

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МОРФОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА»**

На правах рукописи

Сетдикова Галя Равиловна

**МОРФОГЕНЕЗ И ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА АМПУЛЯРНЫХ И
ПЕРИАМПУЛЯРНЫХ КАРЦИНОМ ГЕПАТО-ПАНКРЕАТОДУОДЕНАЛЬНОЙ
ЗОНЫ**

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

по специальности

14.03.02 – патологическая анатомия

Москва 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт морфологии человека»

Научный консультант:

доктор медицинских наук
Зав. патологоанатомическим отделением
Городской клинической больницы им. С.П. Боткина
Департамента здравоохранения г. Москвы

О.В. Паклина

Официальные оппоненты:

Вторушин Сергей Владимирович - доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии Сибирского государственного медицинского университета. Заведующий отделением патологической анатомии клиник. (Томск)

Раскин Григорий Александрович - доктор медицинских наук, руководитель отдела патологической анатомии Российского научного центра радиологии и хирургических технологий им академика А.М. Гранова (Санкт-Петербург)

Непомнящая Евгения Марковна - доктор медицинских наук, профессор, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения ФГБУ Ростовского научно-исследовательского онкологического института МЗ Российской Федерации (Ростов-на-Дону)

Ведущее учреждение: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России.

Защита диссертации состоится «__» _____ 2019 г. в ____ часов

на заседании диссертационного совета (Д 001.004.01) при ФГБНУ «Научно-исследовательского института морфологии человека» по адресу: 117418 Москва, ул. Цюрупы, д.3

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «НИИ морфологии человека» или на сайте www.morfolhum.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2019г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Л.П. Михайлова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы Протоковая система поджелудочной железы (ПЖ) состоит из основных коллекторов - главного и добавочного выводных протоков и открывающихся в них протоков первого порядка, которые образуются из протоков меньшего калибра [Паклина О.В. 2013]. В 85-90% случаев главный панкреатический проток сливается с общим желчным протоком, образуя ампулу большого дуоденального сосочка двенадцатиперстной кишки. Опухоли протоковой системы разделяют на ампулярные и периапулярные. Ампулярные карциномы впервые выделены как отдельная нозологическая единица в ВОЗ-классификации 2010 г. и звучат как опухоли ампулярной области [Bosman F.T. 2010]. Термин «периапулярные карциномы» довольно широк и объединяет карциномы нескольких анатомических локализаций – малый дуоденальный сосочек, головка поджелудочной железы, дистальная часть общего желчного протока и внутрипротоковые повреждения головки поджелудочной железы. К внутрипротоковым отнесены все неопластические повреждения протокового дерева поджелудочной железы вне ампулярной области.

Проблема рака ампулярной и периапулярной локализации приобрела на сегодняшний день особую актуальность вследствие неуклонного роста заболеваемости и смертности, а также в связи с трудностями дифференциальной диагностики как на дооперационном этапе, так и при морфологическом исследовании. Актуальной остается проблема «замены/подмены» понятий «ампулярных и периапулярных карцином» из-за их близкой анатомической локализации. Несмотря на имеющееся четкое определение ампулярной карциномы, в отечественной литературе данные опухоли зачастую встречаются под термином «рак большого дуоденального сосочка», заведомо сужая «морфологические границы» ампулярной карциномы, не раскрывая морфогенеза данной опухоли.

Ампулярная область образована большим дуоденальным сосочком, его боковыми поверхностями со стороны двенадцатиперстной кишки и интерстициальной частью общего желчного протока и и/или интерстициальной частью главного панкреатического протока. Морфогенез ампулярной карциномы сложен и до конца не раскрыт, так как данные опухоли развиваются из нескольких типов эпителия: кишечный, панкреатобилиарный и гибридный тип, в отличие от протоковой аденокарциномы поджелудочной железы, которая развивается только из эпителия панкреатобилиарного типа. Морфогенез ампулярных и периапулярных карцином достаточно длительный процесс, который, проявляется четкими морфологическими изменениями от нормальных клеток к опухолевым. Неопластические повреждения протоковой системы поджелудочной железы были признаны давно, однако, изучение этих поражений было затруднено из-за отсутствия универсальной классификации.

Ампулярная карцинома составляет 0,5% от всех злокачественных опухолей ЖКТ [Bosman F.T., 2010]. По сравнению с протоковой аденокарциномой поджелудочной железы ампулярная карцинома обладает достоверно высокими показателями 5-летней выживаемости (до 70%), высокой радикальностью при резекциях (R-статус) и более низкой частотой рецидивов [Adsay V. 2012], что может быть связано с особенностями в гистогенезе ампулярной области. Фундаментальные вопросы морфогенеза ампулярной карциномы чрезвычайно важны для прогнозирования заболевания и применения таргетных препаратов согласно фенотипу опухоли. Вопросы корректного иммунофенотипирования опухоли остаются до сих пор дискуссионными и до конца нерешенными. В настоящее время иммунофенотипирование злокачественных опухолей базируется на основе экспрессии опухолевыми клетками цитокератинов 7 и 20

(панкреатобилиарный и кишечный тип, соответственно) [Daabs D. 2014]. Однако, учитывая высокую плотность распределения цитокератиновых рецепторов на поверхности эпителиальных опухолевых клеток, довольно часто присутствует коэкспрессия данных цитокератинов в одной опухоли, что затрудняет интерпретацию результатов. Соответственно, это диктует поиск новых маркеров иммунофенотипирования.

Свыше 95% всех опухолей периапулярной зоны приходятся на протоковую аденокарциному поджелудочной железы [Bosman F.T., 2010]. Карциномы дистального отдела общего желчного протока и малого сосочка двенадцатиперстной кишки представляют собой небольшую группу. Низкая частота распространения данных карцином отчасти объясняется неадекватной диссекцией и отсутствием стандартизированного, как макроскопического, так и микроскопического исследования резецированного органокомплекса.

Протоковый рак поджелудочной железы входит в 4ку карцином с наименьшей пятилетней выживаемостью. Пятилетняя выживаемость больных протоковым раком поджелудочной железы (ПЖ) не превышает 5% и эта цифра остается неизменной в течение последних десятилетий [Stathis, A 2010]. Даже радикальный характер проведенной операции, по данным патологоанатомического исследования, при протоковом раке поджелудочной железы, как правило, не исключает прогрессирования заболевания в ближайшее время [Лядов В.К. 2010]. Существующие химиотерапевтические режимы при распространенном раке поджелудочной железы ограничены, а гемцитабин пока является единственным признанным химиотерапевтическим препаратом для пациентов с прогрессирующим заболеванием в течение последних нескольких лет [C. Verslype 2006].

Из внутрипротоковых опухолей лидирующее место занимает внутрипротоковые папиллярные муцинозные опухоли (ВПМО) ПЖ. Как правило, это опухоли с вовлечением в неопластический процесс главного панкреатического протока и/или его ветвей, характеризующиеся макроскопически видимой продукцией муцина [Паклина О.В. 2013]. Термин «инвазивная ВПМО» из предшествующей классификации был заменен на «ВПМО в сочетании с инвазивной карциномой» [Carr R.A., 2017]. ВПМО чаще встречается у мужчин (М:Ж=3:1), возраст варьирует в пределах от 30 до 94 лет (средний - 63 года).

Резецированный органокомплекс после панкреатодуоденальной резекции представлен двенадцатиперстной кишкой (ДПК), частью общего желчного протока, начальным отделом тощей кишки и головкой поджелудочной железы, при ГПДР органокомплекс включает еще и антральный отдел желудка [Verbeke C.S 2013]. В связи с развитием и увеличением количества хирургических вмешательств на поджелудочной железе панкреатодуоденальный комплекс (ПДК) все чаще доставляют в патологоанатомические отделения для морфологического исследования. При этом четкие критерии диссекции органокомплекса при неопластических повреждениях протоковой системы отсутствуют, за исключением работ по диссекции при АК и ПАК поджелудочной железы [Паклина О.В. 2013]. Поэтому, внедрение алгоритма морфологического исследования резецированного органокомплекса позволит правильно оценить результаты хирургического лечения.

Таким образом, неременным залогом успешной диагностики и лечения онкологических заболеваний, в том числе опухолей панкреатодуоденальной зоны, является раскрытие морфогенеза ампулярных и периапулярных карцином, что диктует необходимость более глубокого и детального изучения, как самих карцином, так и протоковой системы поджелудочной железы в целом.

Степень разработанности темы исследования. В современной гистологической классификации опухолей желудочно-кишечного тракта (ВОЗ, 2010) выделяют следующие

гистологические варианты протоковой карциномы: коллоидный рак, гепатоидная карцинома, медуллярная карцинома, перстневидноклеточная карцинома, недифференцированный (анапластический), недифференцированный рак с остеокластоподобными гигантскими клетками, а также смешанные формы [Cho S.H., 2005]. Недифференцированные раки ПЖ составляют 5% от всех гистологических вариантов ПАК.

Ампулярная карцинома (АК) или карцинома большого дуоденального сосочка (БДС) составляет 0,5% от всех злокачественных опухолей ЖКТ [Edge S.B., 2011.]. По сравнению с протоковой аденокарциномой поджелудочной железы АК характеризуется достоверно высокими показателями 5-летней выживаемости (до 70%), высокой радикальностью при резекциях (R-статус) и более низкой частотой рецидивов. В последней редакции гистологической классификации опухолей желудочно-кишечного тракта (ВОЗ, 2010) ампулярные карциномы разделены на интраампулярную, периапулярную дуоденальную, смешанно- экзофитную, смешанно-язвенную формы, что основано на типе роста и вовлечении ампулы и периапулярной зоны двенадцатиперстной кишки [Zhou H., 2004]. Позднее, в 2011 году V.Adsay предложил классификацию АК, основанную на взаимосвязи макро- и микроскопических данных на следующие формы: интраампулярную (ИА), ампулярно-протоковую (АП), ампулярно-двенадцатиперстную (АД) и ампулярную не классифицируемую, т.е. не относящуюся к первым трем карциномам [Adsay V., 2012]. Ампулярные карциномы, классифицируемые таким образом, отличаются по гистологическому типу, размеру опухолевого узла и прогнозу. Так, неблагоприятный прогноз отмечается у больных с ампулярно-протоковой карциномой, несмотря на их небольшой размер (3х летняя выживаемость – 32%). Гистологически классическая АК в 85-95% случаев представлена тубулярной формой роста. Различают два гистологических варианта ампулярных карцином в зависимости от различий в экспрессии муцинов и цитокератинов [Hruban, R.H., 2007]: 1. кишечный тип (КиТ) – карциномы, развивающиеся из кишечного эпителия, выстилающий БДС; 2. панкреато-билиарный тип (ПБТ) - карциномы, развивающийся из эпителия дистальных отделов общего желчного и главного панкреатического протока, открывающихся в БДС;

Гистологически кишечный тип АК представлен тубулярными или криброзными структурами, аналогичными при аденокарциномах толстой кишки. Панкреато-билиарный вариант инвазивной АК гистологически сходен с аналогичными вариантами карцином поджелудочной железы и желчных путей.

Операционный материал (органоконкомплекс) после панкреатодуоденальной резекции представлен двенадцатиперстной кишкой (ДПК), участком общего желчного протока, начальным участком тощей кишки и головкой поджелудочной железы, при гастро-панкреато-дуоденальных резекциях органоконкомплекс включает помимо вышеперечисленного еще и антральный отдел желудка [Verbeke, C.S. 2013]. В связи с развитием хирургии поджелудочной железы и увеличением количества данных операций, панкреатодуоденальный комплекс (ПДК) все чаще доставляют в патологоанатомические отделения для исследования. При этом, четкие критерии диссекции органоконкомплекса при неопластических повреждениях протоковой системы в настоящее время отсутствуют, за исключением работ по диссекции при АК и ПАК поджелудочной железы. Поэтому внедрение алгоритма морфологического исследования резецированного органоконкомплекса позволит правильно оценить результаты хирургического лечения.

Таким образом, согласно данным мировой литературы, заболеваемость ампулярными и периапулярными карциномами имеет в последние десятилетия отчетливую тенденцию к увеличению и «омоложению». Безусловно, отчасти это связано с развитием ранней (предоперационной) диагностики данных неопластических процессов. Несмотря на улучшение качества проводимого лечения выживаемость больных с

протоковым раком поджелудочной железы, который занимает лидирующее место по частоте встречаемости среди опухолей панкреатодуоденальной зоны, остается на низком уровне, так 5-летняя выживаемость не превышает 5%.

Очевидно, что неперенным залогом успешной диагностики и лечения онкологических заболеваний, в том числе опухолей панкреатодуоденальной зоны, является правильно обработанный операционный материал для дальнейшего гистологического исследования. Поскольку анатомически органы панкреатодуоденальной зоны располагаются близко друг к другу и гистологически опухоли имеют сходное строение, то для достоверной их диагностики и раскрытия их морфогенеза необходим унифицированный (стандартизированный) алгоритм морфологического исследования с подробным гистологическим протоколом.

Поскольку возрастает частота исследования морфологами толсто-игольных биоптатов при предоперационной диагностике неопластических процессов поджелудочной железы, необходимы четкие критерии дифференциальной диагностики между «головчатым» псевдотуморозным хроническим панкреатитом и периапулярными карциномами. Существующие критерии являются недостаточно четкими для достоверного выявления протокового рака поджелудочной железы, что обуславливает необходимость поиска новых, легко воспроизводимых и не требующих дополнительных затрат критериев. Очевидно, что данные признаки могут быть найдены на основании углубленного изучения большого количества как ретро-, так и проспективного операционного материала с последующим применением на толсто-игольных биоптатах и с определением их диагностической ценности и эффективности.

