

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт морфологии человека имени
академика А.П. Авцына»

На правах рукописи

Вандышева Росица Андреевна

**ЗУБЧАТЫЕ ПОРАЖЕНИЯ ТОЛСТОЙ КИШКИ. КЛИНИКО-
МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА**

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

3.3.2 – патологическая анатомия

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Людмила Михайловна Михалёва

Москва, 2021

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	5
Актуальность темы	5
Глава 1. Литературный обзор.....	14
1.1. История изучения зубчатых поражений толстой кишки.....	17
1.2. Клинические и морфологические критерии зубчатых поражений толстой кишки.....	19
1.3. Гиперпластические полипы толстой кишки	22
1.4. Сидячие зубчатые поражения и сидячие зубчатые поражения с дисплазией толстой кишки	25
1.5. Традиционные зубчатые аденомы толстой кишки.....	31
1.6. Иммуногистохимический профиль зубчатых поражений толстой кишки	33
Маркер пролиферативной активности Ki67.....	34
Цитокератин 20 (CK20)	35
Муцины	36
Микросателлитная нестабильность	38
1.7. Зубчатый путь канцерогенеза и его генетические характеристики.....	38
Глава 2. Материалы и методы.....	45
Молекулярно-генетическое исследование	47
Анализ медицинской документации.....	50
Статистическое исследование	51
Глава 3. Результаты исследования	53
3.1. Клинические и половозрастные данные зубчатых поражений толстой кишки.....	53
3.1.1. Множественные зубчатые поражения толстой кишки	64

3.1.2. Сочетание с другими поражениями толстой кишки	65
3.2. Микроскопическая характеристика зубчатых поражений толстой кишки	66
3.2.1. Гиперпластические полипы	66
3.2.2. Сидячие зубчатые поражения толстой кишки	69
3.2.3. Традиционные зубчатые аденомы.....	75
3.3. Анализ иммуногистохимических особенностей зубчатых поражений толстой кишки	79
3.3.1. Оценка экспрессии с антителами к MUC2, MUC6 и MUC5AC	79
3.3.2. Оценка экспрессии с антителами к CK20.....	88
3.3.2. Оценка экспрессии с антителами к маркеру пролиферативной активности Ki67	91
3.3.3. Статистический анализ результатов	94
3.4. Результаты молекулярно-генетического исследования зубчатых поражений толстой кишки	95
3.4.1. Результаты генетического исследования на наличие мутации генов <i>BRAF</i> , <i>KRAS</i> и <i>NRAS</i> в гиперпластических полипах, сидячих зубчатых поражениях и традиционных зубчатых аденомах толстой кишки	95
3.4.2. Результаты иммуногистохимического исследования на наличие микросателлитной нестабильности в гиперпластических полипах, сидячих зубчатых поражениях и традиционных зубчатых аденомах толстой кишки	97
3.4.3. Сопоставление результатов молекулярно-генетического исследования на наличие мутации генов <i>BRAF</i> , <i>KRAS</i> , <i>NRAS</i> и микросателлитной нестабильности с иммуногистохимическим профилем гиперпластических полипов, сидячих зубчатых поражений и традиционных зубчатых аденом толстой кишки	102

Глава 4. Зубчатые поражения червеобразного отростка.....	105
Глава 5. Обсуждение результатов	120
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	137
ВЫВОДЫ.....	139
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	141
Список сокращений	144
Список литературы	145

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

В соответствии с новой классификацией опухолевых новообразований органов пищеварения Всемирной организации здравоохранения от 2019 года зубчатые аденомы толстой кишки получили название «зубчатые поражения» толстой кишки (ЗП) – группа новообразований, являющихся предшественниками колоректального рака (КРР). Общий гистологический признак всех ЗП – зубчатый (или пилообразный) профиль поверхностного эпителия и крипт. Различают следующие типы ЗП: гиперпластические полипы (ГП); гиперпластические полипы микровезикулярного типа (МВГП); гиперпластические полипы богатые бокаловидными клетками (ББГП); сидячие зубчатые поражения (СЗП); сидячие зубчатые поражения с дисплазией; традиционные зубчатые аденомы (ТЗА)[217]. Особое место среди ГП занимает МВГП, обладающий способностью трансформироваться в СЗП, которые наряду с ТЗА являются предшественниками зубчатых аденокарцином (ЗА) толстой кишки [125, 179]. ЗА составляют от 10% до 30% всех КРР [29].

КРР – это одно из самых часто встречающихся злокачественных новообразований во всем мире (3-е место). В России КРР находится на 5-ом месте у мужчин и на 4-ом месте у женщин [9, 20]. Большая часть КРР, трансформировавшихся из ЗП по зубчатому пути канцерогенеза, располагаются в правой половине толстой кишки, что вызывает большие трудности для обнаружения и выявляются только на поздних стадиях [31]. На сегодняшний день сохраняются сложности при патоморфологическом исследовании типов ЗП толстой кишки, так их часто диагностируют как гиперпластические полипы или просто полипы [98]. Для лечащего врача крайне важно знать молекулярно-генетические характеристики, влияющие на выбор способа дальнейшего лечения и прогноза заболевания. Поэтому актуальным вопросом в практике врача-патологоанатома является способ дифференциальной диагностики типов ЗП и их иммуногистохимический фенотип.

Известно, что гомеостаз в кишечном эпителии зависит от строго регулируемого баланса между пролиферирующими, дифференцирующимися и апоптотическими клетками. При патоморфологическом исследовании гистологических срезов ЗП, выявляются изменения в зонах пролиферации, однако четко оценить степень выраженности и различия в морфологических типах возможно только с помощью иммуногистохимического маркера Ki67 [17]. Желудочная дифференцировка зубчатых новообразований была описана в 1999 году на основании иммуногистохимической реакции с «human gastric mucin». На наш взгляд в настоящее время недостаточно широко изучена реакция не только с антителами к муцинам желудочного типа MUC5AC и MUC6, но и толстокишечного типа MUC2 в ЗП различных типов [14]. Имеются единичные литературные данные о значимой разнице между типами ЗП в локализации в экспрессии маркера CK20 [13]. Особенности фенотипа ЗП при наличии мутации в генах *KRAS*, *BRAF* и *NRAS*, и микросателлитной нестабильности лишь отрывочно представлены в литературе [11, 42, 135]. Несмотря на имеющиеся данные до сих пор не изучен фенотип ЗП и не сформулировано единого структурированного подхода к дифференциальной диагностике типов ЗП с использованием иммуногистохимических (ИГХ) и молекулярно-генетических методов.

Предполагается, что применение ИГХ и молекулярно-генетических маркеров даст возможность комплексно представить иммунофенотип, гистогенез ЗП и значение мутаций генов *KRAS*, *BRAF* и *NRAS* для прогноза заболевания, и их способность к злокачественной трансформации.

Комплексный подход в изучении ЗП толстой кишки позволит представить объективные дифференциально-диагностические критерии всех типов ЗП и уточнить путь зубчатого канцерогенеза, что, несомненно, имеет важное значение как для фундаментальной, так и для практической медицины. Кроме того, необходимо провести сравнительную характеристику типов ЗП в зависимости от экспрессии маркеров MUC2, MUC5AC, MUC6, Ki67, CK20,

наличия/отсутствия мутации генов *KRAS*, *BRAF* и *NRAS*, а также микросателлитной нестабильности, что найдет свое отражение в разработке алгоритма дифференциальной диагностики ЗП.

Степень разработанности темы исследования

На сегодняшний день не описаны четкие критерии для дифференциальной диагностики типов зубчатых поражений толстой кишки. При сформированных морфологических критериях не всегда удается четко определить тип зубчатого поражения в практической деятельности врача-патологоанатома. Это связано, в первую очередь, с тем, что зубчатые поражения имеют крайне малые размеры, из-за чего не всегда возможно сориентировать их правильно при заливке в парафиновые блоки. С клинικο-морфологической точки зрения данные образования за счет небольших размеров часто остаются недооцененными, и нередко их упускают при колоноскопии, либо трактуют как гиперпластические полипы, которые по существующим рекомендациям, не требуют обязательного удаления. Однако имеются исследования, в которых микровезикулярные гиперпластические полипы вызывают наибольшую настороженность, так как они являются промежуточным этапом в развитии сидячих зубчатых поражений и традиционных зубчатых аденом. Важным моментом в канцерогенезе по зубчатому пути является этап трансформации сидячих зубчатых поражений и традиционных зубчатых аденом в стадию с наличием низкой (low-grade) или высокой (high-grade) степени диспластических изменений.

Несмотря на рост числа публикаций, в которых рассматриваются морфологические критерии зубчатых поражений, включая обновленную классификацию Всемирной организации здравоохранения от 2019 года, вопрос о дополнительных способах диагностики остается открытым. Отсутствуют исследования, посвященные определению диагностической панели для выявления различий типов зубчатых поражений толстой кишки. Известно, что зубчатый путь характеризуется желудочной дифференцировкой

с характерным появлением экспрессии маркеров MUC5AC, и реже MUC6. Колоректальные раки с мутацией гена *BRAF* имеют повышенную экспрессию MUC2. Экспрессия CK20, выявляемая только в верхней части крипты и поверхностном эпителии нормальной слизистой оболочки толстой кишки, а также маркера пролиферативной активности Ki67 изменяются в зависимости от типа зубчатого поражения. ИГХ метод исследования с маркерами MUC2, MUC5AC, MUC6, Ki67, CK20 позволит уточнить пути развития зубчатых поражений, а также выявить актуальные критерии для их дифференциальной диагностики.

С патогенетической точки зрения для зубчатых поражений наиболее характерными изменениями считаются появления мутации гена *BRAF*, реже *KRAS* и микросателлитной нестабильности. Стоит отметить, что каждый из типов зубчатого поражения имеет свой особенный молекулярный путь при однотипности гистологических черт. Возможно, что эти различия обусловлены этапами эмбриональной закладки толстой кишки и, соответственно, зависят от того, в каком отделе толстой кишки развиваются новообразования. Полученные к настоящему времени данные, не позволяют полноценно описать различия каждого из типов зубчатого поражения с точки зрения патогенеза, и представить наиболее значимые для практического применения в патологической анатомии способы дифференциальной диагностики.

Цель исследования

Определение клинико-морфологических особенностей и молекулярно-генетических характеристик зубчатых поражений толстой кишки и их роли в канцерогенезе.

Задачи исследования

1. Провести клинико-морфологическую диагностику зубчатых поражений толстой кишки.

2. Определить иммуногистохимический фенотип зубчатых поражений толстой кишки с маркерами MUC2, MUC5AC, MUC6, Ki67 и CK20.

3. Определить частоту мутации генов *KRAS*, *BRAF* и *NRAS* в общей структуре зубчатых поражений толстой кишки и в их типах.

4. Выявить микросателлитную нестабильность с помощью иммуногистохимического метода с маркерами MLH1, PMS2, MSH2 и MSH6 в зубчатых поражениях толстой кишки.

Научная новизна

Впервые на большом клиническом материале представлена клинικο-морфологическая и эндоскопическая характеристика зубчатых поражений толстой кишки и их гистологических типов.

Впервые проведено исследование зубчатых поражений толстой кишки с сопоставлением полученных клинικο-морфологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических данных для определения фенотипа зубчатых поражений.

Впервые разработан алгоритм клинικο-морфологической дифференциальной диагностики зубчатых поражений с применением иммуногистохимических маркеров, а также с учетом наличия/отсутствия мутаций генов *KRAS*, *BRAF* и *NRAS*.

На основании результатов молекулярно-генетического исследования уточнены основные звенья патогенеза зубчатых поражений и их роли в канцерогенезе.

Теоретическая и практическая значимость

Проведенное комплексное клинικο-патоморфологическое исследование позволило полноценно охарактеризовать каждый тип зубчатых поражений толстой кишки в зависимости от клинических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических характеристик.

Полученные результаты способствуют уточнению механизмов канцерогенеза колоректального рака по зубчатому пути. Представлено, что микровезикулярный гиперпластический полип является промежуточным этапом как для дальнейшего развития сидячих зубчатых поражений, так и традиционных зубчатых аденом, что основано на изучении частоты мутации генов *BRAF* и *KRAS*.

Проведенное клинико-морфологическое исследование на большом клиническом материале определило значимость пола, размера и локализации для каждого типа зубчатых поражений толстой кишки.

Представленный иммунофенотип всех типов зубчатых поражений толстой кишки в сочетании с мутациями генов *BRAF* и *KRAS* позволит обосновано эндоскопистам, хирургам и онкологам проводить персонифицированные диагностические и лечебные мероприятия.

Методология и методы исследования

Моделирование дизайна исследования было проведено при участии диссертанта и в полном соответствии с поставленными целями и задачами. Методология диссертационного исследования основана на комплексном клинико-морфологическом подходе в изучении зубчатых поражений толстой кишки, а именно: клинико-морфологическом, иммуногистохимическом и молекулярно-генетическом исследовании трех гистологических типов зубчатых поражений толстой кишки и сопоставлении полученных результатов. Первоначальное выполнение патоморфологического исследования позволило распределить на три гистологических типа зубчатые поражения толстой кишки, собраны клинико-анамнестические и эндоскопические данные, проведены иммуногистохимическое и молекулярно-генетическое исследования.

Положения, выносимые на защиту

1. Зубчатые поражения толстой кишки диагностируются у пациентов старше 55 лет и в 1,5 раза чаще поражают женщин ($p < 0,05$). В правых отделах толстой кишки развиваются преимущественно сидячие зубчатые поражения со средним размером 8,2 мм, в левых – традиционные зубчатые аденомы и гиперпластические полипы со средними размерами 16,3 мм и 6,2 мм соответственно ($p < 0,05$), макроскопически зубчатые поражения имеют характерный 0-Па тип по Парижской эндоскопической классификации.
2. Зубчатые поражения толстой кишки имеют иммунофенотипические признаки как толстокишечной дифференцировки (выраженная экспрессия более 50% всех клеток маркеров MUC2 и CK20), так и желудочной дифференцировки (появление экспрессии MUC5AC и MUC6, очаговое Шифф-позитивное окрашивание). Экспрессия MUC6 характерна только для сидячих зубчатых поражений толстой кишки.
3. Зубчатый путь канцерогенеза характеризуется преимущественным наличием мутации гена *BRAF* (37,7%), реже - гена *KRAS* (17,4%), и микросателлитной нестабильности высокой степени. Путь малигнизации сидячих зубчатых поражений связан с наличием мутации гена *BRAF* (53,8%) и микросателлитной нестабильности высокой степени (34,8%), традиционных зубчатых аденом - с мутацией гена *KRAS* (47,1%) и микросателлитной нестабильности высокой степени (40%). Выявленные мутации генов *KRAS* (15,4%), *BRAF* (38,5%) и микросателлитная нестабильность (60%) в гиперпластических полипах толстой кишки подтверждает их роль в зубчатом канцерогенезе.

Степень достоверности и апробация работы

Проведенное исследование было выполнено на достаточном объеме материала для каждой исследованной группы, задачи исследования логично изложены, достоверность результатов подтверждается выбором методов и

результатами статистического исследования, а также сравнительной оценкой полученных данных с литературными.

Основные положения диссертационного исследования были доложены и обсуждались на 28th European Congress of Pathology (Cologne, 25-29 сентября 2016 г.), V Съезде Российского общества Патологоанатомов (Челябинск, 1-4 июня 2017 г.), 29th European Congress of Pathology (Amsterdam, 2-6 сентября 2017 г.), IV Российско-Японском научно-образовательном семинаре по программе ТТТ с прямой видеотрансляцией “Сложные и нерешенные вопросы диагностики и лечения заболеваний пищевода, желудка и толстой кишки” (Москва, 29-30 января 2018 г.), Международной научной конференции «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 1-2 ноября 2018 г.), I Крымском форуме «Онкология, патоморфология и патофизиология: от теории к практике» (Крым, 7-8 октября 2020 г.), Международной научной конференции «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 12-13 ноября 2020 г.).

Личный вклад автора

Автор диссертации самостоятельно осуществил сбор литературных данных, проанализировал и обобщил их, участвовал в отборе материала, анализе и получении анамнестических и клинических данных, проведении морфометрии ИГХ реакций, статистической обработке, обобщении и обсуждении полученных результатов, подготовке публикаций.

Публикации по теме работы

Результаты исследования изложены в 11 работах, 4 из которых опубликованы в журналах RSCI WoS (1), Scopus (3), входящих в перечень рецензируемых научных изданий ВАК, где должны быть размещены основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук. Получен 1 патент на изобретение.

Внедрение результатов в практику

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

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 174 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, практических рекомендаций, выводов и списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 51 рисунками и 10 таблицами. Список литературы включает 217 источников, из них 27 отечественных и 190 зарубежных.

Диссертация соответствует паспорту специальности: 3.3.2 - патологическая анатомия.

Глава 1. Литературный обзор

Зубчатые поражения (ЗП, синонимы зубчатые аденомы, зубчатые новообразования, полипы до 2019 года) – это группа предраковых поражений толстой кишки, которые обладают особенной морфологической структурой - зубчатым (пилообразный / в виде зубчиков пилы) профилем поверхностного эпителия и крипт и отличными молекулярно-генетическими механизмами развития. Особую настороженность данные образования вызывают в связи с высоким риском быстрой малигнизации и являются предметом активного изучения в патоморфологии. По макроскопической структуре – это полиповидные образования, чаще всего плоско-приподнятого вида, имеющие небольшие размеры, что вызывает трудности при эндоскопической диагностике. ЗП долгое время оставались недооценёнными и диагностировались исключительно как гиперпластические полипы без способности к малигнизации.

