGCA nationwide registry conducted in 2013. *Gastric Cancer.* 2017.
161. Tanaka S, Mizuno M, Maga T, Yoshinaga F, Tomoda J, Nasu J, Okada H, Yokota K, Oguma K, Shiratori Y, Tsuji T. H. pylori decreases gastric mucin synthesis via inhibition of galactosyltransferase. *Hepatogastroenterology* 2003; 50: 1739-1742.
162. Tetsuo Ushiku, Thomas Arnason, Shinichi Ban, Tsunekazu Hishima, 25-1 Michio Shimizu, Masashi Fukayama and Gregory Y Lauwers Very well-differentiated gastric carcinoma of intestinal type: analysis of diagnostic criteria. *Modern Pathology.* 2013; 26:1620–1631.
163. The Paris endoscopic classification of superficial neoplastic lesions: esophagus, stomach, and colon. Participants in the Paris Workshop. Paris, France. Nov.30 – Dec.1, 2002
164. Verma M, Davidson EA. Mucin genes: structure, expression and regulation. *Glycoconj J* 1994; 11: 172-179.

165. Vries AC, Haringsma J, Kuipers EJ. The detection, surveillance and treatment of premalignant gastric lesions related to *Helicobacter pylori* infection. The Authors Journal compilation. Blackwell Publishing Ltd. *Helicobacter*. 2007; 12:1-15.
166. Wang JY, Chang CT, Hsieh JS, Lee LW, Huang TJ, Chai CY and Lin SR: Role of MUC1 and MUC5AC expressions as prognostic indicators in gastric carcinomas. *J Surg Oncol*. 2003; 83:253-260.
167. Wang RQ and Fang DC: Alterations of MUC1 and MUC3 expression in gastric carcinoma: relevance to patient clinicopathological features. *J Clin Pathol*. 2003; 56: 378-384.
168. Whiting JL, Sigurdsson A, Rowlands DC et al. The long term results of endoscopic surveillance of premalignant gastric lesions. *Gut* 2002; 50: 378–381.
169. Wroblewski LE, Peek RM Jr. *Helicobacter pylori* in gastric carcinogenesis mechanisms. *Gastroenterol Clin N Am* 2013; 42: 285–98.
170. Wreschner DH, McGuckin MA, Williams SJ, Baruch A, Yoeli M, Ziv R, Okun L, Zaretsky J, Smorodinsky N, Keydar I, Neophytou P, Stacey M, Lin HH and Gordon S: Generation of ligand-receptor alliances by "SEA" module-mediated cleavage of membrane-associated mucin proteins. *Protein Sci*. 2002; 11:698-706.
171. Xiao-Han Li, Hua-Chuan Zheng, Zhi-Gang Wang, Hiroyuki Takahashi, Xiang-Hong Yang, Yi-Fu Guan and Yasuo Takano. The Clinicopathological and Prognostic Significance of MUC-1 Expression in Japanese Gastric Carcinomas: An Immunohistochemical Study of Tissue Microarrays. *Anticancer Research*. 2008; 28:1061-1068.
172. Yakirevich E, Resnick MB. Pathology of gastric cancer and its precursor lesions. *Gastroenterol Clin North Am* 2013;42:261-284.

173. Yamada H, Ikegami M, Shimoda T et al. Long-term follow-up study of gastric adenoma/dysplasia. *Endoscopy* 2004; 36:390–396.
174. Yamamoto M, Bharti A, Li Y and Kufe D: Interaction of the DF3/MUC1 breast carcinoma- associated antigen and betacatenin in cell adhesion. *J Biol Chem.* 1997; 272:12492-12494.
175. Yoo C.H., Park S.J., Park M.I., Moon W., Kim H.H., Lee J.S., Song J.Y., Jang H.K. Submucosal tumor-like early-stage mucinous gastric carcinoma: a case study. *Korean J Gastroenterol.* 2013; 62(2):122–5.
176. Yoshimori M. The natural history of early gastric cancer. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 1989; 19 (2): 89–93.
177. Yu LG, Andrews N, Zhao Q, McKean D, Williams JF, Connor LJ, Gerasimenko OV, Hilkens J, Hirabayashi J, Kasai K and Rhodes JM: Galectin-3 interaction with Thomsen-Friedenreich disaccharide on cancer-associated MUC1 causes increased cancer cell endothelial adhesion. *J Biol Chem* 2007; 282:773-781.
178. Yuan-fang Li, Dan-dan Wang, Bai-wei Zhao, Wei Wang at all. High Level of COPI Expression is Associated with Poor Prognosis in Primary Gastric Cancer. *Int J Biological Sciences* 2012; 8(8): 1168-1177.
179. Zhao B.W., Chen Y.M., Jiang S.S., Chen Y.B., Zhou Z.W., Li Y.F. Lymph Node Metastasis, a Unique Independent Prognostic Factor in Early Gastric Cancer. *PLoS One.* 2015; 10 (7).
180. Zheng H., Takahashi H. Pathobiological characteristics of intestinal and diffuse-type gastric carcinoma in Japan: an immunostaining study on the tissue microarray // *J. Clin. Pathol.* 2007; 60:273-277.
181. Zheng H, Takahashi H, Nakajima T, Murai Y, Cui Z, Nomoto K, Tsuneyama K and Takano Y: MUC6 down-regulation correlates with gastric carcinoma progression and a poor prognosis: an immunohistochemical study with tissue microarrays. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2006;132:817-823.