Продолжаются дискуссии по поводу лечебной тактики при АК и протоковом раке поджелудочной железы в зависимости от их иммунофенотипа - кишечного или панкреатобилиарного. Ряд химиотерапевтов-онкологов до настоящего времени считают возможным применения различных схем лечения для кишечного и панкреатобилиарного типов как при АК, так и при протоковой аденокарциноме поджелудочной железы, несмотря на существенные различия прогностических показателей. При этом недооценивается источник развития неопластических процессов при данных карциномах, что диктует необходимость более глубокого и детального изучения как самих карцином, так и протоковой системы поджелудочной железы в целом.

Цель исследования: определить морфогенез и разработать дифференциально-диагностический алгоритм исследования гастропанкреатодуоденального комплекса при ампулярных и периапулярных карциномах панкреато-дуоденальной зоны.

Для достижения указанной цели были определены следующие **задачи**.

Задачи исследования

1. Установить особенности эпителиального и стромального компонентов на основе морфологического и ультраструктурного анализа ампулярных и периапулярных карцином гепато-панкреатобилиарной зоны;
2. Оценить иммуногистохимическую экспрессию и определить чувствительность и специфичность цитокератинов 7, 20 и муцинов 1,2, 5АС типов в ампулярных и периапулярных карциномах для определения иммунофенотипа опухоли;
3. Дать сравнительную характеристику флуоресцентной гибридизации *in situ* гена МУС в ампулярных и периапулярных карциномах;
4. Выявить различия кишечного иммунофенотипа у больных ампулярной карциномой и протоковой аденокарциномой после проведенного хирургического лечения на основе изучения морфогенеза данных опухолей.
5. На основании подробного исследования операционного материала разработать клиничко-морфологические критерии дифференциальной диагностики

хронического панкреатита и протоковой аденокарциномы поджелудочной железы при исследовании толсто-игольных биоптатов.

6. Разработать алгоритм морфологического исследования гастропанкреатодуоденального комплекса на операционном материале, полученном при хирургических вмешательствах.

Научная новизна

Впервые показаны различия между фенотипом ампулярных и периапулярных карцином по наличию aberrаций гена MYS. Установлено, что aberrации гена MYS характерны только для периапулярных карцином с панкреато-билиарным иммунофенотипом, для которых свойственен более высокий злокачественный потенциал и низкая выживаемость, что позволяет использовать определение данного гена для дифференциальной диагностики ампулярных и периапулярных карциномах в сомнительных случаях.

Выявлены различия истинного кишечного иммунофенотипа при ампулярной карциноме и «неполной» кишечной метаплазии при протоковой аденокарциноме, что связано с локализацией данных новообразований, и позволяет осуществить более дифференцированный подход к лечению больных ампулярными карциномами и протоковым раком поджелудочной железы.

Показана биологическая значимость анапластического компонента при протоковом раке поджелудочной железы как проявление эпителиального-мезенхимального перехода с изменением фенотипических свойств опухолевых клеток. Клетки анапластического компонента, в отличие от железистых опухолевых структур протоковой аденокарциномы поджелудочной железы, диффузно экспрессируют виментин, p63, гладко-мышечный актин и очагово - цитокератин 7.

Разработаны дифференциально-диагностические критерии «головчатого» псевдотуморозного хронического панкреатита и периапулярных карцином, а именно протоковой аденокарциномы поджелудочной железы при изучении толсто-игольных биоптатов. Сложность дифференциальной диагностики новообразований поджелудочной железы при толсто-игольных биопсиях (core-biopsy), связана с ограниченностью поля исследования, выраженности фиброза железы (до 80% объема всего биоптата), который, как правило, хорошо развит как при хроническом панкреатите, так и при протоковой аденокарциноме поджелудочной железы. При проведении множественного регрессионного анализа выявлено, что достоверными признаками дифференциальной - диагностики хронического панкреатита и протоковой аденокарциномы являются: архитектура, форма желез, упорядоченность стромального компонента и наличие фигур митоза.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты исследования существенно уточняют и расширяют имеющиеся данные о морфогенезе ампулярных и периапулярных карцином. Проведенное исследование подтвердило необходимость выделения опухолей с анапластическим компонентом в отдельную группу, что позволит более дифференцированно подойти к лечению, поскольку у этой категории пациентов отмечено более раннее развитие локорегионарного рецидива. Анапластический компонент является проявлением эпителиального-мезенхимального перехода, который приводит к резистентности как к традиционной химиотерапии, так и к таргетной, но учитывая возможность обратного мезенхимально-

эпителиального перехода, возникают предпосылки для поиска таргетных препаратов, не только к раковым клеткам, но и к стромальному компоненту.

В результате комплексного морфологического исследования разработаны критерии дифференциальной диагностики при изучении толсто-игольных биоптатов хронического панкреатита и протоковой аденокарциномы поджелудочной железы, что позволит проводить корректную морфологическую диагностику при малом объеме диагностического материала.

Разработан стандартизированный (унифицированный) алгоритм и гистологический протокол детального морфологического исследования операционного материала резецированного гастро-панкреатодуоденального комплекса при злокачественных опухолях протоковой системы поджелудочной железы. Внедрение в повседневную патологоанатомическую практику унифицированного алгоритма исследования резецированного органокомплекса при злокачественных опухолях протоковой системы поджелудочной железы позволит достоверно оценить все прогностические факторы заболевания и прийти к объективному стандартизированному междисциплинарному консенсусу по данным нозологиям (при ампулярных карциномах, протоковой аденокарциномы поджелудочной железы, дистальной холангиокарциномы).

Разработанные протоколы детального гистологического заключения операционного материала при ампулярных и периапулярных карциномах могут быть использованы в практической работе патологоанатомов, хирургов и онкологов.

Положения, выносимые на защиту

1. Кишечный иммунофенотип ампулярных и периапулярных карцином, определяется по наличию экспрессии муцина 2 типа, но различается, как гистологически, так и по своему злокачественному потенциалу. Выявленные различия между истинным кишечным иммунофенотипом при ампулярной карциноме и «неполной» кишечной метаплазией при периапулярных карциномах связаны с морфогенезом данных новообразований.
2. Биологическая агрессивность периапулярных карцином обусловлена особенностями морфогенеза, а именно наличием анапластического компонента. Анапластический компонент при периапулярных карциномах, в частности протоковом раке поджелудочной железы, является отражением эпителиально-мезенхимального перехода в опухоли.
3. Последовательный (унифицированный) алгоритм патологоанатомического исследования резецированного гастро-панкреатодуоденального комплекса с соблюдением пошагового макроскопического и микроскопического анализа позволяет дифференцировать ампулярные и периапулярные карциномы, что влияет на дальнейшее прогнозирование и определения тактики лечение заболевания.

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 14.03.02–патологическая анатомия, согласно пунктам 1,2,3,5 и 6

Методология и методы исследования

Методологически работа заключалась в системном подходе и комплексном анализе научных трудов как отечественных, так и зарубежных авторов, связанные с изучением проблемы ампулярных и периапулярных карцином. В работе были использованы современные морфологические методы: иммуногистохимический, флуоресцентная

гибридизация *in situ*; электронная микроскопия, статистический анализ, что позволило выполнить поставленные цели и задачи.

Внедрение результатов в практику

Результаты исследования используются в работе патоморфологических отделов ряда лечебных учреждений г. Москвы: ГБУЗ Городской клинической больницы им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения г. Москвы, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А.В.Вишневского» Минздрава России, Первая Градская больница имени Н. И. Пирогова, ГБУЗ Московский Клинический Научный Центр имени А.С. Логинова ДЗМ.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов основывается на использовании достаточного объема материала, адекватных для поставленных задач современных методах исследования, статистическом анализе выявленных изменений.

Основные материалы диссертации были представлены на: Российско-германском форуме "Фундаментальные основы и новые технологии в лечении заболеваний поджелудочной железы» (2013); 41-й Научной сессии ЦНИИГ «Расширяя границы» (2012); Всероссийском симпозиуме молодых ученых «Современные проблемы хирургии и хирургической онкологии» (2012); конференциях «Заболевания ампулярной области» (2014), «Редкие опухоли желудочно-кишечного тракта» (2015); 25th, 26th, 27th, 28th European Congress of Pathology (2013, 2014, 2015, 2016, 2017); конференции с Международным участием «Современное состояние диагностики и лечения опухолей панкреатодуоденальной зоны» (2015); 1-м и 2-м Российском онкологическом научно-образовательном форуме с Международным участием «Белые Ночи - 2015, 2016» (Санкт-Петербург, 2015, 2016); 12th World Congress of the International Hepato-Pancreato-Biliary Association (2016); конференции «Pancreas 2016» (Глазго, Великобритания, 2016); III Всероссийской конференции молодых ученых «Современные проблемы хирургии и хирургической онкологии» (Москва, 2016); V съезде Российского общества патологоанатомов (Челябинск, 2017).

Личный вклад автора

Соискатель проводил разработку идеи работы, анализ литературных источников по данной проблеме, сформулировал цель и задачи. Самостоятельно выбрал методы исследования. По полученным результатам сформулировал научные и практические рекомендации. Подготовил публикации по теме выполненной работы.

Публикации по теме работы

По теме диссертации опубликовано 41 печатная работа, из них 21 в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук.

Получено 2 патента на изобретения.

Объем и структура диссертации.

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, глав описания материалов и методов, результатов исследования и их обсуждений, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложения. Текст диссертации изложен на 219 страницах машинописного текста, содержит 153 рисунка и 22 таблицы. Список литературы включает 226 источников, из них 44 – отечественных и 182 – иностранных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал для исследования получали из хирургических отделений Клинической больницы 119 Федерального Медико-биологического Агентства, ГБУЗ Городской клинической больницы им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения г. Москвы и ФГБУ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России.

Выполнен анализ операционного материала больных, находившихся на лечении в указанных выше медицинских учреждениях в период с 2006 по 2013 гг. Всего изучено 177 панкреатодуоденальных комплексов: протоковая аденокарцинома головки поджелудочной железы (ПАК ПЖ) - 100; ампулярная карцинома - 30; внутрипротоковая папиллярная муцинозная опухоль - 10; внутрипротоковая тубуло-папиллярная опухоль - 2; карцинома дистального отдела общего желчного протока - 4; карцинома малого дуоденального сосочка - 1; хронический панкреатит - 30 случаев.

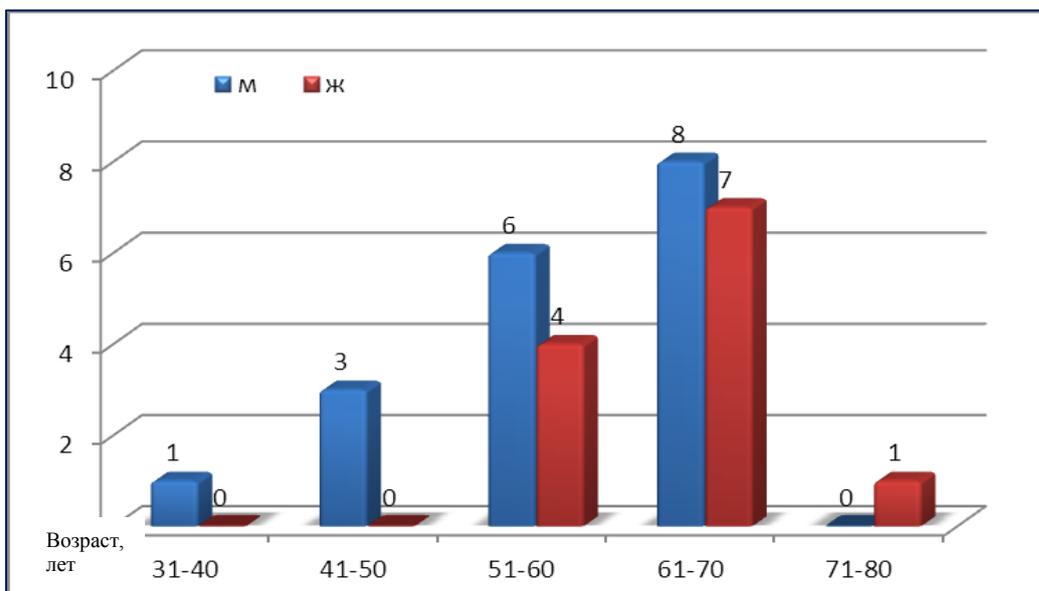
Среди больных *протоковой аденокарциномой головки поджелудочной железы* отмечалось незначительное преобладание женщин; соотношение полов - 1,1:1,0. Возраст больных колебался от 34 до 78 лет. Средний возраст мужчин составил 62,3 года, женщин – 54,0 года. Больных распределили по группам в зависимости от возраста: 1 группа - 31-40; 2 группа - 41-50; 3 группа - 51-60; 4 группа - 61 - 70; 5 группа - 71 - 80 лет.

Среди больных *карциномой дистального отдела ОЖП* соотношение мужчин и женщин 1,0:1,0. Возраст колебался от 52 до 72 лет (средний - 62,0 года).

Среди больных *ампулярной карциномой* преобладали мужчины, соотношение М:Ж=1,5:1,0. Возраст больных колебался от 34 до 72 лет (средний возраст 59,9). Больных распределили по группам в зависимости от возраста: 1 группа - 31-40; 2 группа - 41-50; 3 группа - 51-60; 4 группа - 61 - 70; 5 группа - 71 - 80 (Рис.1.). Следует отметить, что для лиц женского пола развитие ампулярной карциномой характерно после 50 лет, при этом пик заболеваемости приходился на 6-ое десятилетие жизни. В то время, как для лиц мужского пола характерно ступенчатое увеличение больных в зависимости от возрастной группы, с пиком заболеваемости также на 6-ой декаде жизни.