ЗП были выделены в отдельную группу только в 2010 году в классификации новообразований органов пищеварительной системы Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [50, 184]. Выделяют три гистологических типа ЗП: гиперпластические полипы (ГП), сидячие зубчатые аденомы/полипы (СЗА/П) и традиционные зубчатые аденомы (ТЗА). В 2019 году вышло 5-ое обновленное издание классификации новообразований органов пищеварительной системы, в которой в группе эпителиальных новообразований толстой кишки трактовка зубчатых новообразований претерпели некоторые изменения (таблица 1) [145, 217].

Таблица 1 – Обновленная классификация зубчатых новообразований толстой кишки Всемирной организации здравоохранения (2019)

Доброкачественные эпителиальные опухоли и предшественники рака			
Зубчатые поражения толстой кишки			
1	2	3	4
Гиперпластический полип • Микровезикулярный тип • Богатый бокаловидными клетками тип	Сидячие зубчатые поражения без и с дисплазией (высокой/низкой)	Традиционные зубчатые аденомы без и с дисплазией (высокой/низкой)	Неклассифицируемые зубчатые аденомы

В первую очередь это касается терминологии сидячих зубчатых аденом/полипов – по современным рекомендациям их следует именовать как сидячие зубчатые поражения (СЗП). Вместо сидячих зубчатых аденом с цитологической атипией теперь используется термин СЗП с дисплазией. Во-вторых, ГП включают только 2 типа вместо 3-х. Изменения не коснулись терминологии ТЗА, для них определены более четкие критерии, которые могут быть использованы при патоморфологической диагностике [159, 217]. Группа неклассифицируемых зубчатых аденом была введена для образований, которые сложно дифференцировать между ТЗА и СЗП, и при этом редко, но встречаются в практике врача патологоанатома[145].

По современным данным ЗП толстой кишки являются предшественниками приблизительно около 30% от всех случаев КРР, развивающихся по альтернативному «зубчатому» пути канцерогенеза [38, 68, 162, 215]. Доказан злокачественный потенциал двух гистологических типов – СЗП и ТЗА. В то же время возможность малигнизации самих ГП остается спорной, чаще ГП рассматривают как промежуточное звено в процессе зубчатого пути канцерогенеза.

К основному этиологическому фактору развития ЗП и их трансформации в КРР относят нарушения в генетической структуре [110, 160, 175, 206].

Как известно, КРР может развиваться по трем путям канцерогенеза: традиционному, зубчатому и альтернативному [122, 169]. Зубчатый путь имеет сложный механизм, во многом до сих пор не ясный, в основном характеризующийся первоначальными генетическими и эпигенетическими молекулярными нарушениями. Иницирующими являются взаимоисключающие мутации в гене *BRAF*, реже для ЗП – *KRAS*.

Исследования Богомоловой И. А. с соавторами показали, что наличие мутаций EGFR-сигнального пути (*KRAS*, *BRAF* и *NRAS*) в предраковых поражениях и раке толстой кишки повышает риск развития рецидива КРР и является неблагоприятным прогностическим фактором в целом [4]. В работах Gao Q. et al. (2015 год) показано, что возможность развития синхронного КРР у пациентов с диагностированными ранее ЗП возрастает более чем в 2 раза [75]. Особенно важно обращать внимание на размер (более 10 мм) и правостороннюю локализацию удаленных ЗП [30, 132, 173]. В то же время обнаружение множественных ЗП – зубчатого полипоза – также повышает риск развития как повторных доброкачественных новообразований, так и КРР [30, 59, 97].

Стоит отметить, что проблема исследования КРР крайне актуальна. Согласно статистике на 2018 г., приведенной Всемирной организацией здравоохранения, КРР находится на 3-м месте в мире по распространенности и на 2-м – по смертности [51]. В России КРР на сегодняшний день занимает 3 место, а в период с 2006 по 2016 год заболеваемость им выросла в 1,5 раза [9]. Большая часть (около 80%) злокачественных новообразований толстой кишки носит спорадический характер развития, среди которых 10% составляют ЗА [207].

Поэтому крайне важно, чтобы ЗП были выявлены на этапе диагностической колоноскопии и правильно классифицированы врачами-патологоанатомами. Для этого, особенно практикующим патологоанатомам, необходимо придерживаться строгих критериев и быть в курсе новых методов диагностики ЗП, обладать знаниями о необходимой в работе иммуногистохимической панели антител для постановки диагнозов, иметь четкое представление о патогенезе, в том числе и о генетических методах диагностики.

1.1. История изучения зубчатых поражений толстой кишки

Первое предположение о том, что часть гиперпластических полипов толстой кишки может быть предшественниками аденом сделали Goldman H. et al. еще в 1970 году [78]. В 1984 году Urbanski S. J. et al. описали полип, имеющий признаки аденомы с участками малигнизации, на основании этого исследования авторы пришли к выводу, что некоторые гиперпластические полипы могут быть предшественниками аденом [199].

Интерес многих исследователей был связан с изучением гистогенеза ГП, и особенно с их необычным пилообразным профилем. Как известно, гомеостаз в кишечном эпителии зависит от строго регулируемого баланса между пролиферирующими, дифференцирующимися и апоптотическими клетками [33]. Пролиферативная зона у основания крипт состоит из эпителиальных клеток-предшественников, которые сохраняют способность к делению. Когда клетки мигрируют вдоль оси крипты к поверхностному эпителию, они продолжают дифференцироваться и становиться зрелыми всасывающими и бокаловидными клетками. В норме апоптотические клетки сбрасываются либо в просвет крипты, либо на поверхность эпителия; также они могут оставаться интраэпителиально [123]. Один из вариантов развития гиперпластических полипов изучен с помощью методов электронной микроскопии и клеточной кинетики. Данные этих исследований показали, что полип является результатом перенасыщения поверхностным эпителием толстой кишки, то

есть эпителиальные клетки гиперпластического полипа имеют тот же режим обновления клеток, что и нормальная слизистая оболочка, но с более длительным временем цикла и с задержкой миграции [88]. Longacre T. A. и Fenoglio-Preiser C. M. в 1990 году, изучив гиперпластические полипы с чертами аденомы и с зубчатой архитектурой крипт, с наличием у некоторых из них участков дисплазии, предложили новый термин «зубчатые аденомы», которые в настоящее время получили название «традиционная зубчатая аденома» [129]. В 1996 году Torlacovic E. et al. предложили использовать термин зубчатые аденомы, акцентируя внимание на их связи с развитием КРР, а также подробно описали морфологическое строение сидячей зубчатой аденомы [194]. В дальнейшем использовались различные термины, касающиеся СЗП, среди которых часто применяемые «сидячая зубчатая аденома», «сидячий зубчатый полип» и «сидячая зубчатая аденома/полип». Torlacovic E. et al. являются несомненными лидерами и родоначальниками изучения зубчатых новообразований. Именно их коллектив в 2003 году выделил критерии диагностики сидячих зубчатых аденом на широком основании и ТЗА [192]. Мозговой С. И. с соавторами (2008 год), проводя исследование ГП и аденом низкой степени дисплазии толстой кишки, обратили внимание на их одинаковую пролиферативную активность при разном потенциале злокачественности. А также ими было отмечено появление секреции нейтральных муцинов и желудочного муцина MUC5AC в ГП [19]. В то же время, имеющаяся гистологическая гетерогенность группы ГП, часть из которых имеет черты классических аденом, повышенную пролиферативную активность в сочетании с зубчатым профилем, сформировали интерес к их изучению, особое внимание акцентируется на их способности к малигнизации и развитию КРР. В классификации Всемирной организации здравоохранения от 2000 года гиперпластический полип описывают как «опухолевидное образование на широком основании, при микроскопическом исследовании которого выявляется удлинение крипт с расширением их просвета, гиперплазией бокаловидных клеток и характерным пилообразным контуром

эпителия крипт» [82]. Морфологическая особенность поверхностного эпителия и крипт была давно отмечена многими исследователями, и при описании часто применялось слово «зубчатый». В связи с такой неоднородностью гистологических проявлений и гетерогенностью типов в целом, до появления классификаций ВОЗ в 2010 году с четкими критериями, крайне редко ставились в практике диагноза зубчатые аденомы/полипы толстой кишки.

1.2. Клинические и морфологические критерии зубатых поражений толстой кишки

Рассматривая ЗП по клиническим характеристикам, стоит отметить, что эти образования обычно небольших размеров, имеют плоско-приподнятый вид, реже полиповидную и плоскую форму. Заболевание протекает, как правило, бессимптомно и новообразования часто являются случайной находкой во время колоноскопии. ЗП встречаются одинаково часто как у мужчин, так и у женщин. Средний возраст, по данным литературы, у мужчин составляет 63,3 года, у женщин — 56,8 лет [63, 161, 184]. Многие исследователи в большей степени обращают внимание на локализацию ЗП, а не на их гистологический тип. В этом отношении, ЗП, обнаруженные в правой половине толстой кишки, должны вызывать большую настороженность в плане возможного развития КРР, чем в левой [30, 40, 56, 72, 89]. Правосторонняя локализация сочетается с повышенным риском возникновения синхронных и метакронных новообразований. Имеются рекомендации, советующие проводить более длительное и тщательное наблюдение за такими пациентами [30, 72].

Возможно, это связано с тем, что правые и левые отделы толстой кишки имеют эмбриональные отличия, что обуславливает появление различий в экспрессионном профиле генов эпителиальных клеток: правые отделы толстой кишки развиваются из средней кишки (midgut), а левые — из задней (hindgut) [23, 37]. ЗП, локализующиеся в правой половине толстой кишки,

чаще имеют мутацию гена *BRAF*, а в левой половине и аппендиксе – *KRAS* [83, 148, 149, 151, 183, 213]. В то же время доказано, что КРР, локализующиеся в правых отделах толстой кишки, обладают худшим прогнозом, независимо от наличия мутаций генов *BRAF* и *KRAS* или микросателлитной нестабильности (МСН), они более устойчивы к анти-EGFR-терапии [121, 136, 138]. Результаты исследований показали, что мутации в кодонах 12, 134 и 61 генов *NRAS* и *KRAS* приводят к активности сигнального пути RAS-RAF-ERK, и это является причиной резистентности к анти-EGFR терапии приблизительно в 35-40% случаев КРР [22]. Это наводит на мысль, что помимо этих механизмов, есть еще неизученные молекулярно-генетические свойства ЗП и зубчатого пути канцерогенеза.

Помимо отличительных гистологических характеристик, все ЗП имеют также характерный макроскопический вид, который указывается при направлении удаленных образований на патоморфологическое исследование. При этом необходимо обязательно учитывать размер, локализацию, тип в соответствии с эндоскопической классификацией новообразований желудочно-кишечного тракта (Парижская классификация, 2002 год) (рисунок 1)[62, 71, 144, 216].

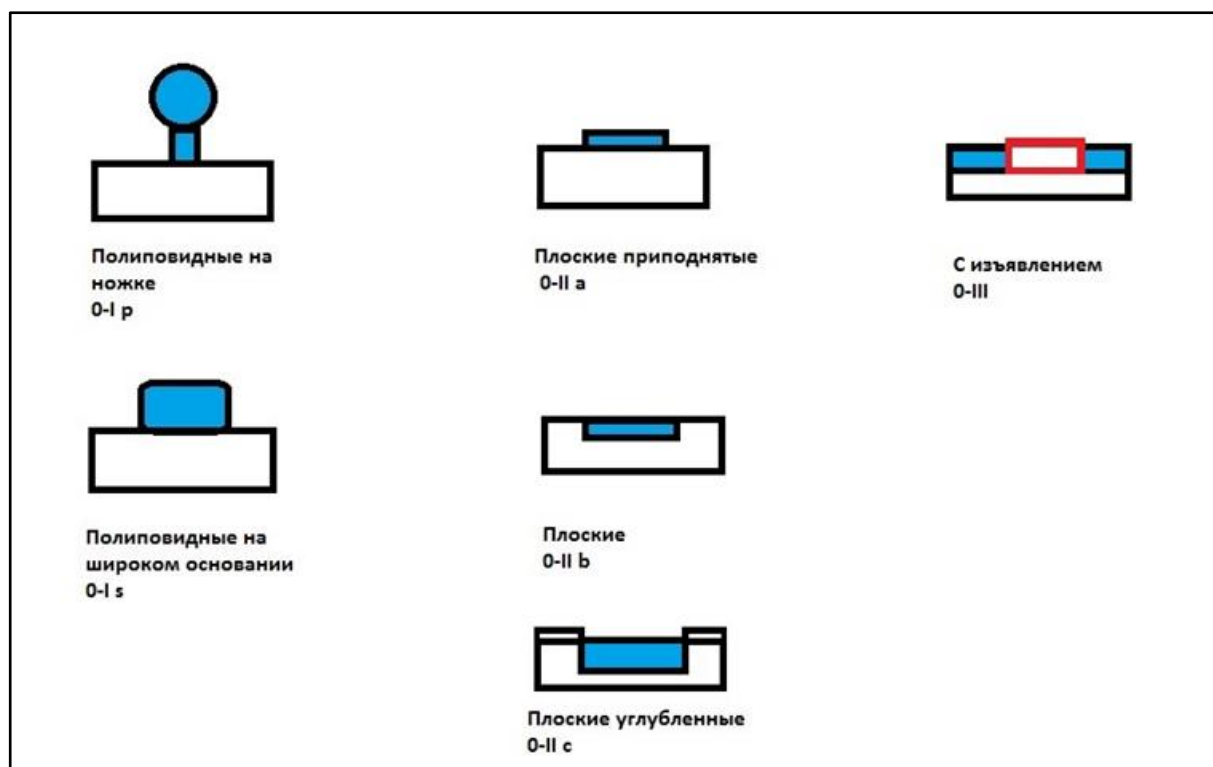


Рисунок 1 – Эндоскопическая классификация новообразований желудочно-кишечного тракта (Парижская классификация, 2002)

Дополнительно нужно указать тип ямочного рисунка в соответствии с классификацией Kudo, что позволяет на этапе эндоскопического исследования предположить характер образования [117]. Kudo S. E. et al. выделили 7 характерных типов ямочного рисунка слизистой оболочки и новообразований толстой кишки (таблица 2). Эти данные основаны на сопоставлении результатов эндоскопического и патоморфологического исследований. На основании этих сопоставлений и производится своевременное удаление ЗП во время проведения диагностической колоноскопии, что позволяет избежать развитие КРР из ЗП [207].

Таблица 2 – Классификация ямочного рисунка по Kudo et al. [117]

Тип	Описание	Гистология
I	Округлый ямочный рисунок	соответствует нормальной слизистой оболочке толстой кишки
II	Мелко- и крупнозвёздчатая форма ямок	соответствует гиперпластическим полипам или зубчатым образованиям
III _L	Овальный	соответствуют аденоме
IV	Извилистый мозговидный	соответствуют аденоме
III _s	Мелкий округлый	в 72% случаев соответствует дисплазии высокой степени и в 28% случаев – раку
VI	Нерегулярный	дисплазии высокой степени и аденокарциноме, ограниченной слизистой оболочкой и поверхностными отделами подслизистого слоя
VN	Разрушенный ямочный рисунок	аденокарциноме с глубокой подслизистой инвазией.

1.3. Гиперпластические полипы толстой кишки

ГП является самым распространённым гистологическим типом. Большинство из них диагностируются в дистальной части толстой кишки (около 75–80%) и в прямой кишке, однако они также встречаются в правых отделах и червеобразном отростке [83, 149, 151]. Наибольшую настороженность вызывают правосторонние ГП, которым приписывается свойство злокачественной трансформации через этап перехода в СЗП. При этом ГП, расположенные в ректосигмоидной части, обычно протекают бессимптомно и практически не имеют склонности к малигнизации. Встречаются у пациентов любого возраста и пола. По эндоскопическим характеристикам, согласно Парижской классификации, относятся к «плоско-приподнятым» 0-IIa и «полиповидным образованиям на широком основании» 0-Is. Чаще всего имеют небольшие размеры от 1 до 5 мм, редко бывают больше 10 мм, а также характерно множественное поражение в прямой и сигмовидной

кишках [98]. Однако по последним рекомендациям ВОЗ плоские ЗП диагностируются как ГП, только если не было найдено хотя бы одной характерной для СЗП крипты [217].

Морфологические особенности гиперпластических полипов

Крипты ГП имеют удлиненную форму с расширением в верхней части или «воронкообразный» тип, ровную, без ответвлений и расширений на всем протяжении до мышечной пластинки слизистой оболочки. Коллагеновая пластинка, лежащая под поверхностным эпителием, обычно утолщена. Зубчатость проявляется преимущественно в верхних 2/3 частях крипты, в то время как пролиферативная зона симметрично расположена в нижней ее части. Формирование характерного зубчатого профиля крипт происходит из-за набухания клеток, их тесном контакте друг с другом, вытеснении апикальной части в просвет крипты и на поверхность (в области верхушки). Цитологической атипии, как правило, нет, ядра маленькие, расположены базально, имеют круглую или овальную форму. При поперечном срезе ГП имеют звездчатую форму. Для точной диагностики крайне важным моментом является правильное расположение тканевого образца при заливке в парафиновые блоки с дальнейшей ориентацией срезов [217].

Одним из сложных моментов в диагностике является появление в ГП участков пролапса, что приводит к гистологической картине «расширения» основания, формируя крипты «сидячего» или якорь-образного типа. Они встречаются достаточно часто и до 80% таких случаев диагностируются как СЗП [134]. Чтобы избежать ложного диагноза СЗП, в этом случае необходимо обратить внимание на наличие утолщения мышечной пластинки слизистой оболочки и на наличие фибромышечной облитерации [96, 159].