Для контроля и сравнительного анализа было исследовано 15 образцов ткани неизменной поджелудочной железы (аутопсийный материал лиц, не страдавших заболеваниями поджелудочной железы).

Для изучения сравнительной характеристики кишечного иммунофенотипа ампулярных и периапулярных карцином были исследованы 14 эмбрионов человека (материал после медицинского аборта) на сроках от 6 до 21 акушерской недели.



n

Рис.1. Распределение больных ампулярной карциномой по возрасту и полу

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Макроскопический

В данном исследовании проводили и затем анализировали описания макропрепаратов удаленной части поджелудочной железы. Поверхности ткани ПЖ окрашивали специальными чернилами фирмы «MARK-IT tissue marking dye».

Т.к. одной из задач явилось разработать алгоритм диссекции ПДК при ампулярных и периапулярных карциномах, основное макроскопическое исследование приведено в главе 3 (результаты собственного исследования).

Гистологический

Материал фиксировали в 10% забуференном растворе формалина, затем заливали в парафин по стандартной методике. Серийные парафиновые срезы толщиной 3 мкм депарафинировали по стандартной схеме, затем окрашивали гематоксилином и эозином.

Операционный материал изучали на серийных или ступенчатых срезах с целью уточнения характера процесса и гистотопографии новообразования.

Иммуногистохимический

При иммуногистохимическом исследовании (ИГХИ) использовали набор моноклональных антител (табл. 1), которые, в соответствии с поставленными задачами, разделили на группы.

Антитела для иммуногистохимического исследования

№	Название	Клон	Разведение	Производитель
<i>I. Типы муцинов</i>				
1.	MUC 1	Ma552	1:60	Labvision
2.	MUC 2	Ccp 58	1:100	Labvision
3.	MUC 5AC	CLH2	1:50	Labvision
<i>II. Цитокератины (ЦК)</i>				
5.	ЦК 7	OV-TL 12/30	1:50	Dako
6.	ЦК 20	Ks20.8	1:50	Dako
<i>III. Регуляторные протеины</i>				
7.	Ki-67	mib1	RTU	Dako
8.	p63		RTU	Dako
<i>IV. Другие</i>				
10	Виментин		RTU	Dako
11	Е-кадгерин		RTU	Dako
12	Гладкомышечный актин		RTU	Dako

Образцы тканей для ИГХ исследования фиксировали в 10%-ном забуференном формалине (рН - 7,2), проводили по батарее спиртов и ксилолов, заливали в парафин по стандартной методике. Интенсивность пероксидазной метки для каждого плазматического или мембранного маркера оценивали полуколичественным методом с учетом интенсивности окрашивания и количества антиген-позитивных клеток. Иммуногистохимическая реакция оценивалась как негативная («-» - нет реакции), слабопозитивная («+» - <10% окрашенных клеток), умеренная («++» - >10% клеток средней интенсивности окраски) и выраженная («+++» - >50% клеток высокой интенсивности окраски).

Силу и значимость связи между анализируемыми признаками оценивали с помощью корреляционного-регрессионного анализа. Для количественных признаков вычисляли корреляционный коэффициент Пирсона. За уровень статистической значимости принимали $p < 0,05$. Для анализа выживаемости (по методу Каплана-Мейера) использовали регрессионную модель пропорциональных интенсивностей Кокса. Достоверность различий между кривыми выживаемости подтверждали с помощью лог-рангового теста, критериями Гехана и F-критерия Кокса, с использованием пакета программ Statistica для Microsoft Windows версия 6.0 [25].

Флуоресцентная гибридизация in situ (FISH-метод).

Для проведения FISH – анализа применяли технику tissue microarrays (TMA). Сконструированный блок состоял из 48 образцов первичной опухоли от разных больных, при этом от одного больного использовались образцы с разной степенью дифференцировки опухолевых клеток. Двухцветную интерфазную FISH-реакцию

выполняли на парафиновых срезах толщиной 4 мкм. Использовали локус специфические ДНК-пробы (молекулярные зонды) к локусу 8q24/ c-мус («Vysis», Abbott Inc.) и центромерные - CEP 17. Сигналы подсчитывали в 100 отдельно лежащих ядрах каждого образца, при этом не учитывали число сигналов в нечетко очерченных ядрах (внеядерный сигнал), а также лежащих друг на друге. Нормальную ткань поджелудочной железы использовали как контроль. Кариотипический профиль считали нормальным (сбалансированным), если более 50% ядер опухолевых клеток содержали по 2 сигнала от каждой из локус специфических проб.

Электронно-микроскопический

Проведено электронно-микроскопическое исследование биопсийного материала 10 больных ПАК и от больных ХП, позволившее получить более детальное представление о структурных и функциональных особенностях клеток.

Для электронно-микроскопического исследования кусочки ткани фиксировали 2,5% раствором глутарового альдегида на 0,15М фосфатном буфере, затем 1% раствором OsO₄ на 0,15М фосфатном буфере. Обезживляли материал в спиртах возрастающей концентрации (50, 70, 96 и 100%), затем в пропилен оксиде и заливали в аралдит. С каждого блока для свето-микроскопической ориентации готовили сначала полутонкие срезы толщиной 1,5–2 мкм и окрашивали их толуидиновым синим. Под контролем светооптического микроскопа на полутонких срезах выбирали участки для дальнейшего электронно-микроскопического исследования. Ультратонкие срезы (100–200Å) окрашивали раствором уранил-ацетата и цитратом свинца по Reynolds (1969). Готовые препараты просматривали в электронном микроскопе Philips CM 10 в трансмиссионном режиме при ускоряющем напряжении 80 Кв.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ампулярные карциномы (АК) отличаются друг от друга в зависимости от локализации по макроскопическому виду и размерам. В результате проведенного исследования согласно классификации V.Adsay установлено, что при макроскопическом исследовании преобладали ампулярно-двенадцатиперстные АК - 50,0% случаев (15/30), ампулярно-протоковые - 40% (12/30), реже встречались интраампулярные - 10,0% (3/30). Размер опухолей варьировал от 1 до 6 см, средний размер составил 3,4 см. как правило, ампулярно-двенадцатиперстные АК характеризовались большим размером от 2,5 до 6 см (средний 4,0 см). Только в этой группе АК были обнаружены опухоли размером более 5 см. Ампулярно-протоковые характеризовались размером от 1 до 5 см (средний 2,3). Интраампулярные опухоли были до 2 см. Также мы выявили статистически значимые различия между размером АК и гистологическим типом опухоли ($r=0,47$ $p=0,009$) (рис.3,4).

Гистологический тип АК определяли с помощью иммуногистохимического исследования. Кишечный и панкреатобилиарный типы имеют различия при окраске гематоксилином и эозином, однако для более объективного исследования мы применяли иммуногистохимический метод исследования. По гистологическому типу, в зависимости от экспрессии муцинов 1,2 и 5АС типов, преобладала группа с кишечным фенотипом и составила 60% (18/30), группа с панкреато-билиарным типом выявлена в 33,3% (10/30). В двух случаях выявлена коэкспрессия маркеров как кишечной, так протоковой дифференцировки и опухоль расценивалась как смешанный тип (СмТ) АК. Следует отметить, что во всех случаях ампулярные карциномы панкреатобилиарного типа экспрессия муцина 1 сочеталась с экспрессией муцина 5АС, т.е. «истинного» панкреато-

билиарного типа с изолированной экспрессией муцина 1 типа, встречающийся при протоковом раке поджелудочной железы, не выявлено.

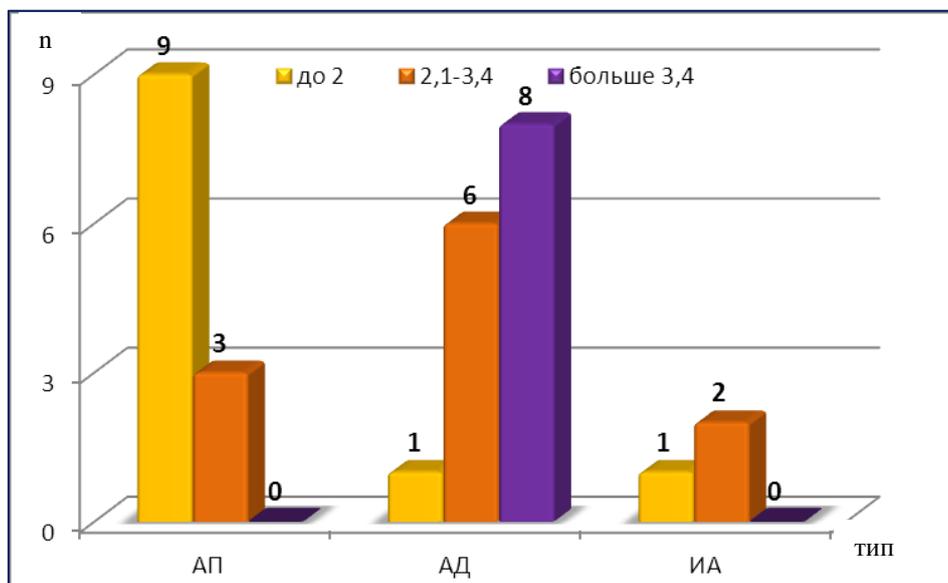


Рис.3. Взаимосвязь размера ампулярных карцином и гистологического типа
Примечание: АП – ампулярно-протоковый тип, АД – ампулярно-двенадцатиперстный, ИА – интра-ампулярные

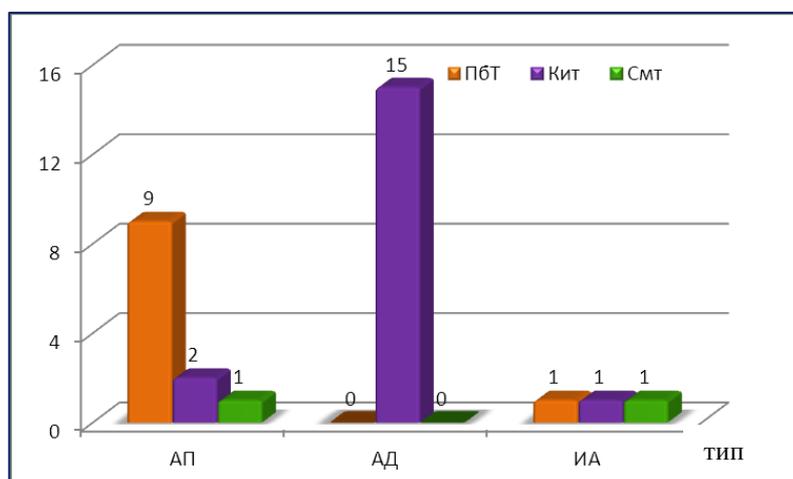


Рис.4. Взаимосвязь макро- и микроскопических типов ампулярных карцином
Примечание: АП – ампулярно-протоковый тип, АД – ампулярно-двенадцатиперстный, ИА – интра-ампулярные

При ИГХ исследовании с использованием цитокератинов 7 и 20, материал

распределен следующим образом: аденокарциномы панкреатобилиарного и кишечного типов составили по 13 случаев, СмТ тип – 4 случая. При этом в 5-ти из 13-ти случаев, отнесенных к опухолям с кишечным фенотипом, умеренная экспрессия цитокератина 20 (++) сочеталась со слабой экспрессией цитокератина 7 (+). А также в трех случаях из 13-ти, отнесенных к опухолям с панкреато-билиарным типом, умеренная экспрессия цитокератина 7 (++) сочеталась со слабой экспрессией цитокератина 20 (+). К смешанному типу отнесены ампулярные карциномы с одинаковой экспрессией цитокератинов 7 и 20. Мы не выявили статистически значимой зависимости между гистологическим типом ампулярных карцином, при использовании цитокератинов, и клинико-морфологическими данными ($p > 0,05$), поэтому в дальнейшем при распределении АК по фенотипу учитывали только различия в экспрессии муцинов.

Выявили прямую корреляционную зависимость между макроскопическим и гистологическими типами ампулярных карцином ($r=0,47$ $p=0,009$). Так для ампулярно-двенадцатиперстного макроскопического типа характерен был кишечный гистологический тип, а для ампулярно-протокового – панкреатобилиарный тип данные представлены на графике, что соотносится с результатами исследований V. Adsay (2012).

В 56,6% случаев (17/30) опухоль была представлена высокой степенью дифференцировки, умеренно-дифференцированные формы составили 26,6% (8/30) и низко-дифференцированные – 16,7% (5/30).

Для панкреатобилиарного типа характерны опухоли небольших размеров до 3,5 см (средний размер 2,1 см), напротив, для кишечного типа характерны опухоли более 3,5 см (средний размер 3,8 см) ($r=0,67$ $p < 0,005$), что статистически достоверно.

На нашем материале из периапулярных карцином место по частоте встречаемости преобладали **протоковые аденокарциномы поджелудочной железы**.

Микроскопически в большинстве случаев 81,0% (81/100) опухоль представлена железистыми структурами неправильной формы, состоящие из опухолевых клеток с различным содержанием муцина, выраженной десмопластической реакцией стромы, как правило, занимающий большой процент площади опухоли (от 50-80%).

Применяя критерии ВОЗ, 2010г. для определения гистологической злокачественности ПАК ПЖ выявили, что в 51% случаев (51/100) рак поджелудочной железы был представлен умеренно-дифференцированными формами (grade 2) ПАК ПЖ высоко- (grade 1) и низко- дифференцированными (grade 3) распределялись по 27,0% (27/100) и 3,0% (3/100), соответственно. ПАК ПЖ grade 1 состояли из крупных, железисто-подобных структур, неравномерно расположенные в склерозированной фиброзной строме, в которой встречались единичные неизмененные протоки и островки Лангерганса. В просвете опухолевых железистых структур определялись скопления слизи. Опухолевые клетки при grade 1 крупные с эозинофильной, иногда бледной цитоплазмой, овальными полиморфными ядрами с отчетливыми ядрышками, выраженным хроматином. В ПАК ПЖ grade 2 преобладали средние по размеру железистые и тубулярные структуры, окруженные выраженной фиброзной стромой. По мере уменьшения дифференцировки клеточный атипизм и число митозов нарастали, а способность клеток к продукции слизи уменьшалась. ПАК ПЖ grade 3 состояли из более плотно расположенных мелких, неправильно сформированных желез в слабо развитой строме, наличием солидных участков роста с фокусами некроза и кровоизлияний.

Однако, в 19,0% (19/100) случаев в классическом гистологическом варианте ПАК ПЖ в опухоли наряду с железистыми структурами обнаружен анапластический (саркомоподобный) компонент (Рис.2.), представленный крупными полиморфными или

веретенообразными клетками с гиперхромными ядрами, иногда многоядерными, с минимальным стромальным компонентом. Объем анапластического компонента отличался и составил от 5 до 20% общей массы опухоли, но во всех случаях не являлся преобладающим.

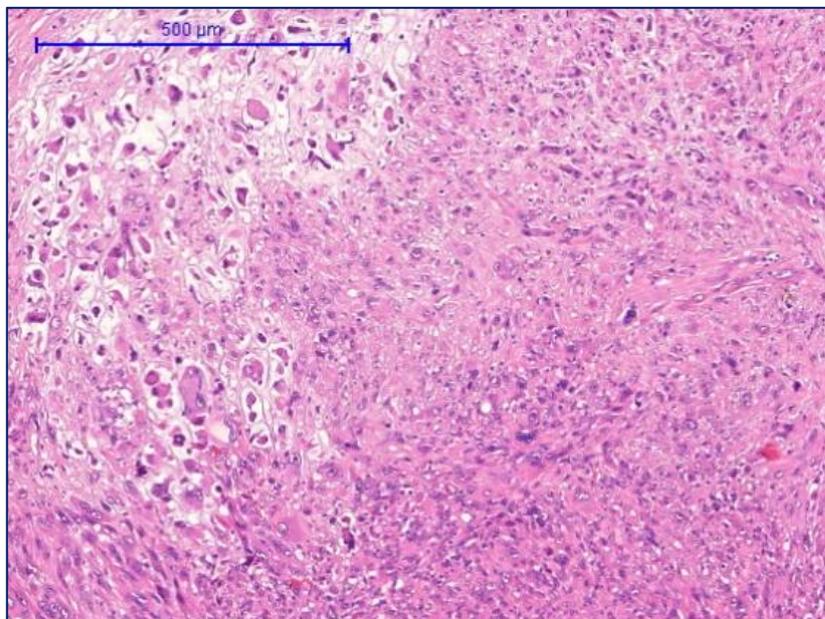


Рис.2. Анапластический компонент в протоковой аденокарциноме поджелудочной железы. Окр.: Гематоксилином и эозином,

В большинстве случаев опухоль распространялась за пределы поджелудочной железы:

- инвазия в стенку двенадцатиперстной кишки - обнаружена в 53% случаях (53/100)
- инвазия в перипанкреатические мягкие ткани - в 35% случаев (35/100)
- наличие экстрапанкреатической периневральной инвазии - в 32% случаев (32/100)

Мы отметили несколько путей распространения ПАК ПЖ. Так если опухоль распространялась только на поверхности железы и края резекции - мы расценивали прямой тип распространения. При поражении регионарных лимфатических узлов и/или наличии экстрапанкреатической периневральной инвазии - локорегионарный тип. А при наличии прямого и локорегионарного типов - смешанное распространение ПАК ПЖ.

Таблица 2

Соотношение типа распространения опухоли от pT стадии протоковой аденокарциномы поджелудочной железы.

Тип распространения (n=100)		pT1	pT2	pT3	pT4
Нет		2	7	10	0
Прямое (R1)		0	0	8	1
Локорегионарное	ЛУ	2	14	17	0
	ЭПНИ	0	0	4	0
	ЛУ+ЭПНИ	0	0	11	0
Смешанное	R1+ЛУ	0	0	8	0
	R1+ЭПНИ	0	0	1	2
	R1+ЛУ+ЭПНИ	0	0	11	2

При проведении иммуногистохимического исследования с муцинами 1, 2, 5AC типов выявлено, что в большинстве (61/100) случаев опухоль была представлена панкреатобилиарным типом. При этом в 34,4% (21/61) случаев иммунофенотип расценен как «истинный панкреатобилиарный». В 28% случаев (28/100) обнаружен желудочный иммунофенотип ПАК ПЖ. В 11% (11/100) выявлен кишечный иммунофенотип опухоли, кроме того в этих случаях отмечалась положительная экспрессия с CDX2, что еще раз свидетельствует о кишечном иммунофенотипе этих опухолей.

При использовании цитокератинов материал распределен следующим образом: панкреатобилиарный тип (ЦК7+++) выявлен в 58% (58/100); смешанный тип (ЦК7+/20+) - в 15% (15/100); кишечный тип (ЦК20+++) - в 27% случаев (27/100).

При этом следует отметить, что в 17/58 случаев выраженная реакция ЦК7 (+++) сочеталась со слабой реакцией ЦК20 (+). А в 10/27 случаев отмечалась выраженная реакция ЦК20 (+++) наряду со слабой экспрессией ЦК7 (+).

При электронной микроскопии ПАК ПЖ цитоплазма опухолевых клеток, формирующих железисто-подобные структуры, во всех случаях была вакуолизирована. Вакуоли были отграничены однослойной мембраной и заполнены светлым хлопьевидным содержимым. Ядра опухолевых клеток без выраженного полиморфизма. Многие псевдососочковые структуры были деструктивно изменены, степень патологических изменений была разной. Во фрагментах опухолевой ткани, где деструктивные процессы не выражены, межклеточные соединения представлены интердигитациями и плотными контактами. При выраженности деструктивных процессов интердигитации встречались значительно реже, в основном клетки соединялись с помощью плотных контактов. Базальная часть клеток прилегает к базальной мембране. Степень сохранности ее разная, чаще она деструктивно изменена, набухшая, фрагментирована. В апикальной части некоторых клеток определяли небольшое количество нейросекреторных гранул. Железисто-подобные образования были заключены в фиброзную строму. Среди волокон коллагена находились фибробласты с умеренной функциональной активностью, единичные миофибробласты и фиброциты, чаще в состоянии деструкции. Такие клетки имели ядра с грубым глыбчатым хроматином, просветленную цитоплазму, органеллы с нарушенной структурой. Целостность плазмолеммы нередко была нарушена. В участках зрелой стромы преобладали капиллярные сосуды с хорошо сформированной стенкой. Вокруг капилляров, расположенных в незрелой строме, часто обнаруживался

периваскулярный отек, стенка таких сосудов чаще была тонкой. Среди коллагеновых волокон также находили капилляры с измененной ультраструктурой. Ядра эндотелиоцитов крупные с просветленной нуклеоплазмой, хроматин располагался вдоль нуклеолеммы и мелкими глыбками в нуклеоплазме. Перикапиллярное пространство расширено, базальный слой, включающий базальную мембрану и перициты, изменен. Базальная мембрана набухшая, неровная, фрагментированная. Перициты в состоянии деструкции.

Протоковая аденокарцинома поджелудочной железы имеет в основном развитую зрелую фиброзную строму, построенную из хорошо сформированных пучков коллагеновых волокон. Однако нами отмечены и участки стромы с дефектным фибрилlogenезом. Он проявлялся в образовании поперечно исчерченных филаментарных агрегатов (збровидных телец), состоящих из несовершенных форм фибрилл.

В 85-90% случаев как клинический, так и морфологический диагноз не вызывал трудностей, за счет наличия «узнаваемых» морфологических признаков. В связи с развитием эндосонографии на дооперационном этапе встает вопрос дифференциальной диагностики между псевдотуморозным хроническим панкреатитом, аутоиммунным панкреатитом и протоковым раком поджелудочной железы. Сложность дифференциальной диагностики новообразований ПЖ при толсто-игольных биопсиях (core-biopsy), объясняется ограниченностью поля исследования, выраженности фиброза железы (до 80% объема всего биоптата), который, как правило, хорошо развит как при хроническом панкреатите, так и при ПАК ПЖ. Также сложны для интерпретации криостатные срезы (frozen sections) железы, поскольку с одной стороны - при их изготовлении проявляется гиперхромазия и увеличение ядер клеток – эффект «раздавленного ядра» без визуализации хроматина и ядрышек, а с другой стороны ПАК ПЖ зачастую ассоциирована с хроническим или обструктивным панкреатитом для которых характерна атрофия паренхимы, фиброзные и реактивные изменения, в виде формирующихся тубулоостровковых и тубулоацинарных комплексов. Безусловно, в мировой литературе имеются работы по гистологической дифференциальной диагностике этих двух нозологий, но, несмотря на это в повседневной практике это остается наиболее сложным, а иногда и неразрешимым вопросом для врачей-патологоанатомов. Именно поэтому одной из задач данной диссертационной работы была разработка наиболее значимых клинико-морфологических критериев дифференциальной диагностики головчатого хронического панкреатита и ПАК головки ПЖ на основании исследования операционного материала для дальнейшего их использования при гистологическом исследовании толсто-игольных биопсий (core-biopsy) или криостатных срезов поджелудочной железы. Перинеуральная или сосудистая инвазия, т.е. критерии, наиболее достоверно подтверждающие диагноз рака поджелудочной железы зачастую отсутствуют при толсто-игольных биопсиях и криостатных срезах, и врач должен ориентироваться непосредственно по железисто-стромальному соотношению в биоптате. При проведении множественной регрессии выявлено, что достоверными признаками дифференциальной - диагностики хронического панкреатита и протоковой аденокарциномы считаются: архитектура (дольковая, рассеянная) ($p=0,03$), форма желез (правильная, неправильная/уродливая; полная, неполная) ($p=0,01$), стромальный компонент (упорядочный, не упорядочный (хаотичный) ($p<0,05$), фигуры митоза ($p=0,04$).

В настоящее время большинство научных работ сосредоточено на изучении эпителиально-стромальных взаимоотношений, играющие важную роль в прогрессии эпителиальных опухолей в сторону дедифференцированного, т.е. более злокачественного биологического фенотипа [A.D. Rhim ,2012]. Несмотря на существенный прогресс, достигнутый в изучении протокового рака поджелудочной железы и развитии подходов к

его хирургическому лечению, выживаемость больных остается на низком уровне. Одной из причин этого является выраженный десмопластическая реакция стромы опухоли, составляющая до 70 - 80% объема опухолевой ткани, проявляющаяся в гиперэкспрессии белков внеклеточного матрикса и пролиферации миофибробластов. Ряд исследований подчеркивают важную роль развитой десмопластической стромы рака ПЖ, в «защите» от химиотерапии опухоли и/или увеличении риска метастазирования опухолевых клеток И.В. Василенко (2014), A.D. Rhim (2012). Классический вариант протоковой аденокарциномы поджелудочной железы по своей гистологической структуре, как правило, неоднородная опухоль, представлена полями различной дифференцировки от высокой до низкой, включая анапластический компонент. В исследуемой серии анапластический компонент присутствовал в 19,0% (19/100) случаев. По нашему убеждению, его необходимо выделять даже при минимальном его объеме от общей массы опухоли, поскольку опухоли с анапластическим компонентом имеют не только различия в гистологическом строении, но и в злокачественном потенциале, а также по экспрессии эпителиальных, миоэпителиальных и мезенхимальных иммуно-гистохимических маркеров. Гистологически десмоплазия стромы, которая характерна для протокового рака поджелудочной железы, полностью отсутствует в анапластических участках. Опухолевые клетки, плотно располагаясь, друг к другу как бы создают «стромальный каркас» из самих себя. Кроме того, выявленная в анапластических клетках диффузная экспрессия с виментином, гладкомышечным актином и рб3 подтверждает, что в процессе потери дифференцировки опухолевые клетки приобретают миоэпителиальный и/или мезенхимальный фенотип. Данный факт, вероятно, связан с эпителиально-мезенхимальным переходом в опухоли, основными критериями которого, являются утрата полярности эпителия, разделение на отдельные клетки и дисперсия при приобретении клеточной подвижности. При этом происходит разрушение плотных адгезионных контактов (редукция и изменение экспрессии E-кадгерина) и реорганизация комплексов, обеспечивающих прикрепление клетки к субстрату. Однако частично сохраненная экспрессия цитокератинов и эпителиально-мембранного антигена свидетельствует о сохранении цитокартиновых рецепторов и возможной обратной трансформации при изменении микроокружения. В работе Ayano Kabashima-Niibe, 2010 с соавторами показано, что ингибирование трансформирующего фактора роста - β в протоковом раке поджелудочной железы приводит к обратному мезенхимально-эпителиальному переходу и потере мезенхимального и восстановлению эпителиального компонента. Наличие анапластического компонента в опухоли существенно влияет на продолжительность жизни больных с протоковой аденокарциномой поджелудочной железы, снижая ее более, чем в два раза. Медиана жизни у больных в группе без анапластического компонента составила 14 месяцев, против 6 при его наличии ($p=0,00016$).