Группа ГП включала три типа по классификации ВОЗ 2010 года и 2 - согласно классификации ВОЗ 2019 года [50, 144, 216]. Основным критерием

для выделения типов является зубчатость эпителия и клеточное накопление муцина (таблица 3).

Таблица 3 – Типы ГП в соответствии с классификацией ВОЗ 2010 и 2019 гг [184, 217]

ВОЗ 2010 (WHO Classification of Tumours of the Digestive System, 4th Edition)	ВОЗ 2019 (WHO Classification of Tumours of the Digestive System, 5th Edition)
Микровезикулярный тип (МВГП)	Микровезикулярный тип (МВГП) (включает в себя бедный муцином ГП)
Богатый бокаловидными клетками (ББГП)	Богатый бокаловидными клетками (ББГП)
Бедный муцином гиперпластический полип	Исключен из классификации как самостоятельная подгруппа

Ранее выделенный тип «бедный муцином ГП» («mucin-poor» hyperplastic polyp, БМГП) в новой классификации исключен и трактуется как «истощённый микровезикулярный гиперпластический полип», либо возникающий в ответ на воспалительные изменения слизистой оболочки без выделения его в отдельную подгруппу ГП. Это связано с тем, что по данным большинства исследований, проведенных в лабораториях различных стран, они либо не встречались, либо обнаруживались менее чем в 9% случаев от всех ГП [58, 82, 185].

МВГП – самый часто диагностируемый тип ГП, характеризующийся выраженной зубчатостью в верхней части крипты и часто распространяющийся до ее основания; в клеточной популяции преобладают

столбчатые энтероциты с накоплением муцина в везикулах в виде мелких капель в цитоплазме и при небольшом количестве бокаловидных клеток. В небольшом проценте случаев присутствует минимальная атипия и стратификация ядер в поверхностном эпителии и вдоль крипты, которая часто остается незамеченной. Также часто утолщена субэпителиальная коллагеновая пластинка.

Молекулярно-генетические нарушения, лежащие в основе МВГП, говорят о его роли в развитии СЗП и ТЗА [43, 150, 188]. Механизм перехода до настоящего времени не ясен. В их основе чаще всего лежит активизирующая мутация гена *BRAF*, реже – высокий метиляторный фенотип CpG-island [73, 125].

ББГП состоит преимущественно из бокаловидных клеток с небольшими, базально расположенными круглыми ядрами. Крипты, по сравнению с нормальным эпителием толстой кишки, более высокие и широкие, зубчатость менее выражена, затрагивает верхнюю часть или только поверхностный эпителий [152, 180]. Пролиферативная зона расположена в основании, часто слабо выражена. Мышечная пластинка слизистой оболочки практически всегда утолщена. Стратификация ядер и их атипия встречаются крайне редко, и чаще не характерны для данного типа. Из-за гиперпродукции муцина могут иметься ложные расширения в основании и/или ответвления, что часто ошибочно принимаются и диагностируются как СЗП. Также, как и МВГП, данному типу приписывают свойства промежуточного звена для ТЗА [50].

1.4. Сидячие зубчатые поражения и сидячие зубчатые поражения с дисплазией толстой кишки

СЗП обладают доказанным потенциалом злокачественности, с характерным быстрым переходом от стадии СЗП с дисплазией до рака. Они являются предшественниками почти 20-30% от всех КРР, большинство из которых расположены в проксимальной части толстой кишки [153]. В идеале СЗП с высоким риском трансформации должны диагностироваться до

появления диспластических изменений, однако эти изменения на одном только патоморфологическом исследовании выявить невозможно [126]. Это наиболее распространённые, после ГП, и зубчатые новообразования в толстой кишке [69, 119]. СЗП с дисплазией в общей группе ЗП составляют от 2% до 5%, и менее 1% от всех эпителиальных предраковых поражений толстой кишки [40, 80, 124]. Дисплазия высокой степени – встречается до 3% от всех СЗП, с низкой степени - до 12%. Появление очагов дисплазии в СЗП характеризуется плохим прогнозом и быстрым темпам прогрессирования до зубчатого КРР [208].

До 87% СЗП и СЗП с дисплазией расположены в правой половине толстой кишки, но также обнаруживаются в её левых отделах, прямой кишке и аппендиксе [24, 83, 134]. СЗП встречаются одинаково часто как у мужчин, так и у женщин, в то время как СЗП с дисплазией поражает преимущественно пациентов женского пола [208]. Существуют единичные исследования, в которых была характерна локализация в дистальной части, однако эти результаты, вероятнее всего, связаны с малой выборкой [24]. В более поздних работах с большей выборкой авторы получили результаты в Российской популяции, сходные с другими странами мира. Также для российских пациентов оказалось характерно правостороннее расположение СЗП (74,8%) по сравнению с дистальным (25,2%) [26].

По эндоскопическим характеристикам размер СЗП обычно больше 5 мм, по форме - «плоско-приподнятые» 0-IIa типа, либо «полиповидные на широком основании» 0-Is типа, с наличием муцинозной шапки на поверхности образования, ямочный рисунок соответствует II-O типу по Kudo [8, 12, 114, 117, 140, 141]. Часто увеличение размеров СЗП сочетается с развитием диспластических изменений. СЗП с дисплазией в 32% имеют размер более 20 мм, однако дисплазия может появляться и в поражениях менее 5 мм [40, 54, 60, 114, 120, 142]. По данным другого исследования средний размер СЗП с дисплазией составляет 12 мм, при этом около 40% из них оказались менее 10

мм [61, 208]. Частота встречаемости СЗП среди образований менее 10 мм, локализующихся в прямой кишке, очень низкая и составляет от 0,6% до 2,1% [86]. По существующим рекомендациям ГП, размером больше 1 см, по одним данным, и более 5 мм – по другим, расположенные проксимальнее селезеночного изгиба следует трактовать как СЗП [140, 166].

Что касается терминологии в целом, споры остаются до сих пор. В последней классификации ВОЗ от 2019 года рекомендовано употреблять термин сидячее зубчатое поражение [217]. Однако многие исследователи рекомендуют придерживаться термина «сидячая зубчатая аденома» или «сидячий зубчатый полип» [67, 159].

Морфологические особенности сидячих зубчатых поражений

СЗП имеют отличительную архитектуру крипт в виде расширения и дилатации основания крипты и горизонтального роста вдоль мышечной пластинки. Крипты при этом приобретают форму, схожую с буквами «L» или перевернутой «Т», также их называют якорь-образными. Зубчатость эпителия распространяется на всю глубину до базальных отделов, которая появляется за счет выбухания в просвет апикальной части цитоплазмы клеток. Ядра чаще всего расположены базально, округлой формы, увеличены, иногда с наличием ядрышек и встречается псевдостратификация. Проллиферативная зона расположена в основании и ассиметрично распространяется в область средней трети крипты [50, 166].

Наиболее сложной задачей является дифференциальная диагностика между ГП и СЗП. Основным критерий отличия – расширение крипты в основании вдоль мышечной пластинки слизистой оболочки и зубчатый профиль по всей длине крипты. Однако существуют противоречия между необходимым количеством крипт с данной архитектурой для постановки диагноза СЗП. В соответствии с рекомендациями ВОЗ от 2010 года необходимо обнаружить как минимум 2 или 3 смежные крипты для данного

диагноза [50]. Но уже в 2012 году группа экспертов, включавшая гастроэнтерологов, патологов и ученых-исследователей, опубликовали свои рекомендации о необходимости постановки диагноза СЗП при выявлении хотя бы одной такой крипты [166]. Большинство зарубежных коллег и мы поддерживаем критерии, в соответствии с которыми «при обнаружении хотя бы одной похожей крипты устанавливается диагноз СЗП», а не ГП.

Группа исследователей Bettington M. et al. (2014 год), провела масштабное исследование 6340 различных полипов толстой кишки с определением СЗП по 2-ум вышесказанным критериям постановки диагноза. По их данным, на основании экспертных критериев был установлен диагноз СЗП в 14,7% полипов, в то время как при использовании критериев ВОЗ – лишь в 12,1% наблюдений. Проанализировав дополнительные клинические данные (размер и локализацию образования), выявили, что те 2,6% случаев недооцененных по критериям ВОЗ, имеют черты СЗП. По результатам данных, полученных Bettington M. et al., достаточно одной характерной крипты для постановки диагноза СЗП [39]. Существуют еще ряд работ, посвященных пересмотру диагнозов ГП и СЗП. Из группы ГП в СЗП было переклассифицировано от 30 до 64% полипов, расположенных в правой половине толстой кишки [77]. Большая часть таких исследований подразумевала пересмотр группой патологов с принятием консенсусного решения по диагнозу [24, 134]. Еще одним сложным моментом является появление в ГП участков пролапса, что приводит к гистологической картине «расширения» основания крипты, формируя схожие по форме на «сидячие» и якорь-образные. Чтобы избежать ложного диагноза СЗП, в этом случае, необходимо обратить внимание на наличие утолщения мышечной пластинки слизистой оболочки и фибромышечной облитерации. Это еще раз подчеркивает трудность дифференциальной диагностики и отсутствия дополнительных вспомогательных критериев, в том числе иммуногистохимических.

Морфологические особенности сидячих зубчатых поражений с дисплазией

Согласно ВОЗ, выделяют кишечную/аденоматозную дисплазию, зубчатую дисплазию и слабую цитологическую атипию [217]. При этом в СЗП могут быть отмечены 3 гистологических варианта дисплазии: аденоматозная, зубчатая и минимальных изменений (подробное описание в таблице №4) [217].

Таблица 4 – Морфологические характеристики дисплазии в СЗП

Тип дисплазии	Архитектурные изменения	Цитологические изменения
Минимальные изменения	Незначительное усиление скученности крипт, изменение в ветвлении крипт и снижение выраженности зубчатого профиля крипт	Клетки с гипермуцинозной цитоплазмой, более эозинофильные с появлением желудочного фенотипа, ядра расположены базально с небольшой гиперхромазией и фигурами митоза, которые могут быть обнаружены не только в базальных отделах крипт
Зубчатая дисплазия	Тесно расположенные друг с другом крипты, с формированием крибриформных структур, дисплазия выражена в базальных отделах	Клетки кубической формы с эозинофильной цитоплазмой и выраженной ядерной атипией, ядра круглые с наличием хорошо выраженных ядрышек
Аденоматозная дисплазия	Диспластический компонент в верхней части крипт, отсутствует зубчатость эпителия, характерен тубулярный вид	Клетки с амфофильной или базофильной цитоплазмой, ядра гиперхроматичны и удлиненной формы, различная степень дифференцировки бокаловидных клеток, напоминающие клетки классических аденом

Дисплазия часто проявляется в отдельных криптах СЗП на фоне неизмененного компонента, который является обязательным условием для постановки СЗП с дисплазией, а не ворсинчатой аденомы [159]. Диспластические крипты характеризуются изменениями, схожими с ворсинчатыми структурами: крипты вытягиваются, появляется скученность с участками сложного ветвления и сужением просвета. Клетки могут иметь кишечную дисплазию с круглыми атипичными ядрами, появлением ярко выраженных ядрышек и многочисленных митозов, цитоплазма эозинофильная, реже возникает незначительная цитологическая атипия с гипермуцинозными изменениями [42]. Для зубчатой дисплазии характерны кубовидные клетки с эозинофильной цитоплазмой, увеличенными округлыми ядрами и ядрышками. Для СЗП – распространение дисплазии “снизу вверх” и преимущественное расположение в базальных отделах, при дисплазии высокой степени – по всей длине крипты. В диспластическом компоненте часто обнаруживается потеря экспрессии MLH1. В последней классификации ВОЗ (2019 год) проводить разделение между низкой и высокой степенью дисплазии не рекомендуется, так как нет морфологических четких критериев и корреляции с потерей экспрессии MLH1 [124, 159, 217]. ИГХ реакцию с данным маркером наиболее важно проводить при минимальных диспластических изменениях, так как он может не экспрессироваться в подозрительном компоненте СЗП, но также может выходить за пределы него и отсутствовать в казавшемся нормальном участке СЗП. Однако для постановки диагноза при минимальных отклонениях необходима потеря в нескольких смежных криптах и по всей ее длине. Отсутствие в одной из крипт потери может быть случайной находкой, и не рекомендуют в данном случае ставить СЗП с дисплазией [159]. На сегодняшний день появляются новые данные, свидетельствующие о большей гетерогенности диспластических проявлений в ЗП и их молекулярно-генетической основе [95, 124].

1.5. Традиционные зубчатые аденомы толстой кишки

ТЗА – самый редко встречающийся тип ЗП, обладающий доказанным потенциалом злокачественности. В большинстве случаев ТЗА развиваются *de novo*, и только 38% из них в своей основе имеют предшествующие поражения в виде ГП (7%) или СЗП (31%) [23, 44]. Среди всех типов ЗП ТЗА составляют 2% - 7% и менее 1% от всех новообразований толстой кишки [39, 44, 69]. У мужчин и женщин встречаются одинаково часто, преимущественно после 60 лет [205].

Наиболее типичная для ТЗА локализация – левые отделы толстой кишки, до 86% от всех случаев, но также встречаются в правых отделах и в аппендиксе [134]. Это обычно крупные образования, более 10 мм, зачастую даже превышающие 20 мм, полиповидной формы типов 0-Is, 0-Ir и 0-Ips и имеют ножку, что часто воспринимается как классическая аденома. Также встречаются плоские формы ТЗА и плоско-приподнятые, которые локализуются в правых отделах толстой кишки [16, 159].

Макроскопически напоминают типичные аденомы из-за дольчатой и узловой поверхности розоватого или реже красного цвета [171]. Отличает ТЗА от классических аденом наличие смешанного типа ямочного рисунка по Kudo (II, IIS, IIL) [16, 27, 44]. Наиболее значимым эндоскопическим признаком является зубчатая и неровная форма края крипт, которую можно обнаружить при эндоскопическом осмотре в режиме NBI (NBI – narrow band imaging) увеличения и хромоскопии [1, 25].

Морфологические особенности традиционных зубчатых аденом

Морфологические критерии на сегодняшний день изучены гораздо лучше, однако все равно часто ТЗА принимаются за СЗП с дисплазией или за тубулярно-ворсинчатую аденому с дисплазией. Изначально они описывались как сочетание гиперпластического полипа и тубулярной аденомы. Одним из ключевых моментов в гистологической структуре – это отходящие

эктопические крипты (ЭК) перпендикулярно от основной крипты, которые не связаны с мышечной пластинкой слизистой оболочки. Считается, что таким образом происходит рост и распространение, однако индекс пролиферативной активности Ki67 в них невысокий. В то же время, в некоторых исследованиях показано, что в плоских и небольших ТЗА может не быть ЭК [159]. Поэтому наличие только этого признака не является определяющим критерием для постановки ТЗА. Вторым моментом является характерная эозинофильная окраска клеток и вытянутое «pencil-like», центрально расположенное ядро с равномерно распределенным грубым хроматином и небольшими незаметными ядрышками без митотической активности. Эти клетки настолько характерны для ТЗА, что только в редких вариантах с большим количеством бокаловидных клеток, можно их не обнаружить, что затрудняет диагностику при наличии типичной зубчатой поверхности и узкого просвета [92, 143]. Зубчатость, определяемая в просвете крипт, напоминающая узкие щели в нормальной слизистой оболочке тонкой кишки, называется «щелевидная» [44, 159]. Отечественные коллеги считают, что ТЗА принципиально отличаются по иммунофенотипу от ГП и СЗП, которые обладают цитоплазматической зубчатостью, а не щелевидной, и поэтому рекомендуют относить их к классическим аденомам [27].

Сложным моментом является определение диспластических изменений. Так, большинство авторов считают, что в ТЗА всегда есть дисплазия низкой или высокой степени из-за наличия вытянутых ядер. Однако, эти клетки не обладают явной цитологической атипией, так как нет митозов, гиперхроматически переполненных ядер, плеоморфизма, потери полярности и псевдостратификации, в сочетании с минимальной пролиферативной активностью и других проявлений при дополнительных иммуногистохимических окрашиваниях [44, 81, 111, 179, 195]. Как было сказано выше, в литературе описывают дисплазию, характерную для ТЗА, как аденоматозную. В то время как «зубчатая» дисплазия, характеризующаяся

эозинофильными клетками с базально расположенным округлым ядром и частыми атипичными митозами, встречается реже и обнаруживается преимущественно в ТЗА с мутацией гена *BRAF* [195]. При выявлении дисплазии в ТЗА, по рекомендации ВОЗ от 2019 года, рекомендуется трактовать как дисплазию высокой степени [18, 217].

Таким образом, по самым последним данным, для диагноза ТЗА необходимы два из трех обязательных критерия [217]:

1. Щелевидная зубчатость «slit-like»;
2. Эозинофильные клетки с вытянутым «pencil-like» ядром;
3. Наличие эктопических крипт.

Особые трудности возникают при дифференциальной диагностике плоских вариантов ТЗА с СЗП с очагами тонкокишечной метаплазии, когда практически отсутствуют ЭК. Помощь в постановке диагноза оказывают расположение эозинофильных клеток на всем протяжении крипты и щелевидный тип зубчатости.

Также ТЗА необходимо дифференцировать с воспалительными псевдополипами, которые имеют цитологические признаки эозинофилии и архитектуру крипт с зубчатостью. Наиболее значимым критерием в данном случае является воспалительная инфильтрация в собственной пластинке.

1.6. Иммуногистохимический профиль зубчатых поражений толстой кишки

На основании того, что ЗП имеют свой уникальный гистологический и молекулярно-генетический профиль, а также присутствующие до сих пор трудности в дифференциальной диагностике, необходимо также выявить дополнительные уточняющие критерии с помощью ИГХ метода. Большинство исследований описывают ИГХ профиль для СЗП, реже для ГП и ТЗА [35, 36, 80, 108, 193]. Современных работ по изучению ИГХ характеристик ЗП крайне

мало. На данный момент наиболее важным для практического применения считается ИГХ исследование МСН и в основном с его маркером MLH1[159].

Изучив патогенез и основываясь на гистологических особенностях ЗП, а также учитывая локализацию и молекулярные паттерны, наиболее интересными и способными отразить индивидуальность и в то же время общность всех трех типов, по нашему мнению, это следующая панель антител:

1. Маркер пролиферативной активности Ki67
2. Цитокератин 20 (CK20)
3. Муцины: MUC2, MUC5AC, MUC6.
4. Маркеры микросателлитной нестабильности: MLH1, PMS2, MSH2 и MSH6.

Маркер пролиферативной активности Ki67

Злокачественные опухоли толстой кишки, как и другие органы, характеризуются усилением клеточной пролиферации, неравномерным и нерегулируемым ростом опухолевых клеток. В нормальной слизистой оболочке толстой кишки индекс пролиферативной активности всегда выше индекса апоптоза [21]. Для того чтобы оценить степень активности и изменение пролиферативной зоны используется маркер Ki67. Это ядерный маркер, показывающий активность клеток в выработке белка, повышающегося в пролиферирующих клетках. Для нормального эпителия толстой кишки характерна базальная экспрессия в криптах. Известно, что в ГП пролиферативная зона незначительно увеличена, в СЗП и СЗП с дисплазией – происходит неравномерное увеличение зоны пролиферации, что проявляется асимметричностью. ТЗА характеризуются усилением пролиферативного компонента, однако, спорными моментами является его распределение в криптах, особенно в ЭК [94, 192, 208, 217]. Исследования наших соотечественников показали, что в ГП и СЗП индекс пролиферативной активности в среднем был схож и составил 24,1% (от 3 до 45%) и 22,1% (от 10

до 40%) соответственно. По характеру распределения по третям крипт базальная экспрессия была характерна для СЗП и ГП, однако в последнем отмечено распространение на среднюю треть ГП в 30,8% [170]. Для ТЗА распределение маркера Ki67 преимущественно диффузное (76,5%), а индекс составил в среднем 39,7%. При сравнении характера распределения ТЗА ближе к классическим аденомам толстой кишки и имеет статистически значимую разницу по экспрессии данного маркера [17]. Схожие данные описаны в работе японских коллег, где были описаны особенности пролиферативных изменений во всех трех типах ЗП с распределением в каждой трети крипты [94].

Цитокератин 20 (СК20)

СК20 – это основной белок зрелых энтероцитов и бокаловидных клеток; он специфически экспрессируется в эпителиальных клетках слизистой оболочки желудка и тонкой кишки. Его также можно выявить в аденокарциномах толстой кишки, желудка, поджелудочной железы, желчных протоках, в муцинозных опухолях яичников, уротелиальном раке и раке из клеток Меркеля. В свою очередь, в плоскоклеточных раках, аденокарциномах молочной железы, легких, эндометрия, не муцинозных опухолях яичников и мелкоклеточных карциномах легких СК20 не экспрессируется.

Davenport A. et al. (2003) исследовали 57 ГП и показали, что в 28 из 57 ГП имели окраску СК20 только в верхней части крипт, как и в нормальном эпителии толстой кишки, но выявили также маленькую подгруппу из 5 случаев, где было выявлено окрашивание в нижней части крипты, и в 21 из 57 – мозаичную окраску в нижней части. Сопоставив эти данные с экспрессией Ki67, Davenport A. et al. пришли к выводу, что ГП могут обладать злокачественным потенциалом [66]. Сочетанное исследование с маркерами СК7 и СК20 в зубчатых аденомах и зубчатых аденокарциномах показало необычный для толстой кишки фенотип СК7+/СК20+, и предположили, что в данных образованиях канцерогенез имеет отличительный характер [191]. ГП

полипы характеризуются расширением зоны окрашивания в сторону основания, для СЗП – практически всегда обнаруживается в основании дилатированных крипт, в то время как в ТЗА СК20 экспрессируется только в поверхностном эпителии, а также отсутствует его экспрессия в ЭК [193].

Муцины

По данным некоторых исследований в ходе канцерогенеза изменяется экспрессия муцинов [109, 198, 201]. Для зубчатого пути канцерогенеза характерен иммунофенотипический признак усиления желудочной дифференцировки и поздняя потеря кишечной дифференцировки [109]. Впервые желудочная дифференцировка зубчатых новообразований была описана в 1999 г. Yao T. et al. [210]. Наиболее часто для определения типа эпителия используют иммуногистохимическое исследование с антителами к муцинам: MUC2, MUC5AC, MUC5AB, MUC6.

Муцины — высокомолекулярные гликопротеины, которые формируют защитную систему слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта. Эпителиальные клетки синтезируют несколько типов муцинов, из которых для каждого отдела желудочно-кишечного тракта имеется преобладающий тип. MUC2 секретируется преимущественно бокаловидными клетками тонкой и толстой кишок, в то время как MUC5AC и MUC6 – в эпителии желудка, и крайне редко в нормальной слизистой толстой кишки [52, 55, 100]. Гиперэкспрессия MUC2 также чаще встречается в опухолях с наличием мутации гена *BRAF*, высокого метиляторного фенотипа CpG-island (CIMP) и микросателлитной нестабильностью [201].

По результатам исследования Tsai J. H. et al. [196] экспрессия желудочных муцинов MUC5AC и MUC6 связана с молекулярными особенностями зубчатого пути канцерогенеза, а именно мутацией гена *BRAF* и CIMP, а также преимущественно характерна для опухолей, локализованных в правой половине толстой кишки. По данным многих исследований выраженная экспрессия MUC2 и MUC5AC выявляется в опухолях с высокой

микросателлитной нестабильностью (МСН-В) [45, 130]. В аденомах толстой кишки повышается экспрессия гена MUC2, усиливающаяся при прогрессировании и малигнизации в муцинпродуцирующих опухолях, в то время как снижается – в немучинпродуцирующих [6, 202]. В СЗП с цитологической атипией и без выявляется выраженная экспрессия MUC2, которая также сохраняется в участках малигнизации (зубчатой аденокарциноме)[70].

В ЗП MUC6 экспрессируется только в базальных отделах [93]. По новым литературным данным экспрессия MUC6 характерна только для СЗП без дисплазии и сохранялась в СЗП с различной степенью дисплазии и даже в инвазивной карциноме; в ГП крайне редко встречается экспрессия данного маркера, а в ТЗА она вовсе отсутствует [76]. При этом в правой половине толстой кишки в СЗП и части ТЗА чаще обнаруживается экспрессия MUC6, в отличие от левой половины [76]. Однако также имеются данные, что в СЗП с дисплазией и в ЗА экспрессия MUC6 не выявляется [70]. В КРР, локализованных в правой половине толстой кишки, MUC6 экспрессируется в 39% наблюдений, сочетается с муцинозной дифференцировкой, а также с CIMР и мутацией гена *BRAF* [201].

Появление в клетках реакции с маркером MUC5AC, в норме не экспрессирующих, является общим признаком злокачественной прогрессии, не только для желудочно-кишечного тракта [198]. В зубчатом пути канцерогенеза имеет место желудочная дифференцировка, что характеризуется экспрессией MUC5AC и MUC6 [196]. Выраженная экспрессия MUC5AC, по данным ряда авторов, встречается в большем количестве клеток и с более выраженной реакцией в СЗП, нежели в ГП [106]. В ЗП в целом положительная реакция с антителами к MUC5AC выявляется в поверхностном эпителии и вдоль всей длины крипты [93].

Микросателлитная нестабильность

Отдельным блоком стоит проведение ИГХ исследования с маркерами на наличие МСН, которая включает MLH1, PMS2, MSH2 и MSH6. Потеря экспрессии любого из них указывает на появление МСН, которая является независимым прогностическим фактором, определяющим степень злокачественности КРР и новообразований других локализаций, поэтому по последним рекомендациям необходимо обязательно проводить ИГХ исследование с данной панелью антител [3, 7, 11, 50, 159, 217]. Для СЗП особенно характерна потеря MLH1, которая выявляется на стадии перехода СЗП в СЗП с дисплазией, однако эти изменения происходят еще на молекулярном уровне и нет возможности патологоанатомам при стандартном гистологическом исследовании заподозрить этот переход [124, 159, 217].

Таким образом, видно, что проводимые исследования по ИГХ профилю ЗП особенно в сочетании с генетическими данными, имеют большое значение как в практической работе, так и в фундаментальных научных исследованиях. Большинство проведенных работ, показывают значимость ИГХ для понимания хода трансформации типов ЗП за счет приведенных маркеров.

1.7. Зубчатый путь канцерогенеза и его генетические характеристики

По современным данным ЗП толстой кишки являются предшественниками приблизительно 30% от всех случаев КРР, развивающихся по альтернативному «зубчатому» пути [38, 166]. ЗА впервые были описали Jass J.R. и Smith M. (1992) как прогрессия зубчатых поражений с дисплазией [99].

Большинство ЗА носят спорадический характер. Однако по данным исследователя Gao Q. et al. (2015) наличие у пациента зубчатых новообразований повышает риск развития синхронного рака толстой кишки более чем в два раза [75]. Выявление ЗП больших размеров и располагающихся в проксимальной части, в особенности СЗП, по данным

литературы, связаны с повышенным риском возникновения синхронных и метасинхронных новообразований, в связи с этим рекомендуется более длительно и тщательно наблюдать за такими пациентами [154]. Связь с развитием рака из ЗП на фоне воспалительных заболеваний толстой кишки (ВЗТК) остается спорным, несомненно, такие случаи встречаются. При этом их генетические нарушения являются идентичными с КРР, вызванными на фоне ВЗТК [101]. Зубчатый компонент был обнаружен в 29% аденом, ассоциированных с язвенным колитом [168].

Зубчатый путь (зубчатые поражения – зубчатая аденокарцинома) связан с наличием в новообразованиях генетических и эпигенетических мутаций, преимущественно вызванных мутацией гена *BRAF*, реже гена *KRAS*, а также в сочетании или без *CIMP* и *MCH* [38, 133, 157]. Считается, что классический молекулярный путь развития КРР связан с появлением хромосомной нестабильности и *KRAS* мутации [165], в то время как канцерогенез из зубчатых образований происходит преимущественно при мутации гена *BRAF* [104, 122]. О'Brien M. J. et al. в 2006 году провели исследование и выявили мутацию гена *BRAF* в 82% ЗП, указав, что это специфический маркер зубчатого пути канцерогенеза [152]. Проведенные исследования в различных странах мира показывают неодинаковую частоту встречаемости мутации гена *BRAF*. В США по результатам исследований с 2004 года по 2008 год частота встречаемости мутации гена *BRAF* составила от 81% - 82,9% в СЗП; в МБГП от 76,3% до 88,0%, в ББГП – от 21,4% до 75,0%; и от 60% до 76% в ТЗА [152, 209, 211]. В Австралии, Европе и Азии были получены схожие данные по СЗП в период с 2006 года по 2011 год: частота встречаемости от 60,7% (Южная Корея), 63% (Швейцария) и до 78% (Австралия) [82, 169, 172]. В то время как в Японии, по исследованиям 2004 года Konishi K. et al., мутации гена *BRAF* в СЗП составляет всего в 32%; а в 36% СЗП – была выявлена *MCH-B* [116, 197].

Мутация гена *BRAF* связана с мутацией *RNF43*, которая является Е3-лигазой, подавляющая сигнальный путь Wnt / β -catenin (классический путь

канцерогенеза) и часто мутирует в КРР с МСН. При этом RNF43 мутация не связана с *KRAS* и не обнаруживается в тубулярных и тубуло-ворсинчатых аденомах. Это исследование показало взаимосвязь и уникальный молекулярный профиль рака, который шел по пути от СЗП к ТЗА с мутацией гена *BRAF* и МСН. Авторы данного исследования предлагают на основании этого выделять путь развития рака через СЗП и отдельно через ТЗА [197]. В то же время доказано, что КРР, локализующиеся в правых отделах толстой кишки, обладают худшим прогнозом независимо от наличия мутаций генов *BRAF* и *KRAS* или МСН, более устойчивы к анти-EGFR-терапии [121, 136, 138]. Это наводит на мысль, что помимо этих механизмов, есть еще неизученные молекулярно-генетические свойства зубчатых поражений и зубчатого пути канцерогенеза.

Мутация гена *KRAS/NRAS* встречается реже в ЗП [95, 189]. Большинство ТЗА, до 98% локализованных в левых отделах толстой кишки, развиваются из-за мутации гена *KRAS* [23, 64, 95, 155, 193]. ТЗА с дисплазией высокой степени также показывают большую частоту встречаемости данной мутации в этой группе [111]. Среди типов ГП в ББГП мутация гена *KRAS*, по данным большинства исследований, обнаруживается часто – от 42% до 75%, в то время как в МБГП встречается редко – от 6% до 16,7% случаев [112, 152, 172, 185, 209, 211]. По данным этих же исследований – мутация гена *KRAS* в ТЗА встречается в среднем в 30% наблюдений, при общем преобладании мутации гена *BRAF*. В 2018 году японскими исследователями Cho H. et al. были описаны СЗП с мутацией гена *KRAS* [65]. Исследования коллектива японских коллег Shigeki Sekine et al. (2016), показали, что мутация гена *KRAS* встречается чаще в ТЗА, и при дальнейшем подробном анализе выявили генетические изменения, такие как *PTPRK*– *RSPO3* и *RNF43* в данном типе, которые приводят к активации WNT путей, в дополнение к мутациям *KRAS* или *BRAF* [85, 90, 95, 105, 178].

Высокая частота встречаемости мутации гена *KRAS* в ЗА навела на мысль исследователей Stefanius K. et al. (2011), что значительная часть классических аденокарцином с мутацией гена *KRAS* происходит из зубчатых предшественников [186]. В то же время для ЗП аппендикса наиболее характерна, по данным большинства исследований, мутация гена *KRAS*. Выявляемая мутация встречалась как в гиперпластических полипах, так и в сидячих зубчатых поражениях и традиционных зубчатых аденомах аппендикса [83, 148, 149, 151, 164, 183, 213]. Это было подтверждено Pai R. K. с коллегами в 2014 году: из 123 рассмотренных случаев мутации *KRAS* были определены в 52% поражениях червеобразного отростка; при этом не было выявлено существенных различий между зубчатыми недиспластическими поражениями (13/25, 52%), зубчатыми диспластическими поражениями (7/14, 50%) и контрольной группой незубчатых диспластических поражений (44/84, 52%) ($p=1,0$). В то время как мутации *BRAF* были обнаружены только в 5 (4%) образованиях червеобразного отростка. Гистологическая картина, наблюдаемая при этом, была идентична ЗП толстой кишки: ГП (2/6, 33%), СЗП (11/19, 58%) и СЗП с цитологической дисплазией (4/7, 57%). Полученные результаты позволили авторам сделать вывод, что зубчатый патогенез в аппендиксе, вероятно, отличается от такового в толстой и прямой кишке, так как зубчатые образования червеобразного отростка часто содержат мутации гена *KRAS*, но не мутации гена *BRAF*. Однако, описываются единичные случаи обнаружения данных образований в аппендиксе, так как они являются все же случайной находкой [28, 47, 74, 103, 174].

Гены *KRAS* и *BRAF* кодируют киназы, относящиеся к каскаду митоген-активируемой протеинкиназе (МАРК), которые опосредуют передачу сигналов пролиферации, апоптоза и дифференцировки в клетках [177].

По современным данным, путь развития ЗП начинается с *BRAF*-мутантных гиперпластических фокусов aberrантных крипт, которые затем трансформируются в МВГП. Большая часть таких полипов не склонна к

озлокачествлению и остается ГП, другая часть, в связи с метилированием ряда опухолевых супрессоров, таких как *CDKN2A* и *IGFBP7*, переходит в СЗП. При этом в части новообразований процесс гиперметилирования промоторов приводит к эпигенетической инактивации гена системы репарации неспаренных оснований *MLH1*, что приводит к развитию МСН. Это приводит к сдвигу рамки считывания и/или преждевременной терминации трансляции, которым могут быть повреждены множество различных генов, в частности таких значимых антионкогенов, как *TGFBR2*, *ACVR2A*, *IGFR2*, *CDX*, *BAX*, *CASP5*, *PTEN*, *BLM*, *CHK1*, *MLH3*, *RAD50*, *MSH3* и *MSH6* [87, 137, 204].

Появление МСН – это одно из ключевых событий, происходящих в ЗП и характеризующий зубчатый канцерогенез. Она обнаруживается во всех типах ЗП, но преимущественно, до 40%, в СЗП и 11% МВГП [209]. ЗА, предшественниками которых стали СЗП, обладают МСН-В. Если предшественниками явились ТЗА, то чаще характерен микросателлитный стабильный вариант (МСС) или МСН низкой степени (МСН-Н). Морфологическим критерием является наличие зубчатости, клетки с эозинофильной обильной цитоплазмой, отсутствуют некрозы, а также часто — это муцинпродуцирующие опухоли [207]. По другим исследованиям, до 74,5% СЗП с дисплазией имеют МСН высокой степени, это наиболее характерно для женщин и пациентов старшей возрастной группы [40]. Bettington M. et al. также показали, для ТЗА с мутацией гена *KRAS* не характерно и не встречается МСН-В, в то время как в 7% ТЗА с присутствием мутация гена *BRAF* может быть обнаружена [43].