При анализе эмбрионального развития поджелудочной железы проясняется механизм появления кишечного иммунофенотипа в протоковой аденокарциноме поджелудочной железы, обнаруженный только в 11% (11/100) случаев. В опухолевых клетках ПАК сохранялась эозинофильная цитоплазма и округлое ядро, при этом эпителий становился призматическим, обнаруживались бокаловидные клетки, а также скопление вне- и внутриклеточного муцина. Согласно исследованию И.В.Маева и О.В. Зайратьянца главным диагностическим признаком кишечной метаплазии желудка является наличие бокаловидных клеток, встречающихся при всех подтипах кишечной метаплазии. При неполной метаплазии выявляются полиморфизм ядер, увеличение ядерно-цитоплазматических соотношений; поверхностные отделы желез практически не отличаются от глубоких, что говорит о нарушении созревания и aberrантной дифференциации. Все эти картины показывают сходство неполной кишечной метаплазии с дисплазией. Сопоставляя все имеющиеся данные, при ПАК ПЖ с кишечным

иммунофенотипом, можно говорить лишь о неполной кишечной метаплазии, приводящей в дальнейшем к развитию рака, а не об «истинной» кишечной дифференцировке опухоли.

Двойной иммунофенотип характерен также и для ампулярной карциномы и для дистальной холангиокарциномы. По нашим данным, кишечный тип АК встречался в два раза чаще, по сравнению с панкреатобилиарным типом. При этом, при сравнении ПБТ ампулярной карциномы и протоковой аденокарциномы нами выявлены различия. Так отсутствие аббераций гена МУС и «истинного» панкреато-билиарного типа (экспрессия муцина 1 типа всегда сочеталась с экспрессией муцина 5 АС типа), подтверждает менее агрессивную биологическую природу ампулярных карцином по сравнению с протоковым раком поджелудочной железы. Следовательно, АК кишечного типа развиваются из эпителия большого дуоденального сосочка, а именно эпителия боковых его поверхностей, имея при этом «истинную» кишечную дифференцировку. Опухоли с панкреатобилиарным типом, развиваются из гибридного эпителия в интраампулярном компоненте. По литературным данным, в дистальной холангиокарциноме также выявлен кишечный иммунофенотип [Y. Nakamura 2010]. Однако за счет редкости данного новообразования, в нашем материале дистальная холангиокарцинома представлена только панкреатобилиарным иммунофенотипом. Оговоримся, что для опухолей ДПК характерен только кишечный иммунофенотип.

Рассматривая тему кишечного и панкреатобилиарного иммунофенотипа эпителия в опухоли, становится очевидно, что фенотип опухоли напрямую зависит от эмбрионального развития поджелудочной железы. Отсюда понятны и различия в 1-летней и 5-летней выживаемости у больных ампулярной карциномой и протоковой аденокарциномой ПЖ со сходным иммунофенотипом [Паклина, 2014]. Несмотря на различия в иммунофенотипе АК или ПАК ПЖ, больные получали одинаковое химиотерапевтическое лечение по стандартным схемам (гемцитабин, 5-фторурацил). В мировой литературе имеются сообщения о применении различных схем лечения в зависимости от иммунофенотипа опухоли, но за счет малочисленных групп выборки ПАК и дистальной холангиокарциномы кишечного иммунофенотипа, достоверных данных по общей и отдаленной выживаемости нет.

Проанализировав морфологические изменения поджелудочной железы эмбрионов человека на разных сроках гестационного развития, мы пришли к выводу, что панкреатобилиарный тип эпителия является вторичным по срокам развития и вероятно, более «специализированным». Данное наблюдение объясняется:

- субстратом для развития ПЖ является первичная кишка, которая по мере роста эмбриона дифференцируется в специализированные органы и ткани;
- тесной связью эпителиально-подобных скоплений ПЖ с мезенхимой, так как на всех сроках АН эпителиально-подобные скопления были окружены соединительной тканью, площадь которой уменьшалась по мере роста эмбриона.
- экспрессией таких маркеров, как муцин 1 типа и ЦК7, подтверждающих панкреатобилиарный иммунофенотип эпителия первичных протоков на 20-21 акушерских недель.

Наше исследование еще раз подтверждает, что в повседневной практике необходимо обязательно определять иммунопрофиль при морфологическом исследовании ампулярных карцином на основании экспрессии различных типов муцинов (1,2 и 5АС) для индивидуального подхода к тактике лечения данных больных. Это позволяет избежать искусственно завышенного уровня смешанного типа, т.е. коэкспрессии маркеров кишечной и панкреатобилиарной дифференцировки. При АК экспрессия муцина 1 типа во всех случаях сочеталась с экспрессией муцина 5 АС типа, т.е. отсутствовал «истинный» панкреатобилиарный тип, характерный для ПАК, что

невозможно определить с использованием цитокератинов.

Диссекция органокомплекса

Кроме того, повысить долю достоверных и объективных гистологических заключений невозможно без правильно обработанного на макроскопическом этапе органокомплекса. За счет того, что опухоли анатомически располагаются близко относительно друг друга, на макроскопическом этапе возможны ошибки в установлении первичной локализации. Поэтому еще одной важной задачей данной работы, для достижения поставленной цели - это разработать алгоритм морфологического исследования операционного материала, полученного при хирургических вмешательствах для опухолей панкреатодуоденальной зоны. До недавнего времени гастро- или панкреатодуоденальная резекции (ГПДР или ПДР) были редки из-за анатомической сложности панкреатодуоденальной зоны, и вследствие, высокой послеоперационной летальности. Однако в последние годы в результате улучшения хирургической техники, а также пред-, и интраоперационной диагностики, помогли снизить процент послеоперационной летальности до 2% [В.К. Лядов, 2017]. В связи с увеличением количества данных операций, возросла частота патологоанатомических исследований панкреатодуоденального комплекса. Несмотря на это, четкие критерии диссекции органокомплекса при АК или периапулярных карциномах в настоящее время отсутствуют. Поэтому, внедрение алгоритма морфологического исследования резецированного органокомплекса позволит правильно оценить результаты хирургического лечения (R-статус, стадия заболевания). Актуальность данной задачи не вызывает сомнений, поскольку мы ретроспективно изучили, как макро- так и микроскопические описания резецированных органокомплексов и пришли к выводу, что они не только неполные, но и в некоторых случаях не корректны. При макроскопическом описании отсутствуют единство и последовательность описания основных характеристик не только опухоли, но и самого ПДК. Отсутствуют описания протоков (ОЖП и ГПП) их проходимость, место впадения, диаметр. Не промаркированы края резекции. Так же в большинстве случаев не понятна, из представленного макроскопического описания, первичная локализация опухоли, а поскольку опухоли могут имитировать друг друга, то процент объективно достоверных гистологических заключений заведомо меньше. При микроскопическом описании также отсутствовала структурность гистологического диагноза. Практически во всех ответах отсутствовало pTNM стадирование, описание R-статуса, наличие распространения опухоли в виде экстрапанкреатической периневральной инвазии, не указан тип распространения, а также иммунофенотип опухоли. Все это создает предпосылки для разработки унифицированного алгоритма гистологического исследования панкреатодуоденального комплекса, резецированного при аппулярных и периапулярных карциномах. Безусловно разработанный нами алгоритм исследования ПДК трудоемкий, как правило, процесс макроскопического исследования одного ПДК занимает около 1 часа. Мы приводим пошаговую обработку ПДК для конкретных опухолей, что делает данный алгоритм легко воспроизводимым и более объективным при дальнейшем изучении неопластического процесса.

Так начальным, этапом макроскопического исследования является правильная ориентация резецированного комплекса с определением поверхностей железы. Нами приведены все необходимые параметры, согласно которым легко сориентировать панкреатодуоденальный комплекс. Далее, необходимо вскрыть двенадцатиперстную кишку, определить проходимость протоков. Эти этапы особенно важны, поскольку определяется не только проходимость протоков, но и распространение опухоли на протоки, а в некоторых случаях локализация опухоли. Это актуально:

- ✓ при нетипичной протоковой системы (pancreas divisum).
- ✓ при подозрении на дистальную холангиокарциному, поскольку данные опухоли имеют не только схожую гистологическую картину, но и одинаковый иммунопрофиль при экспрессии муцинов. Мы считаем, что основным критерием дифференциальной диагностики является локализация опухоли. Истинная, дистальная холангиокарцинома растет изнутри с прорастанием всей стенки ОЖП и последующим вовлечением ткани ПЖ, с характерным кольцевидным ростом вокруг ОЖП и без формирования узла в головке ПЖ.
- ✓ при дифференцировке «истинных» внутрипротоковых опухолей и внутрипротоковых опухолей при вторично-вовлеченных процессах (ПАК, АК, ДХК).

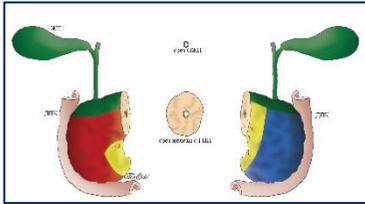
Для дальнейшего микроскопического исследования изучали всю опухоль. Важно было оценить и выявить наличие анапластического компонента, который может быть минимальным. Опухоль иногда бывает по морфологической структуре неоднородной, поэтому определение ее злокачественного потенциала имеет больше значение для клиницистов и в последующем определяет тактику лечения.

Разработанный нами алгоритм диссекции органокомплекса позволяет не только добиться более объективного морфологического исследования, но и унифицировать гистологическое заключение, поскольку мы предлагаем и протоколы гистологического заключения, которые понятны для дальнейшей интерпретации как морфологам, так и специалистам смежных областей (хирурги, онкологи и др.). Данные протоколы содержат всю необходимую клиническую информацию по больному (ФИО, пол, возраст, № истории болезни, № гистологии, клинический диагноз), полное макроскопическое и расширенное микроскопическое описание с гистологическим заключением, с обязательным pTNM стадированием и указанием международных кодов (ICD-O) (приложения 1-3).

Ниже приведен алгоритм исследования.

Алгоритм исследования ПДК при ампулярных и периампулярных карциномах

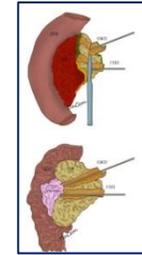
I. Ориентация органокомплекса



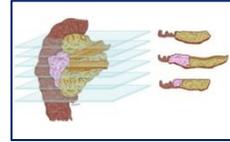
Образования в области БДС или МДС

→ протокол для АК

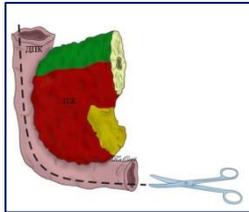
III. сагиттальный разрез по зондам вдоль протоков, раскрывая железу на переднюю и заднюю поверхности



IV. производят параллельные срезы толщиной 0,5 см перпендикулярно к стенке ДПК



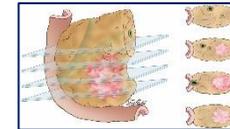
II. Раскрытие ДПК



Образование стенки ДПК, не связанное с БДС при подозрении рака ПЖ

→ протокол для рака ПЖ

III. параллельные срезы толщиной 0,5 см в аксиальной плоскости железы, перпендикулярно к стенке ДПК



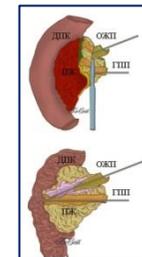
Изменений стенки ДПК не обнаружено

Подозрение на рак ПЖ

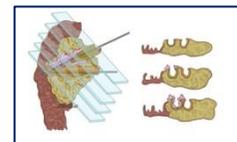
Подозрение на ДХК

→ протокол для ДХК

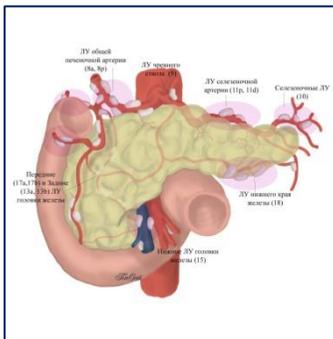
III. сагиттальный разрез по зондам вдоль протоков, раскрывая железу на переднюю и заднюю поверхности



IV. производят параллельные срезы толщиной 0,5 см перпендикулярно к стенке ОЖП по всей его длине от радиального края до стенки ДПК



V. Исследование регионарных ЛУ



Дифференциальная диагностика опухолей протоковой системы поджелудочной железы

Несмотря на имеющиеся различия в гистологической картине данных опухолей, при исследовании большого объема материала мы столкнулись с трудностями в постановке диагноза в ряде случаев.

Протоковая аденокарцинома поджелудочной железы vs. головчатый хронический панкреатит

Клинические признаки

Среди больных ХП преобладали мужчины (3:1), возраст варьировал от 25 до 75 лет (средний возраст 45 лет). Возраст женщин колебался в пределах от 28 до 73 лет, средний возраст 47 лет. Среди больных ПАК ПЖ отмечалось незначительное преобладание женщин; с соотношением (1,1:1). Возраст больных колебался от 34 до 78 лет. Средний возраст мужчин – 62,3 лет, средний возраст женщин – 54 года.

Для протоковой аденокарциномы наиболее характерен возраст в диапазоне от 41 до 70 лет, при этом в возрастной группе 41-50 лет мужчин больных ПАК практически в два раза больше. Если посмотреть на тот же возрастной диапазон 41-50 лет среди больных ХП, мужчин в три раза больше, чем женщин ($t=0,25$ $p=0,005$).

Макроскопические признаки

Макроскопические признаки ХП и ПАК сгруппированы в таблице 3.

Таблица 3

Макроскопические признаки хронического панкреатита и протоковой аденокарциномы поджелудочной железы

<i>Признак</i>	<i>ХП</i>	<i>ПАК</i>
<i>Макроскопический вид</i>	Железа не имеет четкого строения, паренхима замещена фиброзной и жировой тканью	Узел неправильной формы без четких границ, как правило, размерами от 2-5 см
<i>Цвет</i>	Белесовато-глянцевый	Белесовато-матовый
<i>Консистенция</i>	Плотно-эластическая	Каменистая
<i>ГПП</i>	Деформирован за счет участков сужения и расширения просвета, как правило, проходим зондом	не проходим зондом
<i>Дегенеративные изменения</i>	Кальцинаты	Очаги распада с формированием полостей неправильной формы
<i>Дополнения</i>	В 22% в просвете протоков - обтурирующие камни В 26% обнаружены постнекротические кисты	Инвазия в ДПК, ОЖП

Примечание: ХП - хронический панкреатит, ПАК - протоковая аденокарцинома, ГПП - главный панкреатический проток, ДПК - двенадцатиперстная кишка, ОЖП - общий желчный проток

Микроскопические признаки

«Золотым стандартом» для окончательного диагноза является патологоанатомическое исследование, поэтому более подробно остановимся на гистологических, иммуногистохимических и электронно-микроскопических признаках двух нозологий.

Гистологические признаки

При хроническом панкреатите гистологические изменения были весьма вариабельны в разных долях. В одних срезах отмечался перидуктальный и перилобулярный фиброз, в других - просматривалась архитектура ПЖ в виде долек, замещенных фиброзом в различной степени. И только в далеко зашедших стадиях отмечали полное исчезновение ацинарной ткани, и лишь скопление мононуклеаров указывало на разрушенную долю. Окруженные фиброзом междольковые протоки были расширены и выстланы кубическим или метаплазированным эпителием. Мелкие протоки деформированы и расширены с наличием в просвете эозинофильного секрета - белковые пробки. В полях фиброза и вокруг крупных протоков отмечалась очаговая инфильтрация лимфоцитов, местами с формированием лимфоидных фолликулов. Следует отметить, что при тяжелых формах ХП воспалительная инфильтрация была минимальной и носила очаговый характер.

При ХП менялась структура протоковой системы. В паренхиме из ацинарной ткани формировались тубуло-островковые и тубуло-ацинарные комплексы, имитирующие высокодифференцированные формы ПАК (grade 1). Также обнаружена цилиндрическая метаплазия протокового эпителия - панкреатическая интраэпителиальная неоплазия – ПанИн 1-2. Поражение нервных стволов ПЖ при ХП наблюдали в виде пери- и интраневральной инфильтрации зрелыми лимфоцитами, а также отека и набухания, разрастания фиброзной ткани в виде муфт.

Иммуногистохимические признаки

Различия в иммуногистохимических реакциях при протоковой аденокарциноме и хроническом панкреатите определялись как в железистом, так и в стромальном компонентах.

Железистый компонент: При хроническом панкреатите, как в неизмененных, так и метаплазированных протоках и тубуло-островковых и/или тубуло-ацинарных комплексах отмечалась выраженная экспрессия (+++) метастина в цитоплазме клеток, экспрессия белка p16 расценена тоже как интенсивная (>75%), а реакция с антителами к p53 не превышали 5%. Митотическая активность с Ki-67 < 3%.

Следует отметить, что при протоковой аденокарциноме в низкодифференцированных формах экспрессия гена p16 присутствовала лишь в единичных ядрах. В умеренно-дифференцированных формах экспрессия онкобелка p16 не превышала 25%. Выявленная экспрессия гена p53 наблюдалась в 57% случаев (57/100), а в 5% случаев (5/100) она носила отрицательный характер. Экспрессия метастина в большинстве случаев 82/100 расценена как слабо- и умеренно-выраженная. По мере снижения дифференцировки опухолевых клеток экспрессия метастина уменьшалась, вплоть до полного исчезновения, однако в неизмененных протоках его экспрессия оставалась высокой.

Большинство протоковых аденокарцином поджелудочной железы экспрессировали муцин 1 типа, но выраженность ИГХ реакции различалась. Самая интенсивная экспрессия муцина 1 типа обнаруживалась в опухолях с grade 2. Следует отметить, что в окружающей опухоль неизменных протоках при протоковой аденокарциноме экспрессия муцина 1 типа выявлена только в апикальной части, как и в неизменной панкреатической ткани и при хроническом панкреатите, напротив, в опухолевых клетках экспрессия распространялась на всю цитоплазму и выраженность реакции была в несколько раз сильнее.

Также при раке поджелудочной железы происходила редукция и изменение полярности экспрессии белка E-кадгерина, а именно исчезновение мембранного окрашивания и появление цитоплазматического с разной степенью интенсивности. В опухолевых клетках железистых структур ПАК в 68% (68 из 100 случаев) наблюдалось умеренно-выраженная (++) цитоплазматическая экспрессия данного белка; в 30% (30/100) – выраженная цитоплазматическая (+++). Мембранная реакция наблюдалась только в 3% (3/100) случаев. В анапластическом компоненте во всех случаях отмечена отрицательная как мембранная, так и цитоплазматическая экспрессия белка E-кадгерина. Напротив при ХП во всех неизменных и метаплазированных протоках отмечено мембранное окрашивание данного онкобелка. В некоторых тубуло-островковых комплексах отмечалось появление цитоплазматического окрашивания

Ультроструктурные признаки: При электронно-микроскопическом исследовании стромы при ХП в строме поджелудочной железы с прогрессированием фиброза увеличивается количество и зрелость коллагеновых волокон: от отдельно беспорядочно расположенных коллагеновых фибрилл до массивных зрелых пучков. Клеточный состав претерпевал как количественные, так и качественные изменения. При легкой и средней степени фиброзных изменений строма многоклеточная и представлена преимущественно фибробластами, макрофагами, лимфоцитами, тучными и плазматическими клетками. С прогрессированием фиброза клеточная насыщенность стромы уменьшалась, изменялась функциональная активность фибробластов: при легких фиброзных изменениях – это были молодые пролиферирующие фибробласты, при умеренных – зрелые функционально активные коллаген-продуцирующие фибробласты; при выраженной степени – зрелые коллаген-продуцирующие фибробласты и фиброциты замурованы в толще коллагеновых волокон. Сосудистые изменения связаны с нарастанием дистрофических изменений в эндотелиальных клетках и уменьшением количества микрососудов при выраженных фиброзных изменениях в поджелудочной железе.

При протоковой аденокарциноме поджелудочной железы строма представлена зрелыми пучками коллагеновых волокон с участками дефектного фибриллогенеза (зебровидный коллаген), представленный поперечно исчерченными филаментарными агрегатами (зебровидные тельца), состояли из несовершенных форм фибрилл. Фибробласты, фиброциты, миофибробласты замурованы в коллаген. Сосудистые клетки находились в разной степени деструкции. Ядра эндотелиоцитов крупные с просветленной нуклеоплазмой, хроматин располагался вдоль нуклеолеммы и мелкими глыбками в нуклеоплазме. Перикапиллярное пространство расширено, базальный слой, включающий базальную мембрану и перициты, изменен. Базальная мембрана набухшая, неровная, фрагментированная. Перициты в состоянии деструкции. Формирование сосудов происходило в тесной и взаимообусловленной связи с десмоплазией стромы.

Таким образом, при хроническом панкреатите и протоковой аденокарциноме морфологические изменения наблюдали не только в эпителиальном компоненте, но и стромальном.

Протоковая аденокарцинома поджелудочной железы vs. ампулярная карцинома

На первый взгляд дифференциальная диагностика двух данных нозологий ясна и не вызывает сомнений. Однако иногда точное происхождение рака (ампулярная или периапулярная область) трудно определить, за счет больших размеров опухолевого узла и распространения на смежные органы. Кроме того, трудность дифференциальной диагностики вызывала однотипная микроскопическая картина ампулярной карциномы и протоковой аденокарциномы поджелудочной железы. Так, на нашем материале была диагностирована с двумя случаями ампулярной карциномой с узло-образованием в головке ПЖ. Морфологическое описание данных случаев приведено в таблице 4. Клинически в обоих случаях на основании комплексной дооперационной диагностики был поставлен диагноз рак головки поджелудочной железы.

Таблица 4

Морфологическое описание АК с узлообразованием в головке поджелудочной железы

ФИО	Больная Д.	Больная Е.
Пол/возраст	ж/70	ж/55
	Макро-	
Размер опухолевого узла	3,0×3,0×2,5 см	3,0×3,0×2,0 см
Цвет	Белесоватый, плотный	Белесоватый, плотный
Слизе-образование	Да	Нет
Локализация	ИА с распространением на головку ПЖ	ИА с распространением на головку ПЖ
Ампулярная область	Не изменена	Не изменена
ГПП	Проходим 0,5	Проходим 0,3
ОЖП	Проходим, Ø 1 см	Проходим, Ø 0,7 см
	Микро-	
ГЗ	2	2
Распространение опухоли (pT)	pT4	pT3
R статус	0	0
ПНИ	Есть	Есть
ЛУ (pN) позитивные/общие	N1 (5/23)	N0 (0/17)
Иммунофенотип	КиТ	КиТ

Примечание: ИА - итраампулярная, ГЗ - гистологическая злокачественность, КиТ - кишечный тип, ПЖ - поджелудочная железа, ЛУ - лимфатические узлы, ГПП - главный панкреатический проток, ОЖП - общий желчный проток

Как видно из таблицы 3 в обоих случаях опухоль локализовалась в интраампулярной области. Поскольку клинически был диагностирован рак поджелудочной железы и при раскрытии ДПК через антипанкреатическое ребро ампулярная область не изменена, мы прибегли к тактике диссекции, как при раке ПЖ. Т.е. разрезы проводили в аксиальной плоскости железы перпендикулярно стенке ДПК (см. главу 3.3.) с обязательным разрезом по зонду ГПП. При зондировании ОЖП и ГПП проходимы, открывались одним протоком на БДС. При таком раскрытии в интраампулярной области обнаружено уплотнение белесоватого цвета, с распространением в головку ПЖ, формируя опухолевый узел. В обоих случаях опухолевый узел белесоватого цвета, плотный. В одном случае узел со

слизеобразованием.

При микроскопическом исследовании в обоих случаях опухоль представлена умеренно-дифференцированной аденокарциномой кишечного типа, с наличием интрапанкреатической периневральной инвазии.

Учитывая макроскопическую локализацию и микроскопическую картину в обоих случаях выставлен диагноз: Умеренно-дифференцированная аденокарцинома ампулярной области, интраампулярной локализации с распространением на головку поджелудочной железы и формированием узла, кишечный тип, с наличием интрапанкреатической периневральной инвазии.

В таблице 5 приведена макроскопическая сравнительная характеристика ампулярной карциномы и протоковой аденокарциномы поджелудочной железы.

Таким образом, при ПАК поджелудочной железы опухоль в 52% вовлекает стенку ДПК, но ни в одном случае она не связана с анатомическими структурами ампулы (интраампулярный компонент, большой дуоденальный сосочек, боковые поверхности БДС). Для ПАК характерны опухоли больших размеров, в 20% случаев обнаружены опухоли от 5 см и больше. Напротив, для АК такие большие размеры опухолевого узла не характерны и обнаружены только в 2х наблюдениях.

При микроскопическом исследовании нами также выявлены отличия АК и ПАК. Данные приведены в таблице 6.

Таблица 5

Макроскопическая сравнительная характеристика АК и ПАК головки поджелудочной железы

<i>признак</i>	<i>АК</i>	<i>ПАК</i>
ампулярная область	в 50% обнаружен АД макротип	не изменена
стенка ДПК	в 10% втяжение при ИА макротипе опухолевые массы в непосредственной близости к БДС (при АД макротипе)	В 52% изъязвления, кратеро- образное втяжение не связано с БДС
отношение к ПЖ	в 39% врастает в головку ПЖ (при этом крючок не изменен)	в 74% локализуется в крючке ПЖ
размер ОУ %		
до 2 см	36,7	17,0
2,1 - 3,4 см	36,7	43,0
больше 3,4 см	26,6	40,0

Примечание: ДПК - двенадцатиперстная кишка, ПЖ - поджелудочная железа, ОУ - опухолевый узел, БДС - большой дуоденальный сосочек, АД - ампулярно-двенадцатиперстный, ИА- интраампулярный

Таблица 6

Микроскопическая сравнительная характеристика АК и ПАК головки поджелудочной железы; общие признаки

<i>признак</i>	<i>АК %</i>	<i>ПАК %</i>
<i>Характеристика эпителия</i>	<i>Базофильная цитоплазма Псевдостратификация ядер Ядра овальной формы Цилиндрический эпителий Бокаловидные клетки Напоминает ворсинчатую аденому толстой кишки</i>	<i>Амфифильная/эозинофильная цитоплазма Кубический эпителий Ядра округлой формы</i>
<i>Стромальный компонент</i>	<i>Не выражен</i>	<i>Выраженная десмопластическая реакция</i>
<i>ГЗ</i>		
<i>Grade 1-2</i>	80,0	78,0
<i>Grade 3-4</i>	20,0	22,0
<i>ПНИ</i>		
<i>Интра- есть</i>	7,0	87,0
<i>Экстра- есть</i>	0	32,0
<i>pT1</i>	3,0	4,0
<i>pT2</i>	57,0	21,0
<i>pT3</i>	33,0	70,0
<i>pT4</i>	7,0	5,0
<i>pN1/pN0</i>	37,0/63,0	65,0/35,0
<i>R 0/R1</i>	97,0/3,0	67,0/33,0

Примечание: АК - ампулярная карцинома, ПАК - потоковая аденокарцинома, ГЗ - гистологическая злокачественность, ПНИ - периневральная инвазия

Как видно из таблицы 6 в большинстве случаев АК, несмотря на большие размеры опухоли, остается в пределах стенки ДПК. Кроме того, для АК не характерно наличие интрапанкреатической периневральной инвазии, а тем более экстрапанкреатической и позитивных краев резекции. При АК частота метастатического поражения лимфатических узлов практически в 2 раза меньше по сравнению с ПАК поджелудочной железы.