МСН связана с нарушением функций генов *MSH2*, *MLH1*, *PMS2* и *MSH6*, которые в норме осуществляют репарацию неспаренных нуклеотидов ДНК [102, 107, 115]. Основной ген *MLH1* – ген супрессора опухолей – потеря функции белка, который он кодирует, приводит к появлению МСН и дальнейшему накоплению мутаций. КРР с наличием МСН встречаются преимущественно в правых отделах толстой кишки, муцинозные или плохо

дифференцированные варианты, часто с лимфоцитарной инфильтрацией и лимфоидными скоплениями (как при болезни Крона). В настоящее время известно, что МСН – это независимый прогностический фактор, определяющий степень злокачественности рака толстой кишки [50].

Очевидно, что большое количество исследуемых нами новообразований имеют молекулярно-генетические нарушения, а именно МСН, мутацию про-онкогенов *KRAS* и *BRAF*. Исследования Богомоловой И.А. с соавторами (2019) показали, что наличие мутаций EGFR-сигнального пути (*KRAS*, *NRAS*, *BRAF*) повышает риск развития рецидива КРР и является неблагоприятным прогностическим фактором [4]. Также наличие мутаций в кодонах 12,134 и 61 генов *NRAS* и *KRAS* приводит к резистентности к анти-EGFR терапии приблизительно 35-40 % случаев КРР [22]. МСН выявляется до 90% от всех случаев с синдромом Линча. Синдром Линча является наиболее распространённой формой наследственного КРР, на который приходится около 3% всех случаев рака [34]. Тем не менее только небольшая часть опухолей толстой кишки с положительным результатом и наличием МСН обусловлена наличием данного синдрома [46]. Для назначения таргетной терапии опухолей необходима как выявление генетических, так и эпигенетических мутаций. Опухоли с МСН поддаются таргетной терапии препаратами ингибиторами рецептора PD-1, пембролизумаб и ниволумаб, а также чувствительны к препаратам из группы 5-фторурацла, простым алкилирующим агентам и производным платины. В то же время МСН-В в КРР имеет хорошее значение для пациента, так как они менее склонны к метастазированию и обладают благоприятным прогнозом.

Проведение исследований для обнаружения мутаций генов *KRAS*, *BRAF* и *NRAS*, а также МСН – крайне необходимо, так этим определяется выбор особой тактики лечения и назначения препаратов для химиотерапии.

Проведенный анализ имеющейся научной литературы показал необходимость комплексного клинико-морфологического исследования в

сочетании с иммуногистохимическими и молекулярно-генетическими методами. В настоящее время существует потребность в оптимизации дифференциально-диагностических критериев всех типов ЗП толстой кишки, основанных как на изучении их иммунофенотипа, так и вариантов мутации генов *KRAS*, *BRAF* и *NRAS*, и MCH.

Глава 2. Материалы и методы

В работе было исследовано 481 зубчатое поражение толстой кишки, полученное во время колоноскопии с биопсией или после полипэктомии от 353 пациентов в возрасте от 29 до 87 лет (средний возраст составил 59,1 год), проходивших лечение в ГБУЗ «ГКБ №31» ДЗМ с 2014 по 2020 гг. Весь материал был разделен на группы в соответствии с гистологическим типом согласно классификации зубчатых поражений ВОЗ от 2019 год (таблица 5).

Таблица 5 – Число наблюдений ЗП и распределение по гистологическому типу

	Зубчатые поражения	Сидячие зубчатые поражения	Гиперпластические полипы	Традиционные зубчатые аденомы
Число пациентов	353	124	193	36
Число образований	481	201	238	42

Материал доставлялся в патологоанатомическое отделение ГБУЗ «ГКБ №31 ДЗМ» в 10% забуференном растворе формалина с направительным диагнозом «полип толстой кишки» или «зубчатая аденома/полип». Далее проводилась вырезка образцов. Полиповидные образования разрезались таким образом, чтобы была представлена вся слизистая оболочка и участок с прилегающей нормальной слизистой оболочки. После чего формировались парафиновые блоки. С помощью ротационных микротомов Sacura были изготовлены гистологические срезы толщиной 3-4 мкм. Полученные срезы после депарафинации были окрашены гематоксилином и эозином, а также реактивом Шиффа в сочетании с альциановым синим по стандартной

методике. В каждом наблюдении был проведен анализ клинических данных пациентов с учетом анамнеза заболеваний толстой кишки и оценки эндоскопических данных.

Вторым этапом явилось определение иммунофенотипа каждой группы ЗП. Для этого было отобрано для ИГХ исследования 69 наблюдений ЗП толстой кишки: СЗП — 26, ГП — 26, ТЗА — 17. Иммуногистохимическая панель включала антитела к CK20 (Leica, UK), Ki67 (30-9, Ventana, USA), MUC2 (клон MRQ-18, CELL MARQUE, USA), MUC5AC (клон MRQ-19, CELL MARQUE, USA) и MUC6 (клон MRQ – 20, CELL MARQUE, USA). Для ИГХ были изготовлены срезы толщиной 3-4 мкм, которые помещали на высокоадгезивные стекла и высушивали в термостате при температуре 70С в течение 2 часов. В качестве системы детекции применяли «Bond Polymer Refine Detection [DS9800]», в качестве хромогена – диаминобензидин. Реакции проводили с помощью автоматического иммуногистостейнера Leica Bond-maX (Germany) и Ventana Beuch Mark Ultra (USA).

Интерпретацию ИГХ исследования с указанными антителами проводили по двум критериям:

а) количественным – путем подсчета количества окрашенных опухолевых клеток на 100 клеток в 10 полях зрения (увеличение 400), выражали полученные результаты в процентах с формированием 3 групп: 0 – отсутствие окрашенных клеток, 1 – до 50% окрашенных клеток (очаговая), 2 – более 50% окрашенных клеток;

б) полуколичественным - интенсивность экспрессии антител в опухолевых клетках оценивали по балльной шкале от 0 до 3 (рисунок 1): 0 – отсутствие реакции; 1 – слабая реакция (светло-коричневое окрашивание); 2 – умеренная реакция (коричневое окрашивание); 3 – сильная реакция (темно-коричневое окрашивание).

3 – сильная реакция (темно-коричневое окрашивание)			2 – умеренная реакция (коричневое окрашивание)			1 – слабая реакция (светло-коричневое окрашивание)		

Рисунок 2 – Определение интенсивности экспрессии иммуногистохимических маркеров

Препараты изучались при помощи светового микроскопа «ZIESS Axiostar plus» со стандартным набором оптики. Микрофотографирование производилось на микроскопе биологическом универсальном Leica DMLB с цветной цифровой камерой DFC420 при помощи стандартного программного средства Leica Application Suite v. 3.7.0. и путем сканирования микропрепаратов на цифровом сканере Leica Aperio AT2 с последующим отбором изображений в программе Aperio ImageScope 12.4.3.

Молекулярно-генетическое исследование

Первый этап молекулярно-генетического исследования

Для выявления мутаций генов *KRAS*, *BRAF* и *NRAS* использованы парафиновые блоки с исследованным материалом (таблица 6), из которых была выделена геномная ДНК (набором для выделения ДНК “DNA Sample Preparation Kit, Cobas®” Roche, USA). Для определения мутаций генов *KRAS* и *BRAF* использовался метод ПЦР в режиме реального времени (ПЦР РВ) набором реагентов “*KRAS/BRAF* Mutation Analysis Kit” (EntroGen, USA); аналитическая панель включала мутации 2,3,4 экзона гена *KRAS* и мутацию

гена *BRAF* p.V600E. Определение мутаций гена *NRAS* проводилось также методом ПЦР в режиме реального времени с помощью набора реагентов «Тест-*NRAS*-ткань» фирмы ТестГен (Россия). Принцип определения мутаций заключается в проведении аллель-специфичной ПЦР с набором праймеров и зондов, позволяющих выявить и отдифференцировать мутации 12, 13 и 61-го кодонов гена *NRAS*, сопровождающиеся аминокислотными заменами: Gly12Asp, Gly12Cys, Gly12Ser, Gly13Asp, Gly13Arg, Gln61Lys, Gln61Leu, Gln61Arg. Набор реагентов специально разработан с учётом возможности выявления мутаций в ДНК, выделенной из фиксированной формалином и заключённой в парафин ткани.

Таблица 6 – Количество случаев, исследованных на наличие мутаций генов *BRAF*, *KRAS* и *NRAS*

Тип зубчатых аденом	Число образований/ число пациентов
Все типы ЗП	71/71
СЗП	26/26
ГП	26/26
ТЗА	17/17
СЗП червеобразного отростка	2/2

Выделение ДНК для молекулярно-генетических методов исследования проводилось из фиксированного в 10% нейтральном формалине и заключённого в гистологические парафиновые блоки, из которых производились параллельные срезы с шагом 3-4 мкм. Выделение ДНК проводилось с помощью набора материалов и реагентов Cobas DNA Sample Preparation Kit (производитель Roche Molecular Systems, США) и включало основные этапы: депарафинизация, лизис ткани, сорбция ДНК на сорбирующие колонки, промывка и элюция ДНК в ТЕ-буфер. Количество и качество выделенной ДНК оценивалось спектрофотометрическим методом с помощью микрофотометра NanoDrop (Thermo Scientific, США).

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

При запуске каждой аналитической серии проводился анализ положительного и отрицательного контрольного образца отсутствия контаминации (входят в состав набора реагентов), с целью контроля правильности постановки ПЦР. Кроме того, в качестве внутреннего контроля данным набором реагентов используется человеческая ДНК, выявление которой по отдельному флюоресцентному каналу в каждом образце позволяет контролировать достаточность ДНК-матрицы в образце и отсутствие ингибиторов ПЦР. Выявление мутаций констатируется по итогам анализа данных, включая правильное прохождение всех контрольных точек и выявление специфических для мутаций кривых флюоресценции – согласно инструкции к набору реагентов.

Панель выявляемых мутаций включает: ген *KRAS* (12,13,61,117,146 кодоны): ген *KRAS* (12,13,61,117,146 кодоны): G12A (с.35G>C); G12D(с.35G>A); G12R (с.34G>C); G12C (с.34G>T) ; G12S (с.34G>A); G12V (с.35G>T); G13D (с.38G>A); Q61H (с.183A>C; с.183A>T); Q61H (с.182A>T); Q61R (с.182A>G); K117N (с.351A>C; с.351A>T); K117R(с.350A>G); K117E (с.349A>G); A146T (с.436G>A); A146P (с.436G>C); A146V (с.437C>T); ген *BRAF*: V600E (с.1799T>A), 12, 13 и 61-го кодонов гена *NRAS*, сопровождающиеся аминокислотными заменами: Gly12Asp, Gly12Cys, Gly12Ser, Gly13Asp, Gly13Arg, Gln61Lys, Gln61Leu, Gln61Arg. Лимит детекции мутаций – 5% на фоне ДНК дикого типа.

Второй этап молекулярно-генетического исследования

Для обнаружения микросателлитной нестабильности был использован метод ИГХ диагностики с антителами к MLH1 (G168-728), PMS2 (MRQ-28),

MSH2 (G219-1129) и MSH6 (44) с обязательным контролем. Появление MCH расценивалось при отсутствии экспрессии в эпителиальных клетках в 3-х и более смежных криптах, по рекомендациям Pai R.K. et al. (2019) [159], в парах MLH1 и PMS2 или MSH6 и MSH2, или всех четырех маркеров. Дополнительно оценивался также маркер MLH1 в случаях ЗП с наличием и без дисплазии.

Нами были отобраны 28 наблюдений ЗП (16 – СЗП толстой кишки и 2 – СЗП червеобразного отростка, 5 – ТЗА толстой кишки, 5 – ГП толстой кишки) для исследования MCH с помощью ИГХ диагностики с панелью антител к MLH1, PMS2, MSH2 и MSH6 с обязательным контролем, которые на первом этапе генетического исследования были оценены на наличие мутаций генов *KRAS*, *BRAF* и *NRAS*.

При отсутствии экспрессии маркеров MLH1 и PMS2 или всех четырех маркеров более чем в 3-х смежных криптах расценивалось как MCH высокой степени.

При отсутствии экспрессии маркеров MSH2 и MSH6 более чем в 3-х смежных криптах расценивалось как MCH низкой степени.

Анализ медицинской документации

Обязательным этапом явилось изучение истории болезни с оценкой пола, возраста пациентов и анализом анамнестических данных о заболеваниях толстой кишки. Для этого учитывались протоколы колоноскопии с определением типа эндоскопического вмешательства, локализации и количества образований, их размера и типа согласно Парижской эндоскопической классификации новообразований желудочно-кишечного тракта (рисунок 1).

Новообразования в пищеводе, желудке и толстой кишке при эндоскопическом выявлении предложено называть «поверхностными», которое относится к 0 типу.

Полиповидные поражения 0-I типа разделяются на тип 0-Ip и тип 0-Is (на ножке и сидячие). Из-за отсутствия клинического значения нами не вводился промежуточный тип 0-Isp (наполовину на ножке) и такие повреждения классифицировались как тип Is.

При небольших возвышающихся неопластических поражениях соответствующая классификация полиповидного типа на широком основании 0-Is и неполипвидного приподнятого типа 0-IIa легче осуществляется путём расположения вблизи поражения биопсийных щипцов в качестве измерительного инструмента. Этот стандарт относится к высоте поражения, а не к диаметру последнего. Поражения, выступающие выше уровня закрытых чашечек биопсийных щипцов (приблизительно 2,5 мм), классифицируются как 0-Is; поражения, выступающие ниже этого уровня, классифицируются как 0-IIa [16].

Статистическое исследование

Статистический анализ выполняли в программах MS Excel, Statistica 10.0. и IBM SPSS Statistics v25 (IBM corp., USA). Нормальность распределения количественных переменных проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. В качестве параметров описательной статистики для нормально распределённых количественных переменных рассчитывали средние арифметические значения и стандартные отклонения ($M \pm SD$), для переменных с распределением, отличным от нормального - медианы и квартили ($Me [LQ; UQ]$). Сравнение количественных переменных в двух группах проводили с помощью критерия Манна-Уитни, в трёх группах и более - с помощью критерия Крускала-Уоллиса с апостериорными сравнениями критерием

Данна. Для качественных переменных рассчитывали абсолютные и относительные частоты - n (%). Анализ таблиц сопряженности качественных переменных проводили с помощью критериев Хи-квадрат и точного критерия Фишера. При множественных попарных сравнениях применяли поправку Бонферрони. Анализ корреляций проводили с помощью критерия ранговой корреляции Спирмена. При проверке статистических гипотез уровень значимости был установлен равным 0,05 (нулевые гипотезы отвергали при $p < 0,05$). Перед началом работы методом Колмогорова-Смирнова был проведен анализ цифровых данных на нормальность распределения.

Глава 3. Результаты исследования

3.1. Клинические и половозрастные данные зубчатых поражений толстой кишки

Все случаи были рассмотрены с точки зрения клинических данных и эндоскопических характеристик.

Зубчатые поражения толстой кишки были диагностированы у пациентов в возрасте от 26 до 87 лет (средний возраст составил 59,1 лет) (таблица 7). Больше половины всех ЗП встречались у пациентов старше 60 лет (56,76%).

Таблица 7 – Возрастные особенности зубчатых поражений

Тип	Число наблюдений	Число пациентов	Среднее значение (лет)	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка среднего
ГП	238	193	58,8	13,88	0,88
СЗП	201	124	56,8	13,78	0,97
ТЗА	42	36	66,7	11,9	0,77
Все ЗП	481	343	59,1	13,7	0,63

Средний возраст пациентов с СЗП составил 56,8 лет (от 29 до 87 лет) и оказался ниже на 2 года, чем у пациентов с ГП, и на 9,9 лет – с ТЗА. Более 50% с СЗП были моложе 60 лет. ГП, которые диагностируются наиболее часто среди ЗП, встречаются у пациентов разных возрастных категорий со средним значением 58,8 лет и диапазоном от 26 лет до 86 лет. Для пациентов с ТЗА средний возраст составил 66,7 лет (от 31 до 81 года), и у 76,19% пациентов ТЗА были диагностированы у людей старше 60 лет (таблицы 7, 8). Были получены статистически значимые различия по среднему возрасту между группами ГП-ТЗА ($p=0,002$) и СЗП-ТЗА ($p<0,001$).

Таблица 8 – Распределение наблюдений по возрастным группам и типам зубчатых поражений

Возрастные группы	20-49 лет	50-59 лет	60-69 лет	70-79 лет	80 и более
Все типы ЗП	122 (25,36%)	86 (17,88%)	141 (29,31%)	118 (24,53%)	14 (2,91%)
ГП	58 (24,37%)	37 (15,55%)	74 (31,09%)	60 (25,21%)	9 (3,78%)
СЗП	60 (29,85%)	43 (21,39%)	56 (27,86%)	40 (19,9%)	2 (1,00%)
ТЗА	4 (9,52%)	6 (14,29%)	11 (26,19%)	18 (42,86%)	3 (7,14%)

Распределение случаев с СЗП и ГП по возрастным группам схоже, при этом наиболее часто встречаются у пациентов в возрастном периоде 20-49 лет и 60-69 лет. В то время как ТЗА достоверно чаще встречаются у пациентов в возрасте от 70 до 79 лет, по сравнению с СЗП ($p=0,002$) (рисунок 3).