Теперь сравним кишечный и панкреатобилиарные типы ампулярной карциномы и протоковой аденокарциномы поджелудочной железы. Данные приведены в таблицах 7-8

Таблица 7

Микроскопическая сравнительная характеристика кишечного иммунофенотипа АК и ПАК поджелудочной железы

<i>признак</i>	<i>АК n=18 (%)</i>	<i>ПАК n=11(%)</i>
<i>% опухолей КиТ</i>	60,1	11,0
<i>Размер ОУ</i>		
<i>до 2 см</i>	6,7	2,0
<i>2,1 - 3,4 см</i>	26,7	7,0
<i>больше 3,4 см</i>	26,7	2,0
<i>Характеристика эпителия</i>	<i>Базофильная цитоплазма Псевдоэпителификация ядер Ядра овальной формы Цилиндрический эпителий Бокаловидные клетки Напоминает ворсинчатую аденому толстой кишки</i>	<i>Эозинофильная цитоплазма Призматический эпителий Ядра округлой формы Бокаловидные клетки Вне- и внутриклеточный муцин</i>
<i>Стромальный компонент</i>	<i>Не выражен</i>	<i>Выраженная десмопластическая реакция</i>
<i>ГЗ</i>		
<i>Grade 1-2</i>	46,8	8,0
<i>Grade 3-4</i>	13,3	3,0
<i>ПНИ</i>		
<i>Интра- есть</i>	3,3	9,0
<i>Экстра- есть</i>		1,0
<i>pT1</i>	3,3	1,0
<i>pT2</i>	33,3	2,0
<i>pT3</i>	16,8	8,0
<i>pT4</i>	6,7	0
<i>pN1</i>	<i>по 30,0</i>	10,0
<i>R 0/R1</i>	60,1/0	8,0/3,0
<i>ИГХ</i>	<i>Муцин 2 типа</i>	<i>Муцин 2 типа</i>

Примечание: АК - ампулярная карцинома, ПАК - протоковая аденокарцинома, КиТ - кишечный тип, ОУ - опухолевый узел

Таблица 8

Микроскопическая сравнительная характеристика панкреатобилиарного иммунофенотипа АК и ПАК поджелудочной железы

<i>признак</i>	<i>АК n=12(%)</i>	<i>ПАК n=61(%)</i>
<i>% опухолей ПБТ</i>	40%	61%
<i>Размер ОУ</i>		
<i>до 2 см</i>	30,0	11,0
<i>2,1 - 3,4 см</i>	10,0	27,0
<i>больше 3,4 см</i>	0	23,0
<i>Характеристика эпителия</i>	<i>Базофильная цитоплазма Цилиндрический/Кубический эпителий Ядра от овальной до округлой формы Бокаловидные клетки</i>	<i>Амфифильная/эозинофильная цитоплазма Кубический эпителий Ядра округлой формы</i>
<i>Стромальный компонент</i>	<i>Не выражен</i>	<i>Выраженная десмопластическая реакция</i>
<i>ГЗ</i>		
<i>Grade 1-2</i>	33,3	48,0
<i>Grade 3-4</i>	6,7	13,0
<i>ПНИ</i>		
<i>Интра- (есть)</i>	3,3	57,0
<i>Экстра- (есть)</i>		4,0
<i>pT1</i>	0	5,0
<i>pT2</i>	23,4	17,0
<i>pT3</i>	16,6	36,0
<i>pT4</i>	0	3,0
<i>pN1</i>	6,7	45,0
<i>R0/R1</i>	3,0/37,0	14,0/47,0
<i>ИГХ</i>	<i>сочетание экспрессии муцина 1 и 5 AC типов</i>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ <i>экспрессия только муцина 1 типа - 21%</i> ✓ <i>сочетание экспрессии муцина 1 и 5 AC типов - 40%</i>

Примечание: АК - ампулярная карцинома, ПАК - протоковая аденокарцинома, ПБТ - панкреатобилиарный тип, ОУ - опухолевый узел, UP - гистологическая злокачественность, ИГХ - иммуногистохимия

Как видно из таблиц 7-8 несмотря на то, что опухоли имеют одинаковый иммунофенотип (кишечный и панкреатобилиарные типы), АК и ПАК различаются на гистологическом и иммуногистохимическом уровне. В АК стромальный компонент не выражен, напротив для ПАК поджелудочной железы, вне зависимости от иммунофенотипа, характерна десмопластическая реакция стромы. АК напоминают типичную ворсинчатую аденому толстой кишки. Для ПАК наиболее характерно наличие периневральной инвазии, позитивные края резекции, большие размеры опухоли. Также в АК отсутствует «истинный» панкреатобилиарный тип.

Заключение

Обобщая результаты нашей работы можно заключить, что проблема рака ампулярной и периапулярной локализации приобрела на сегодняшний день особую актуальность вследствие неуклонного роста заболеваемости и смертности, а также в связи с трудностями дифференциальной диагностики, как на дооперационном этапе, так и при морфологическом исследовании. Ампулярные и периапулярные новообразования по частоте распространенности заболевания, потери трудоспособности и инвалидизации являются важной социально-экономической проблемой. В основу работы положены результаты изучения ретроспективного операционного материала от 177 больных.

Двойственный иммунофенотип характерен как для ампулярной карциномы, так и для периапулярных карцином. Исследование еще раз подтверждает, что в повседневной практике необходимо обязательно определять иммунофенотип опухоли при морфологическом исследовании ампулярных карцином на основании экспрессии различных типов муцинов для дифференцированного подхода к лечению данных больных с учетом морфогенеза опухоли.

По нашим данным, кишечный тип ампулярных карцином встречался в два раза чаще по сравнению с панкреатобилиарным типом. При этом, при сравнении панкреатобилиарного типа ампулярной карциномы и периапулярных карцином нами выявлены различия. Так, отсутствие аббераций гена MUC и «истинного» панкреатобилиарного типа (экспрессия муцина 1 типа всегда сочеталась с экспрессией муцина 5 AC типа), подтверждает менее агрессивную биологическую природу ампулярных карцином по сравнению с периапулярными карциномами, в частности с протоковой аденокарциномой поджелудочной железы. Следовательно, ампулярные карциномы кишечного типа развиваются из эпителия боковых поверхностей большого дуоденального сосочка, имея при этом «истинную» кишечную дифференцировку. А опухоли с панкреатобилиарным типом развиваются из гибридного эпителия в интраампулярной области.

Из периапулярных карцином преобладающее место по частоте занимает протоковая аденокарцинома поджелудочной железы. В 85-90% случаев как клинический, так и морфологический диагноз не вызывал трудностей за счет наличия «узнаваемых» морфологических признаков. В связи с развитием эндосонографии на дооперационном этапе встает вопрос о дифференциальной диагностике между псевдотуморозным хроническим панкреатитом, аутоиммунным панкреатитом и протоковым раком поджелудочной железы. Сложность дифференциальной диагностики новообразований поджелудочной железы при толсто-игольных биоптатах (core-biopsy) объясняется ограниченностью поля исследования, выраженностью фиброза железы (до 80% объема всего биоптата), который, как правило, хорошо развит, как при хроническом панкреатите, так и при протоковом раке поджелудочной железы. Именно поэтому одной из задач данной диссертационной работы явилось выделение наиболее значимых клинко-морфологических критериев дифференциальной диагностики хронического панкреатита и протоковой аденокарциномы головки поджелудочной железы на основании исследования операционного материала для дальнейшего их использования при гистологическом исследовании толсто-игольных биопсий (core-biopsy) и/или криостатных срезов (frozen sections) поджелудочной железы.

В настоящее время большинство научных работ сосредоточено на изучении эпителиально-стромальных взаимоотношений, играющих важную роль в прогрессии эпителиальных опухолей в сторону дедифференцированного, т.е. более злокачественного биологического фенотипа. Несмотря на существенный прогресс в хирургическом лечении

протоковой аденокарциномы ПЖ, отдаленные результаты остаются неутешительными. Одной из причин, которые могут объяснить плохой прогноз данного вида карциномы, на наш взгляд, является выраженная десмопластическая реакция стромы опухоли. Она составляет 70 - 80% и является прогностическим фактором. Классический вариант протоковой аденокарциномы поджелудочной железы по своей гистологической структуре, как правило, неоднородная опухоль, представленная полями различной дифференцировки от высокой до низкой, включая анапластический компонент. Выявленная в анапластических клетках диффузная экспрессия с виментином, гладкомышечным актином и рб3 подтверждает, что в процессе потери дифференцировки опухолевые клетки приобретают миоэпителиальный и/или мезенхимальный фенотип. Обнаруженная нами выраженная экспрессия виментина в анапластическом компоненте при классическом варианте ПАК ПЖ свидетельствует о приобретении мезенхимального фенотипа опухолевыми клетками, а также является неблагоприятным фактором для прогноза жизни больных. Так как ПЖ формируется из вентрального и дорсального зачатков, происходящих из эндодермы двенадцатиперстной кишки, в норме для поджелудочной железы не характерна экспрессия виментина.

Повысить долю достоверных и объективных гистологических заключений невозможно без правильно обработанного на макроскопическом этапе органокомплекса. За счет того, что опухоли анатомически располагаются близко относительно друг друга, на макроскопическом этапе возможны ошибки в установлении первичной локализации. Поэтому, еще одной важной задачей данной работы для достижения поставленной цели являлась разработка алгоритма морфологического исследования операционного материала, полученного при хирургических вмешательствах для опухолей панкреатодуоденальной зоны.

Выводы.

1. Амбулярные и периамбулярные карциномы панкреатодуоденальной зоны – это группа злокачественных опухолей, различных по своему морфогенезу и биологическому потенциалу, но близких по анатомической локализации, имеющие четкие макро-, микроскопические, иммуногистохимические дифференциально-диагностические критерии.
2. Амбулярная карцинома и дистальная холангиокарцинома, как правило, однородные по своей гистологической структуре опухоли с минимальным стромальным компонентом. Гетерогенность протокового рака характеризовалась появлением анапластического (саркомоподобного) компонента, в котором прослеживается способность эпителиальных опухолевых клеток приобретать свойства мезенхимальных клеток, не требующих стромы и обладающих агрессивным злокачественным потенциалом.
3. Иммунофенотипы амбулярных и периамбулярных карцином необходимо определять на основании иммуногистохимического исследования экспрессии муцинов 1, 2 и 5АС типов, для выделения «истинного» кишечного и панкреатобилиарного типов. Так для кишечного иммунофенотипа характерна экспрессия муцина 2 типа. Для панкреатобилиарного типа – экспрессия муцина 1 типа или/и коэкспрессия муцина 5 Ас типа.
4. При периамбулярных карциномах поджелудочной железы с кишечным иммунофенотипом выявляется только «неполная» кишечная метаплазия эпителия протоков, приводящей в дальнейшем к развитию рака, а не «истинная» кишечная дифференцировка опухоли, что диктует необходимость индивидуального подхода к тактике лечения данных групп больных.
5. В амбулярных карциномах профиль гена МУС – диплоидный, вне зависимости от иммунофенотипа и степени гистологической злокачественности. Напротив, в периамбулярных карциномах имеет место амплификация гена МУС. Выявленные молекулярные нарушения подтверждают агрессивную природу периамбулярных карцином с истинным панкреатобилиарным типом эпителия по сравнению с кишечным или гибридным в амбулярных карциномах.
6. Достоверными гистологическими признаками дифференциальной диагностики хронического панкреатита и периамбулярных карцином, а именно аденокарцином протокового типа при использовании на материале core-биопсий или криостатных срезов считаются: архитектура (дольковая, рассеянная), форма желез (правильная, неправильная/уродливая; полная, неполная), стромальный компонент (упорядочный, не упорядочный (хаотичный), фигуры митоза).
7. Применение унифицированного алгоритма макроскопического исследования и протоколов диссекции органокомплекса является ключевым моментом в дифференциальной диагностике амбулярных и периамбулярных карцином и корректном заключительном морфологическом диагнозе.