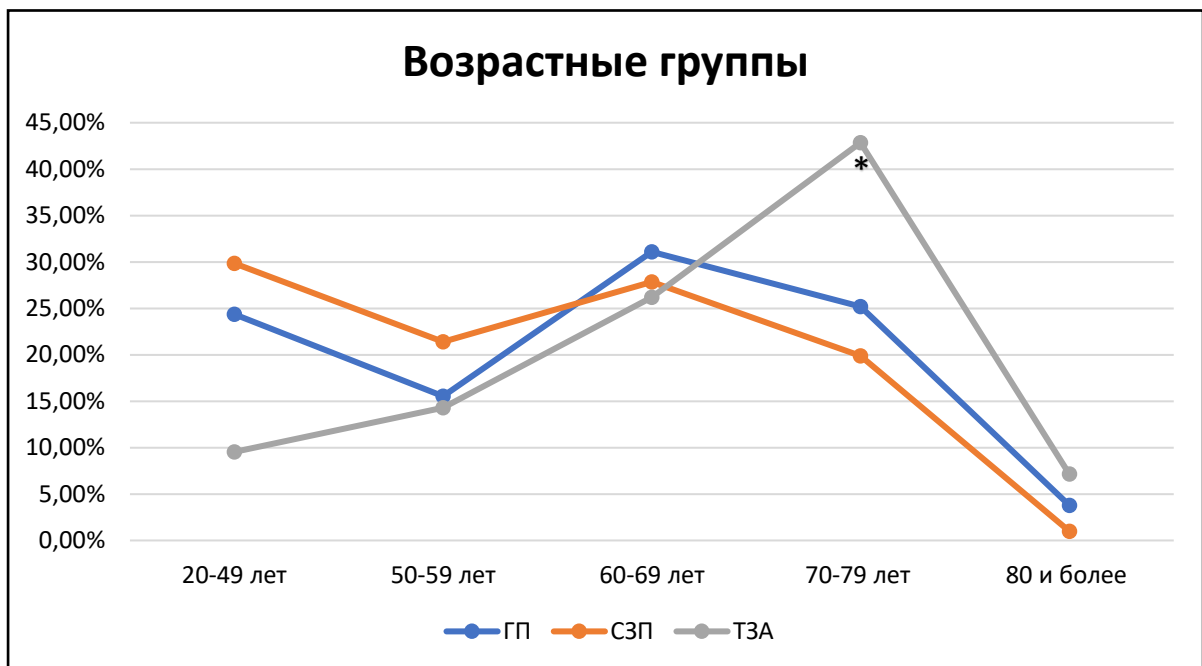


Рисунок 3 – График возрастных особенностей пациентов с зубчатыми поражениями (* - $p=0,002$)

Среди пациентов мужского и женского пола были отмечены различия между гистологическими типами и возрастными группами. У пациентов женского пола статистически значимо чаще встречались СЗП, чем ГП ($p=0,037$), ТЗА – одинаково часто как у мужчин, так и у женщин (рисунок 4). У большинства пациентов мужского пола ЗП диагностировались в возрасте от 20 до 49 лет со средним значением 46,5 лет ($\pm 13,4$). Для пациентов женского пола наиболее характерной была возрастная группа от 60 до 69 лет со средним значением 64,7 лет ($\pm 11,7$).

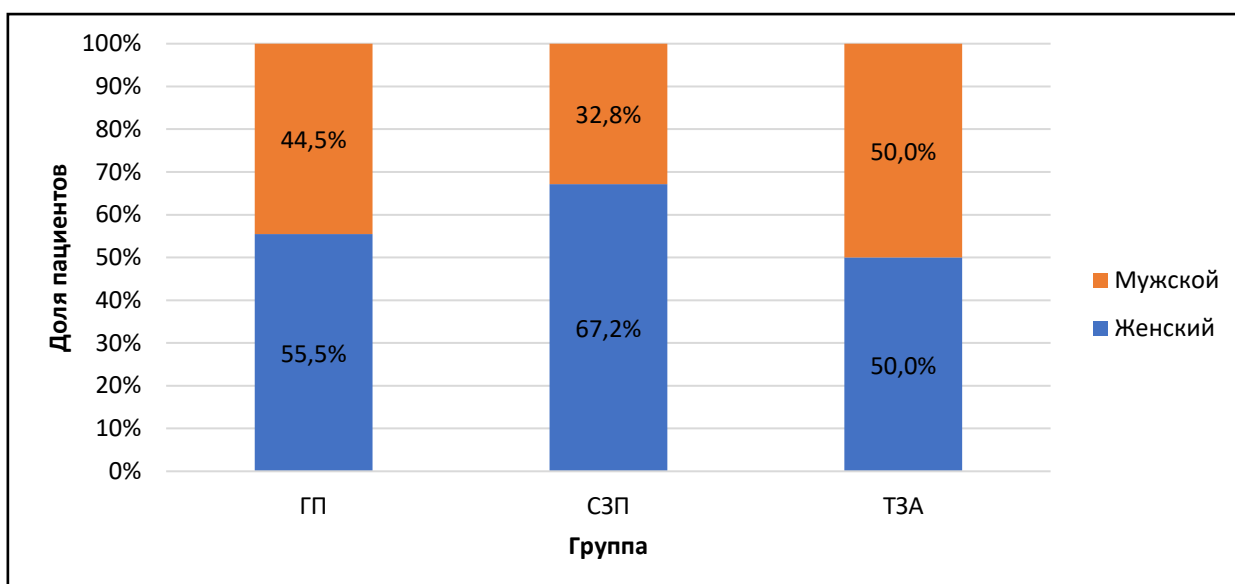


Рисунок 4 - График распределения пациентов мужского и женского пола в группах гиперпластических полипов, сидячих зубчатых поражений и традиционных зубчатых аденом

Было отмечено, что большинство наблюдений СЗП и ГП были выявлены у пациентов мужского пола в возрасте от 20 до 49 лет, в то время как для ТЗА – от 70 до 79 лет (рисунок 5).

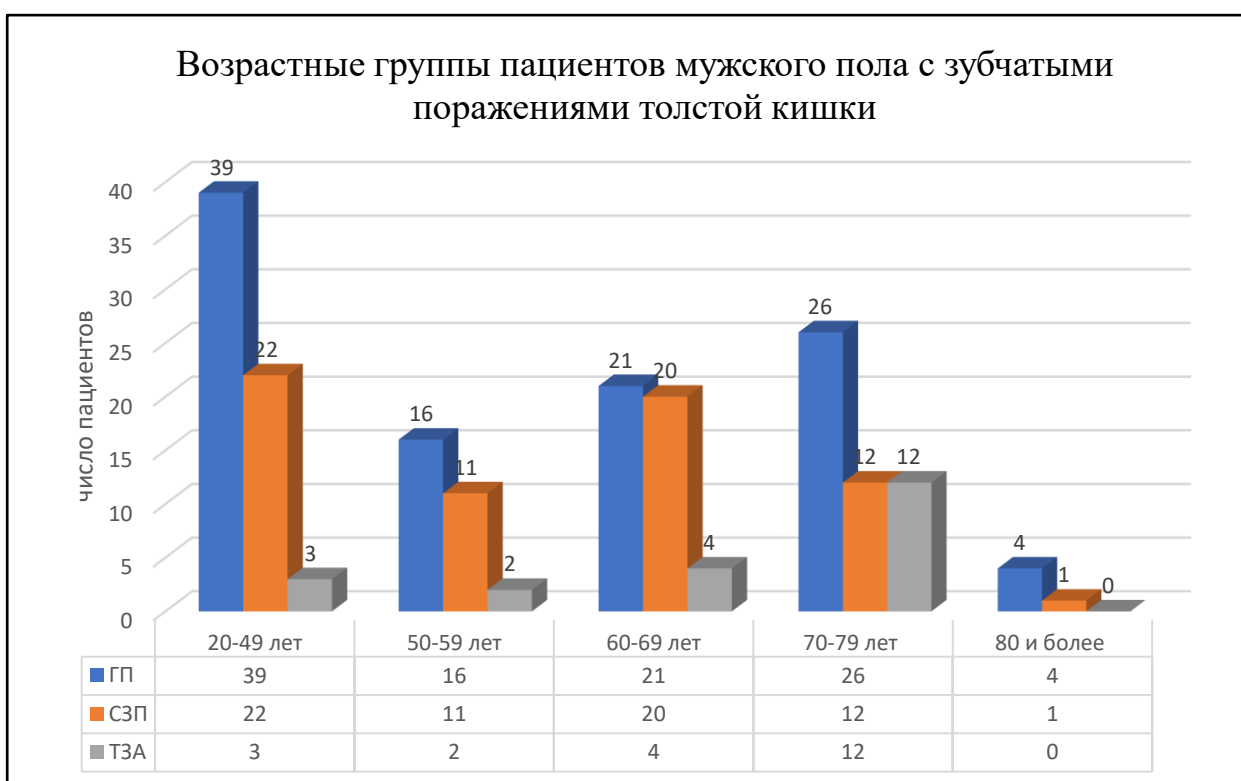


Рисунок 5 – График возрастных особенностей пациентов мужского пола с зубчатыми поражениями в зависимости от их гистологического типа

У пациентов женского пола ГП и ТЗА встречались чаще в возрасте от 60 до 69 лет. При этом наибольшее число СЗП диагностировались в группе от 20 до 49 лет.

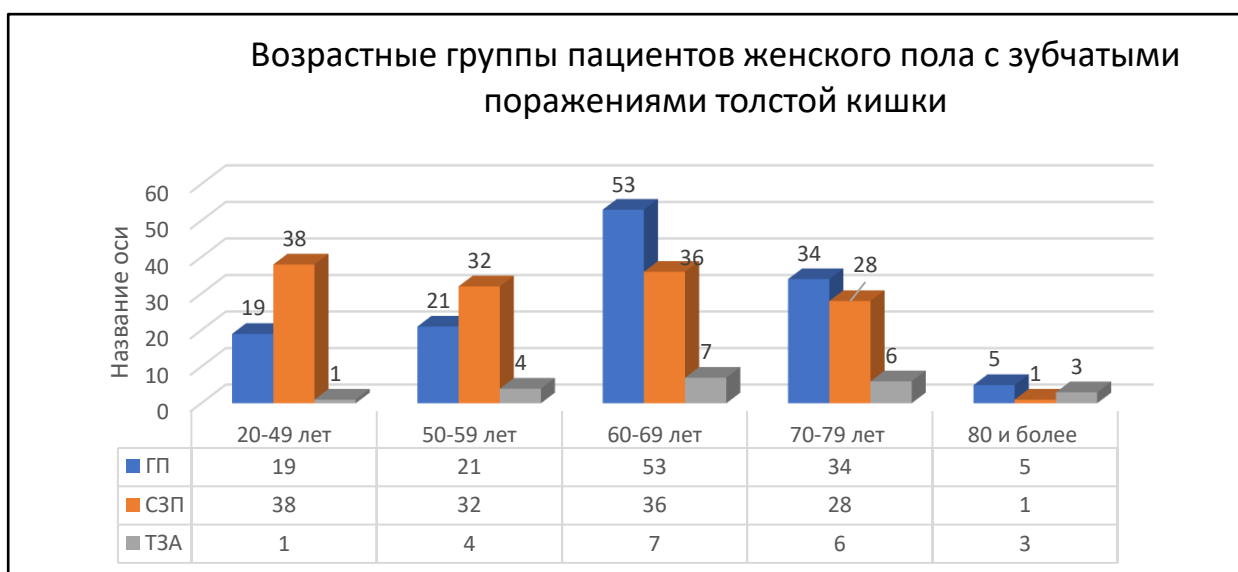


Рисунок 6 – График возрастных особенностей пациентов женского пола с зубчатыми поражениями в зависимости от гистологического типа

При оценке распределения ЗП в различных отделах толстой кишки были получены следующие данные. ГП и ТЗА наиболее часто диагностируются в левой половине толстой кишки – 56,7% и 54,8% соответственно (рисунок 7). Для СЗП, наоборот, в 72,6% была характерна правосторонняя локализация, что статистически значимо отличалось от ГП ($p < 0,001$) и ТЗА ($p = 0,05$) (рисунок 7).

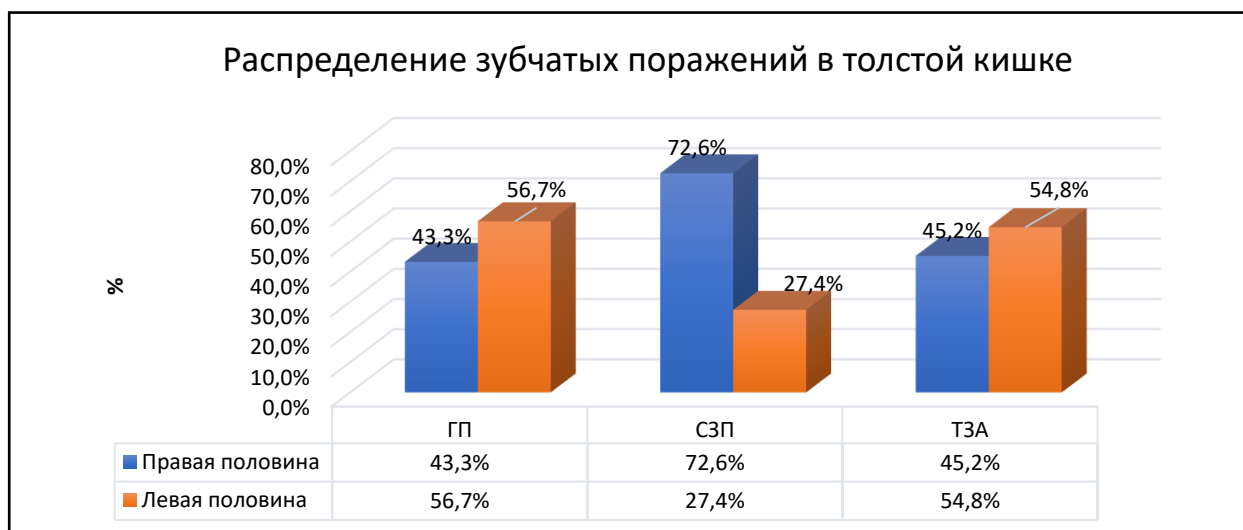


Рисунок 7 – Распределение зубчатых поражений в зависимости от гистологического типа в правой и левой половинах толстой кишки

При сравнительном анализе наблюдений ЗП у пациентов было отмечено, что у женщин наиболее часто возникали ЗП в правой половине толстой кишки (60,8%), при этом у мужчин не было отмечено характерной локализации, и практически в равных количествах встречались в правой (48,2%) и левой (51,8%) половинах толстой кишки.

Также стоит отметить, что в большинстве наблюдений ЗП диагностировались у пациентов женского пола в восходящей части толстой кишки, а у мужчин – преимущественно в сигмовидной кишке и незначительно реже в восходящей части ободочной кишки (рисунок 8).

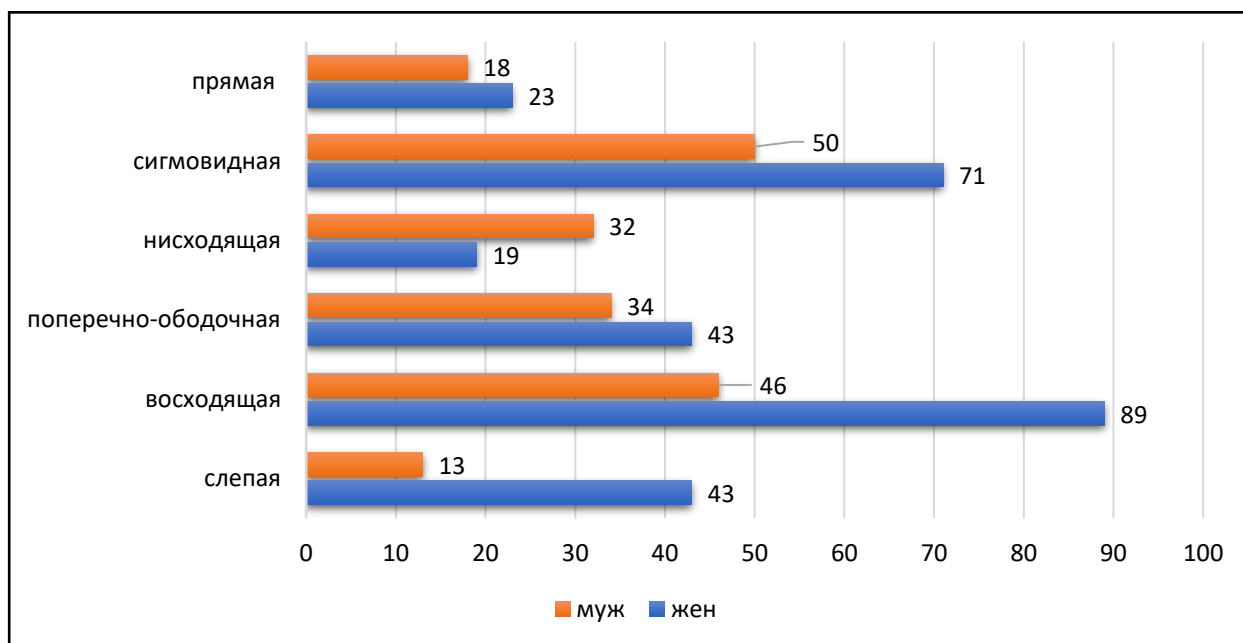


Рисунок 8 – Распределение зубчатых поражений по локализации в толстой кишке в зависимости от пола пациентов

ГП у пациентов женского и мужского пола наиболее часто (в 33,3% и 27,4% соответственно) диагностировались в сигмовидной кишке. И практически одинаково часто выявлялись в восходящей и поперечно-ободочной частях толстой кишки как у мужчин, так и у женщин (рисунок 9).

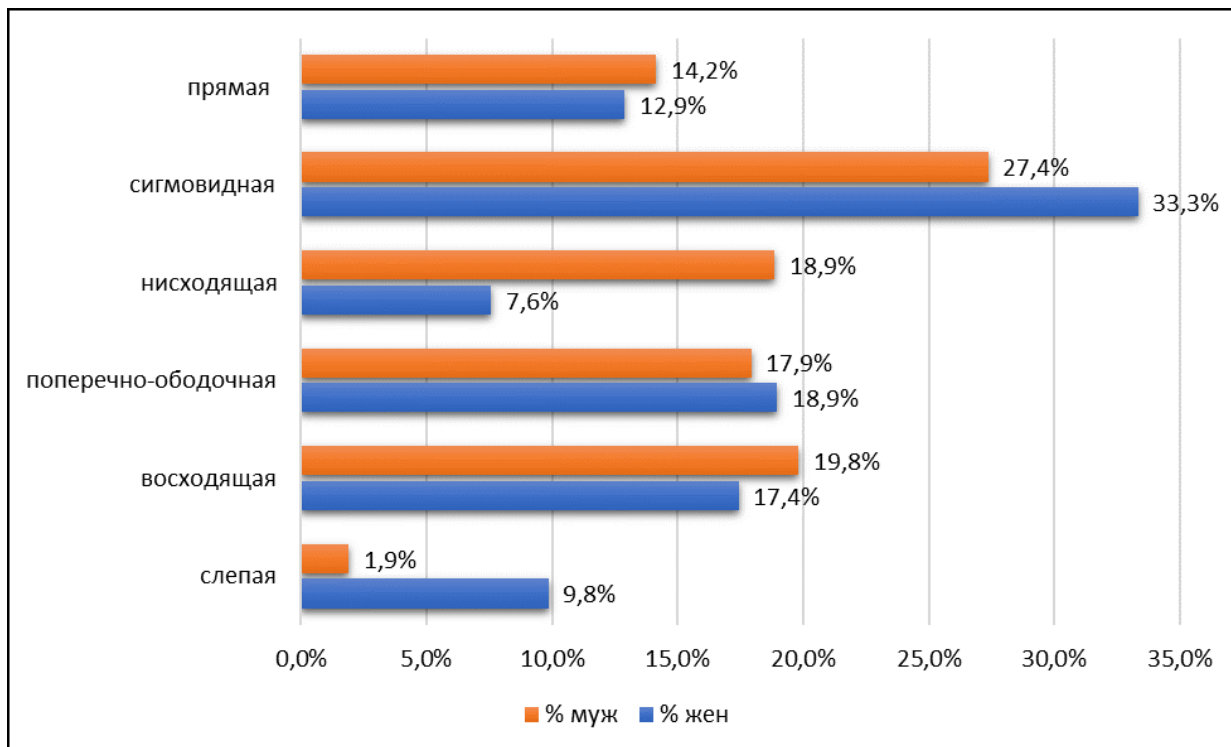


Рисунок 9 – Распределение числа наблюдений гиперпластических полипов по локализации в зависимости от пола пациента

СЗП наиболее часто локализуются в правой половине толстой кишки с преимущественным расположением в восходящей части толстой кишки как у пациентов мужского пола (31,8%), так и женского (44,4%). На втором месте по частоте обнаружения СЗП у женщин оказалась слепая часть толстой кишки (20,0%), а у мужчин – в сигмовидная кишка (21,2%) (рисунок 10).

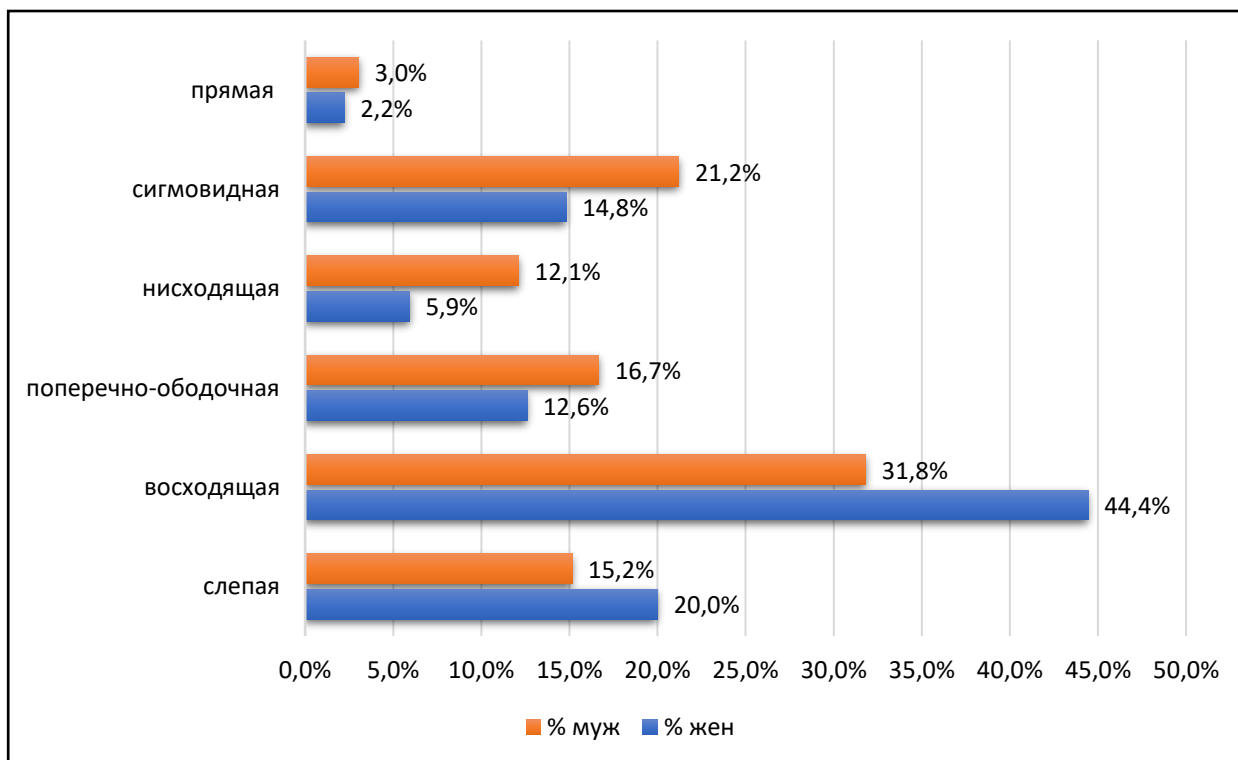


Рисунок 10 – Распределение числа наблюдений сидячих зубчатых поражений по локализации в зависимости от пола пациента

ТЗА встречаются преимущественно в сигмовидной кишке у пациентов как мужского, так и женского пола. В восходящей части ТЗА диагностировались чаще у пациентов женского пола, у мужчин – одинаково часто выявлялись в восходящей, поперечно-ободочной и нисходящей части толстой кишки (рисунок 11).

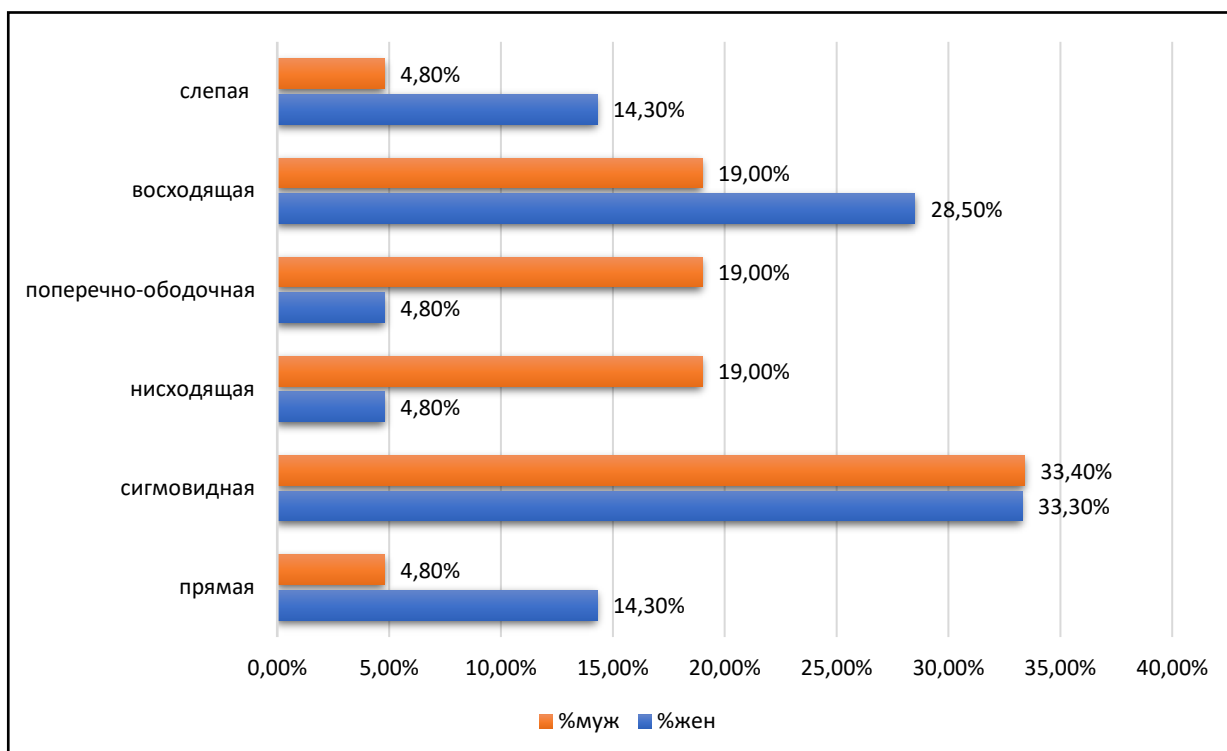


Рисунок 11 – Распределение числа наблюдений традиционных зубчатых аденом по локализации в зависимости от пола пациента

Все ЗП были оценены также с макроскопической точки зрения по данным протоколов эндоскопического исследования (биопсии или полипэктомии) в ГБУЗ «ГКБ№31 ДЗМ», включая размер и тип образования по Парижской эндоскопической классификации (рисунок 1). ГП и СЗП характеризуются размерами в диапазоне от 5 до 10 мм, со средним значением 6,2 мм и 8,4 мм соответственно, которые статистически значимо отличались в группах ($p < 0,001$), и не отличались у пациентов мужского и женского пола. ТЗА достоверно являются наиболее крупными, и большее их количество имело размеры более 16 мм (16,2 мм - среднее значение, $p < 0,001$), при этом среднее значение для мужчин составило 12,5 см, у пациентов женского пола – 18,9 мм (таблица 8).

Таблица 8 – Распределение количества наблюдений зубчатых поражений по размерам

Размеры (диаметр) мм	до 5 мм	от 5 до 9,9 мм	от 10 до 15,9 мм	Более 16 мм
ГП	62 (26,05%)	141 (59,24%)	33 (13,87%)	2 (0,84%)
СЗП	32 (15,92%)	98 (48,76%)	60 (29,85%)	11 (5,47%)
ТЗА	5 (11,90%)	9 (21,43%)	13 (30,95%)	15 (35,72%)

Было установлено, что 0-IIa тип по Парижской классификации преобладал в разных типах ЗП (таблица 9). Вторым наиболее частым типом для ГП и СЗП оказался 0-Is, и для ТЗА - 0-Ip. При сопоставлении типов опухоли по макроскопическому типу статистически значимых различий не выявлено среди мужчин и женщин ($p>0,05$).

Таблица 9 – Распределение наблюдений в соответствии с Парижской эндоскопической классификацией

Парижская классификация (тип)	ГП	СЗП	ТЗА
0-Ip	7,94%	3,65%	30,77%
0-Is	44,44%	18,25%	26,92%
0-Isp	1,59%	2,19%	7,69%
0-IIa	46,03%	75,91%	34,62%

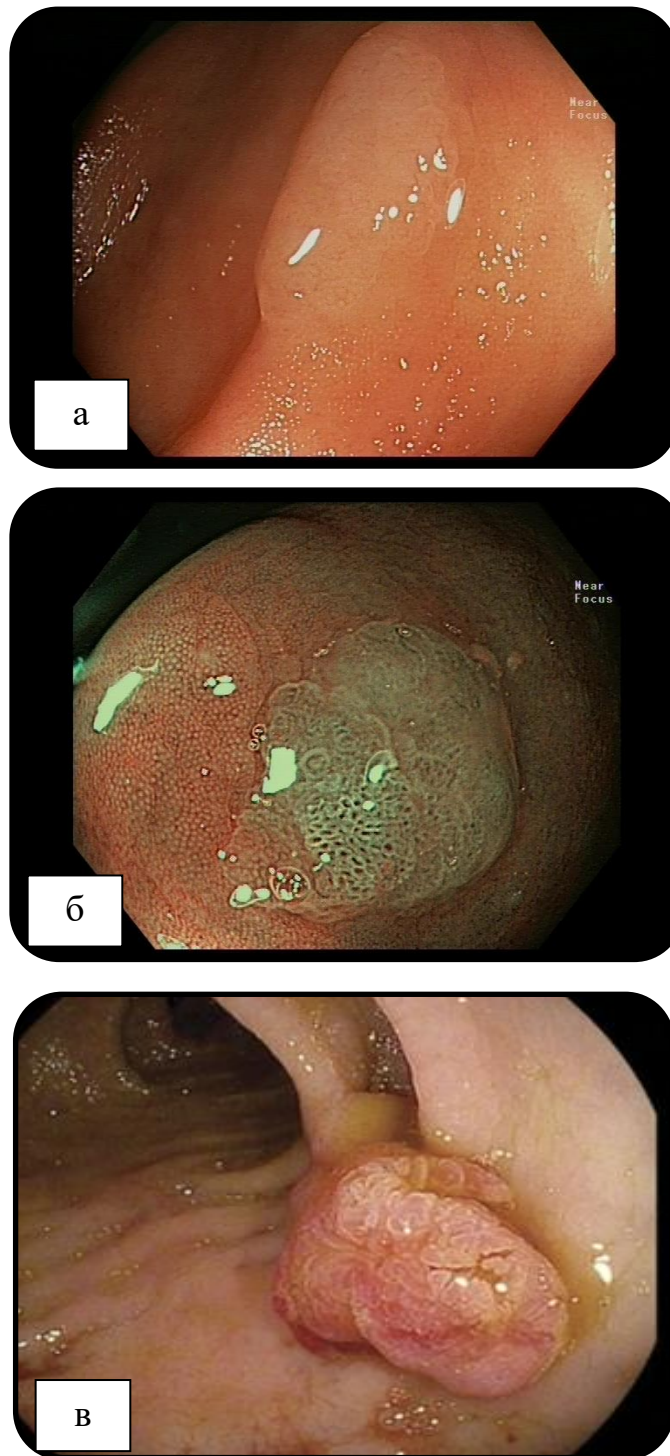


Рисунок 12 – Фотографии эндоскопического исследования толстой кишки. А – гиперпластический полип толстой кишки 0-Па тип по Парижской эндоскопической классификации. Б – сидячее зубчатое поражение толстой кишки 0-Па тип по Парижской эндоскопической классификации. В – традиционная зубчатая аденома толстой кишки 0-Is тип по Парижской эндоскопической классификации

3.1.1. Множественные зубчатые поражения толстой кишки

У 59 пациентов встречалось от 2-х и более ЗП одновременно. Наиболее часто обнаруживались множественные СЗП (30 пациентов), при этом у 6 из них было выявлено от 5 до 13 СЗП, расположенных в разных отделах толстой кишки. Следует отметить, что достаточно часто, у 36,7% (11 пациентов), встречалось по 2-3 СЗП в одной части толстой кишки.

В группе ГП у 24-х пациентов было выявлено множественное поражение, у большинства из которых было от 2-х до 4-х ГП одновременно в различных отделах толстой кишки. Более 5 ГП обнаружено у 2-х пациентов. Множественные ГП в одном отделе толстой кишки диагностировались у 20,8% пациентов.

От 2-х до 4-х ТЗА было диагностировано у 14,3% пациентов от всех наблюдений ТЗА, большая часть которых располагалась в одном отделе толстой кишки.

3.1.2. Сочетание с другими поражениями толстой кишки

Анализ данных анамнеза показал, что у 34 пациентов (9,3%) кроме ЗП толстой кишки были диагностированы и другие заболевания, а именно тубулярная и тубуло-ворсинчатая аденома, колоректальный рак, нейроэндокринная опухоль и воспалительные изменения.

Так, наиболее распространенным было сочетание ЗП с тубулярными и тубуло-ворсинчатыми аденомами – 70,6% (24 пациента), из которых 16 наблюдений с СЗП, 5 – с ТЗА и 3 – с ГП.