Практические рекомендации

1. Анапластический компонент является частью классической протоковой аденокарциномы, который необходимо выделять при минимальном его объеме от общей массы опухоли, поскольку в нем проявляется эпителиально-мезенхимальный переход в виде приобретения опухолевыми клетками миепителиальных и мезенхимальных свойств.
2. Разработанные клиничко-морфологические критерии дифференциальной диагностики хронического панкреатита и протоковой аденокарциномы поджелудочной железы на основании исследования операционного материала для дальнейшего их использования при гистологическом исследовании толсто-игольных биопсий (core-biopsy) или криостатных срезов (frozen sections) поджелудочной железы позволяют более объективно и унифицировано подойти к исследованию материала ПЖ, тем самым уменьшая процент гипер- или гиподиагностики.
3. Соблюдение в повседневной работе последовательного алгоритма исследования операционного материала с подробным, как макроскопическим, так и микроскопическим анализом играет ведущую роль для постановки более объективного, достоверного и точного диагноза после проведенного хирургического лечения. Точное определение стадии онкологического процесса позволяет выбрать наиболее правильную тактику дальнейшего лечения больного.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АК – ампулярная карцинома

ВПМО – внутривнутрипротоковая папиллярная муцинозная опухоль

ГПДР – гастропанкреатодуоденальная резекция

ГПП – главный панкреатический проток

ДХК – дистальная холангиокарцинома

ИГХИ – иммуногистохимическое исследование

КиТ – кишечный иммунофенотип

ОЖП – общий желчный проток

ПАК – протоковая аденокарцинома

ПБТ – панкреатобилиарный иммунофенотип

ПДК – панкреатодуоденальный комплекс

ПЖ – поджелудочная железа

РПЖ – рак поджелудочной железы

ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход

Список работ, опубликованных по теме диссертации
Статьи в журналах, включенных в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук

1. Характеристика фиброза при хроническом панкреатите / Паклина О.В., Чекмарева И.А., Туманова Е.Л., **Сетдикова Г.Р.** // Архив патологии. - 2009. - № 3. С. 7-12.
2. Иммуноморфологическое исследование внеклеточного матрикса при хроническом панкреатите / Никитин П.Н., Паклина О.В., Туманова Е.Л., **Сетдикова Г.Р.** // Вестник Российского государственного медицинского университета. - 2010. - № 4. - С. 67-70.
3. Поражение нервных стволов при хроническом панкреатите / Паклина О.В., Чекмарева И.А., **Сетдикова Г.Р.**, Никитин П.Н., Шабунин А.В., Бедин В.В., Тавобилов М.М. // Анналы хирургической гепатологии. - 2011. - Т. 16. - № 3. С. 95-101.
4. Роль матриксных металлопротеиназ при протоковой аденокарциноме поджелудочной железы / Цыганов С.Е., Паклина О.В., **Сетдикова Г.Р.**, Шабунин А.В., Бедин В.В., Тавобилов М.М., Никитин П.Н.// Архив патологии. - 2012. - Т. 74. № 1. - С. 16-18.
5. Морфологическая характеристика кистозных опухолей поджелудочной железы / Паклина О.В., **Сетдикова Г.Р.**, Чекмарева И.А. // Анналы хирургической гепатологии. - 2012. - Т. 17. - № 1. - С. 26-34.
6. Гистогенез эпителиального и стромального компонентов протоковой аденокарциномы поджелудочной железы / **Сетдикова Г.Р.**, Паклина О.В., Чекмарева И.А., Гордиенко Е.Н. // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. - 2013. - Т. 8. № 4. С. 78-81.
7. Разработка математической модели прогнозирования продолжительности жизни больных раком поджелудочной желез /Тавобилов М.М., Бедин В.В., **Сетдикова Г.Р.**, Шабунин А.В., Паклина О.В., Хатьков И.Е., Израйлов Р.Е.//Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова.- 2013. - Т. 8. - № 1. - С. 103-106.
8. Прогностическая ценность внутриклеточных муцинов при протоковом раке поджелудочной железы / **Сетдикова Г.Р.**, Тавобилов М.М., Израйлов Р.Е., Бедин В.В., Паклина О.В., Шабунин А.В., Хатьков И.Е.// Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. - 2013. - Т. 8. - № 1. - С. 99-102
9. Структурно-функциональное состояние стромы и капилляров при хроническом панкреатите / Чекмарева И.А., Никитин П.Н., Паклина О.В., Захарова О.А., **Сетдикова Г.Р.** // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. 2013. - № 4. - С. 34-37.

10. Редкие формы протоковой карциномы поджелудочной железы /**Сетдикова Г.Р.**, Филиппова Е.М., Паклина О.В., Кригер А.Г., Чекмарева И.А., Горин Д.С., Берелавичус С.В., Бедин В.В., Тавобиллов М.М.//Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. - 2013. - № 6. - С. 4-7.
11. Методология исследования операционного материала при карциноме ампулярной области / Паклина О.В., **Сетдикова Г.Р.**, Шабунин А.В., Бедин В.В., Тавобиллов М.М. //Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. - 2014. - № 4. - С. 22-28.
12. Истинные (первичные) внутрипротоковые опухоли поджелудочной железы / **Сетдикова Г.Р.**, Паклина О.В., Шабунин А.В., Бедин В.В., Тавобиллов М.М., Хатьков И.Е., Израилов Р.Е., Лядов В.К. // Хирург. - 2014. - № 4. - С. 58-66.
13. Морфологические и молекулярно-биологические особенности ампулярной карциномы / Паклина О.В., **Сетдикова Г.Р.**, Шабунин А.В., Хатьков И.Е., Бедин В.В., Израилов Р.Е., Тавобиллов М.М., Забежинский Д.А., Кривоусков В.А.//Хирург. - 2014. - № 2. - С. 4-12.
14. Аденокарцинома малого дуоденального сосочка / Шабунин А.В., Паклина О.В., **Сетдикова Г.Р.**, Тавобиллов М.М., Греков Д.Н., Гордиенко Е.Н.//Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. 2015. - № 3. - С. 11-17.
15. Морфологическая оценка распространенности протоковой аденокарциномы поджелудочной железы / **Сетдикова Г.Р.**, Паклина О.В., Шабунин А.В., Бедин В.В., Тавобиллов М.М., Хатьков И.Е., Израилов Р.Е.//Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. - 2015. - № 1. - С. 130-136.
16. Алгоритм диссекции опухолей протоковой системы поджелудочной железы / Паклина О.В., **Сетдикова Г.Р.** //Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2015. - № 3 - С. 121-128.
17. Роль микросателлитной нестабильности при ампулярной карциноме / Паклина О.В., **Сетдикова Г.Р.**, Даабуль А.С., Шубин В.П., Поспехова Н.И., Ротин Д.Л.//Фарматека. - 2016. - № 8 - С. 80-84.
18. Хронический панкреатит или протоковая аденокарцинома поджелудочной железы? /Паклина О.В., **Сетдикова Г.Р.**, Чекмарева И.А.//Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова. - 2016. - № 1. - С. 6-18.
19. Морфологическое обоснование применения интраоперационной лучевой терапии для профилактики локорегионального рецидива у больных с протоковой аденокарциномой поджелудочной железы /**Сетдикова Г.Р.**, Карпов А.А., Паклина О.В., Кнышинский Г.В., Тавобиллов М.М., Шабунин А.В.// Злокачественные опухоли. - 2017. - № 1 - С. 52-60.

20. Анатомические вариации протоковой системы поджелудочной железы в нашей популяции. /**Сетдикова Г.Р.**, О.В.Паклина //Морфологические ведомости. – 2017. - №4. - С 18-21 .
21. Иммунофенотип ампулярного и периапулярного рака во взаимосвязи с гистогенезом панкреатодуоденальной зоны./ Паклина О.В., **Сетдикова Г.Р.**, Мнихович М.В. //журнал анатомии и гистопатологии. – 2018. - №2. – С.63-68.

Другие публикации

22. Гистологические и ультраструктурные критерии злокачественности протоковой аденокарциномы поджелудочной железы / Чекмарева И.А., **Сетдикова Г.Р.**, Паклина О.В., Гордиенко Е.Н., Тавобиллов М.М. //Клиническая и экспериментальная морфология. 2013. - № 3 - С. 9-15.
23. Вариант внутрипротоковой опухоли поджелудочной железы с тубулопапиллярным ростом и скудной выработкой муцина / Паклина О.В., **Сетдикова Г.Р.**, Гордиенко Е.Н., Артемьев А.И. //Клиническая и экспериментальная морфология. - 2013. - № 4 (8). - С. 22-26.
24. Методология исследования операционного материала при протоковом раке поджелудочной железы / Паклина О.В., **Сетдикова Г.Р.** //Клиническая и экспериментальная морфология. - 2014. - № 1. - С. 42-49.
25. Онкоцитарный вариант внутрипротоковой папиллярной опухоли желчного протока /Шабунин А.В., Паклина О.В., **Сетдикова Г.Р.**, Тавобиллов М.М., Араблинский А.В., Лебедев С.С., Греков Д.Н.//Медицинская визуализация. - 2015. - № 5. - С. 45-51.
26. Integrated genomic characterization of pancreatic ductal adenocarcinoma / Raphael B.J., Hruban R.H., Paklina O., Potapova O., Ramalingam S., Rathmel W.K., rieger-christ K., Saller C., **Setdikova G.**, et al. // Cancer Cell. - 2017. - Т. 32. - № 2. - С. 185-203.e13
27. Вторичные опухоли поджелудочной железы: описание случаев и обзор литератур/**Сетдикова Г.Р.**, Паклина О.В., Ротин Д.Л.// Злокачественные опухоли. - 2014. - № 2 (9). - С. 11-23.
28. Внутрипротоковая тубулопапиллярная опухоль поджелудочной железы: обзор литературы и описание клинического наблюдения /Паклина О.В., Шабунин А.В., **Сетдикова Г.Р.**, Кармазановский Г.Г., Бедин В.В., Тавобиллов М.М. //Медицинская визуализация. 2013. - № 5. - С. 87-92.
29. Margin involvement in ductal pancreatic cancer. / **Сетдикова Г.Р.**, Тавобиллов М.М., Восканян С.Э., Паклина О.В., Шабунин А.В. // Российско-германский медицинский форум "Фундаментальные основы и новые технологии в лечении заболеваний поджелудочной железы 2013" , С.75

30. Ген МУС в карциномах большого дуоденального сосочка и протоковой аденокарциномы поджелудочной железы. / **Сетдикова Г.Р.**, Тавобиллов М.М., Восканян С.Э., Паклина О.В // Российско-германский медицинский форум "Фундаментальные основы и новые технологии в лечении заболеваний поджелудочной железы 2013" , С.98
31. Metastases to the pancreas from colorectal cancer: A Case Report/ Паклина ОВ, **Сетдикова ГР**, Васканян СЭ// Hepato-gastroenterology 2012 – S1 – P.60
32. Критерии злокачественности протоковой аденокарциномы поджелудочной железы” /О.В.Паклина, **Г.Р.Сетдикова**, И.А.Чекмарева, Е.Н.Гордиенко// Ж."Злокачественные опухоли", №2, 2013" с. 153
33. Метастатическое поражение поджелудочной железы: описание случаев и обзора литературы" / **Г.Р.Сетдикова**,О.В.Паклина,Артемов А.И.,Хисамов А.А// Ж."Злокачественные опухоли", №2, 2013" с. 153-154
34. Evaluation of epithelial and stromal component in pancreatic ductal adenocarcinoma O. Paklina **G. Setdikova**, D. Roti // J. Virchows Archiv – 2014 – T.465 – P.302
35. True (primary) intraductal tumours of the pancreas O. Paklina **G. Setdikova**, D. Rotin // J. Virchows Archiv – 2014 – T.465 – P.302
36. Онкоцитарный вариант внутрипротоковой папиллярной опухоли желчного протока/ ОВ Паклина, АВ Шабунин, **ГР Сетдикова** ММ Тавобиллов// Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 2015 года «Современное состояние диагностики и лечения опухолей панкреатодуоденальной зоны» С.93
37. Эпителиальный и стромальный компоненты при протоковом раке поджелудочной железы/ **ГР Сетдикова** ОВ Паклина ИА Чекмарева, ЕН Гордиенко// Сборник научных трудов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, 2015 года «Современное состояние диагностики и лечения опухолей панкреатодуоденальной зоны» С.108
38. Морфологическое обоснование эффективности применения интраоперационной лучевой терапии при протоковом раке поджелудочной железы с наличием экстрапанкреатической перинеуральной инвазии. /АВ. Шабунин, ОВ Паклина, ММ Тавобиллов, ИА Чекмарева, ВВ Бедин, **ГР Сетдикова**, АА Карпов// Сборник научных работ III Петербургского международного онкологического форума "белые ночи 2016". С.323
39. Роль микросателлитной нестабильности при ампулярной карциноме/ ОВ Паклина **ГР Сетдикова** А. В. Шабунин, , ММ Тавобиллов, АА Карпов// Сборник научных работ III Петербургского международного онкологического форума "белые ночи 2016". С.324
40. Эпителиальный и стромальный компоненты при протоковой аденокарциноме поджелудочной железы/ **ГР Сетдикова** ОВ Паклина А. В. Шабунин, ММ

Тавобилов, АА Карпов// Сборник научных работ III Петербургского международного онкологического форума "белые ночи 2016". С.324 -325

41. Morphological background of intraoperative radiation therapy appliance to prevent locoregional progression in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma/ **Setdikova G.R.**, Karpov A.A., Paklina O.V., Tavobilov M.M., Shabunin A.V.// J.Virchows Arch – 2017 – P.324

Патенты РФ на изобретение

1. Способ исследования опухоли поджелудочной железы, способ исследования резецированного органокомплекса и его применение: пат. №2568766 Рос. Федерация; МПК51 А 61В 17/00 авторы и патентообладатели Паклина ОВ, Сетдикова ГР, Бедин ВВ, Тавобилов ММ - № 2014106342/14; завл. 20.02.2014; опубл. 20.11.2015 Бюл № 32.
2. Способ исследования операционного материала при карциноме ампулярной области: пат. №2583887 Рос. Федерация; МПК51 G01N 33/50 авторы и патентообладатели Паклина ОВ, Сетдикова ГР, Гордиенко ЕН - № 2014144508/15; завл. 31.12.2014; опубл. 10.05.2016 Бюл № 13.