У 5 из 6 пациентов с диагностированными СЗП, данные новообразования обнаружены в слепой и восходящей частях ободочной кишки. Одновременно у этих пациентов выявлен колоректальный рак другой части толстой кишки (в 3-х наблюдениях в сигмовидной кишке, 1-м – поперечно-ободочной и 1-м – прямой кишке). У еще одного пациента за 3 года до выявления СЗП, была проведена левосторонняя гемиколэктомия по поводу рака сигмовидной кишки.

Кроме этого, были диагностированы нейроэндокринная опухоль тонкой кишки (1 наблюдение) и микроскопический колит (1 наблюдение).

3.2. Микроскопическая характеристика зубчатых поражений толстой кишки

3.2.1. Гиперпластические полипы

Согласно классификации опухолевых новообразований желудочно-кишечного тракта Всемирной организации здравоохранения от 2019 года [217] ГП подразделяются на два типа:

1. Микровезикулярный гиперпластический полип (МВГП)
2. Богатый бокаловидными клетками (ББГП)

Нами МВГП был обнаружен в 89,1% наблюдений ГП. МВГП характеризуется зубчатой архитектоникой поверхностного эпителия и верхней трети крипт, пролиферативная зона в основании крипт преимущественно симметричная, ядра маленькие, расположены базально, имеют круглую или овальную форму (рисунок 13 а). Просвет крипт ровный, расширен в верхней части, узкий – в базальном отделе. Число бокаловидных клеток снижено, в большинстве эпителиоцитов определяются мелкие капли муцина, содержащие кислые мукополисахариды, которые при окрашивании реактивом Шиффа в сочетании с альциановым синим приобретают синий цвет (рисунок 13 б).

ББГП отличается от МВГП наличием зубчатого эпителия только в поверхностном отделе, пролиферативная зона не выражена, определяется большое количество бокаловидных клеток, заполненных муцином и располагающихся вдоль всей длины крипты, включая основание крипты (рисунок 14 а, б). Среди изученных нами ГП, МВГП встретился лишь в 10,9% наблюдений (26 из 238 ГП).

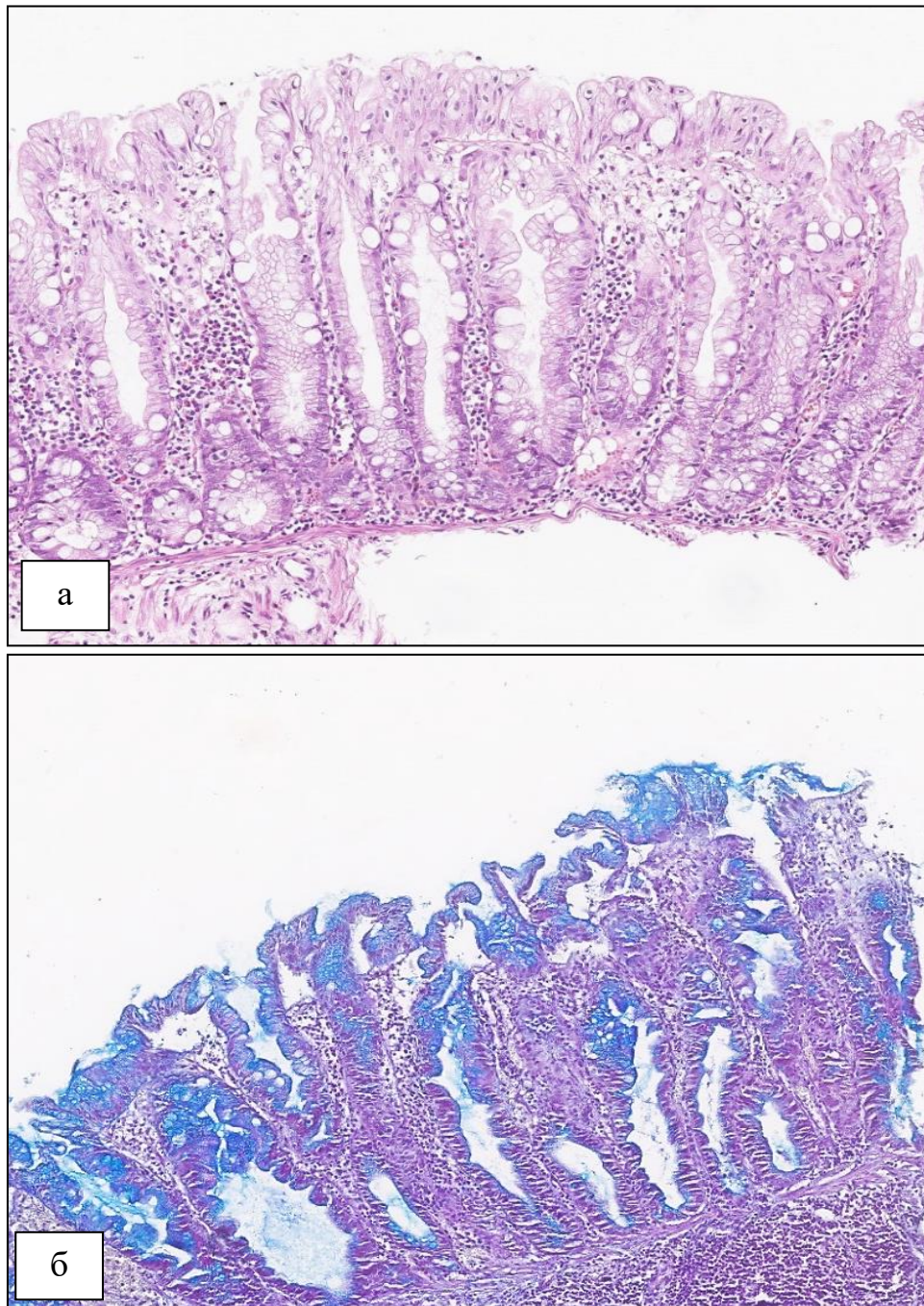


Рисунок 13 – Микрофотографии. Микровезикулярный гиперпластический полип толстой кишки. а) Окр. гематоксилином и эозином, ув. х 100; б) Окр. реактивом Шиффа в сочетании с альциановым синим, ув. х 50

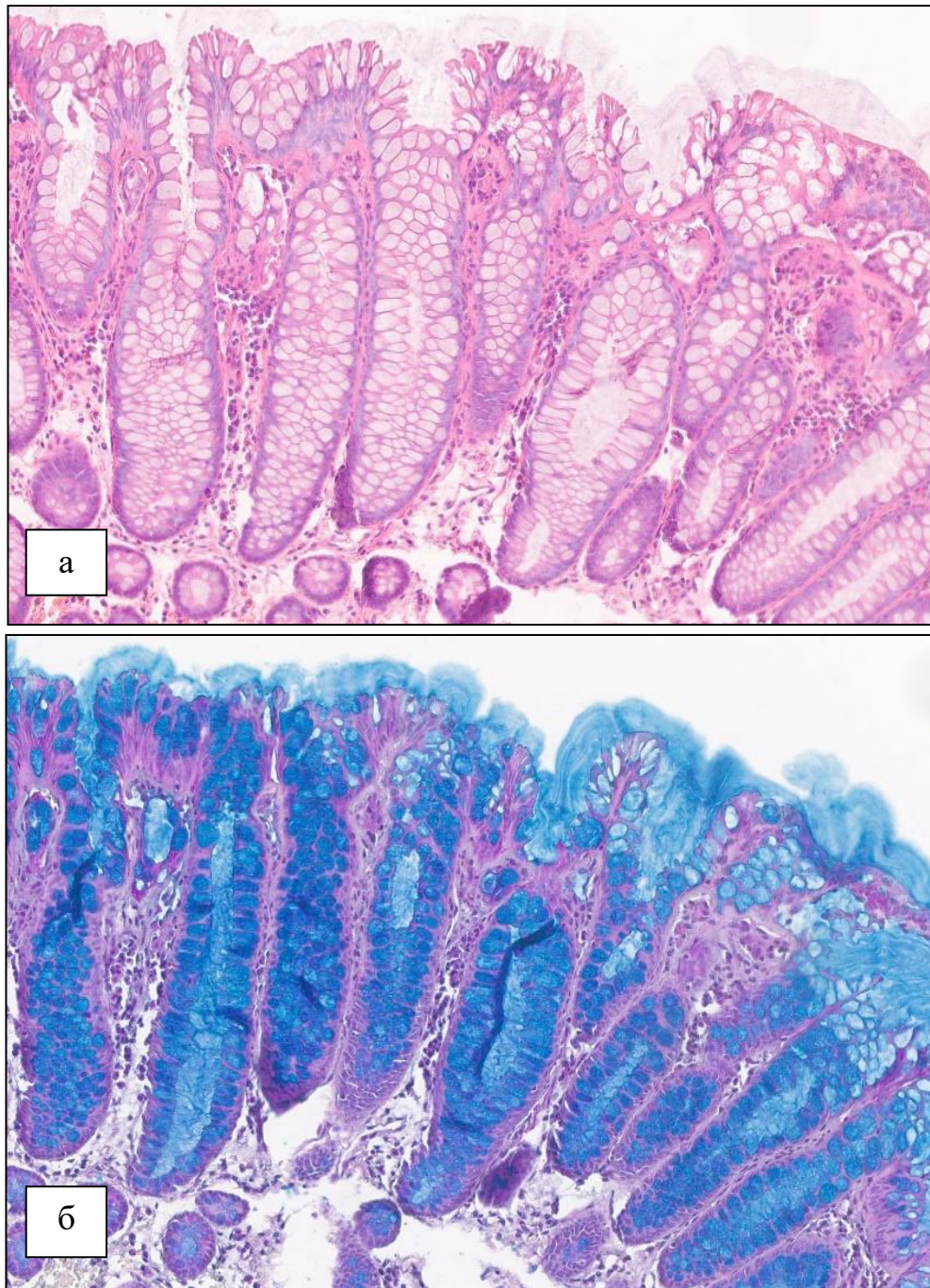


Рисунок 14 – Микрофотографии. Богатый бокаловидными клетками гиперпластический полип толстой кишки. а) Окр. гематоксилином и эозином, ув. х 200; б) Окр. реактивом Шиффа в сочетании с альциановым синим, ув. х 200

3.2.2. Сидячие зубчатые поражения толстой кишки

Сидячие зубчатые поражения имеют уникальную гистоархитектонику в виде расширения базального отдела крипт, которые формируют форму якоря или перевернутых букв «Т» и «L» (рисунок 15). Проллиферативная зона выражена в основании и распространяется вдоль крипты несимметрично.

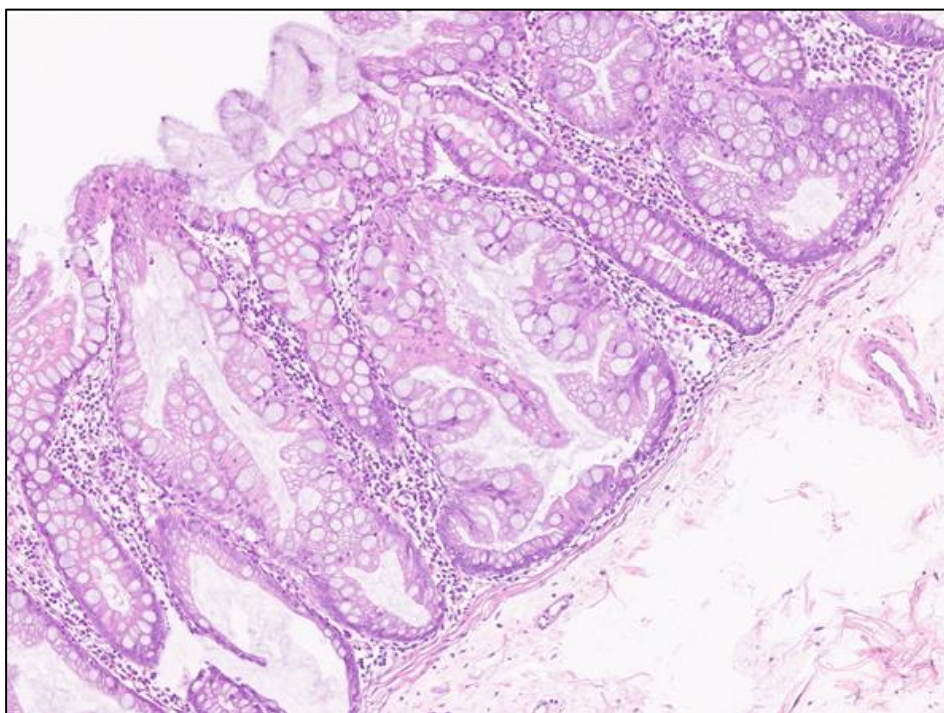


Рисунок 15 – Микрофотография. Сидячие зубчатые поражения толстой кишки без дисплазии, расширение базального отдела крипты с формированием фигуры в виде перевернутой буквы «Т» (центральная крипта). Окр. гематоксилином и эозином, ув. х 200

В 28,4% (57 наблюдений из 201) случаев СЗП были с признаками дисплазии разной степени. Дисплазия низкой степени (low-grade) была выявлена в 16,4% (33 наблюдения из 201), характеризующаяся более плотно расположенными железами и снижением числа бокаловидных клеток (рисунок 16). Дисплазия высокой степени (high-grade) отмечена в 10,5% (21 наблюдение из 201) с формированием более мелких желез, увеличением ядерно-цитоплазматического соотношения, клетки приобретают кубическую форму, появляются ядрышки (рисунок 17 а), резко снижается число бокаловидных клеток, что проявляется в виде исчезновения голубого цвета

при окраске реактивом Шиффа в сочетании с альциановым синим (рисунок 17 б).

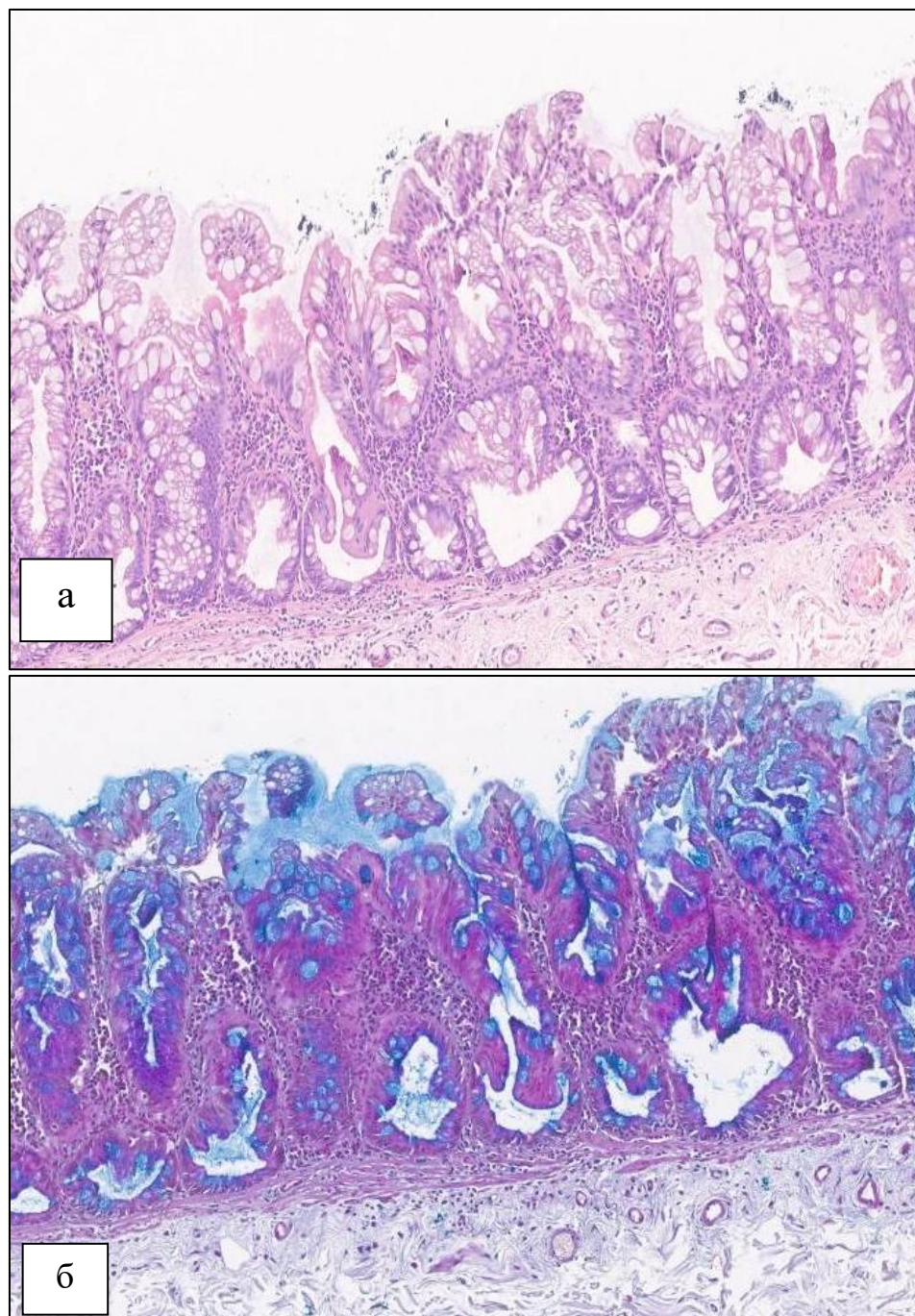


Рисунок 16 – Микрофотографии. Сидячее зубчатое поражение толстой кишки с признаками дисплазии низкой степени (low-grade). А) Окр. гематоксилином и эозином, ув. х 200. Б) Окр. реактивом Шиффа в сочетании с альциановым синим, ув. х 200

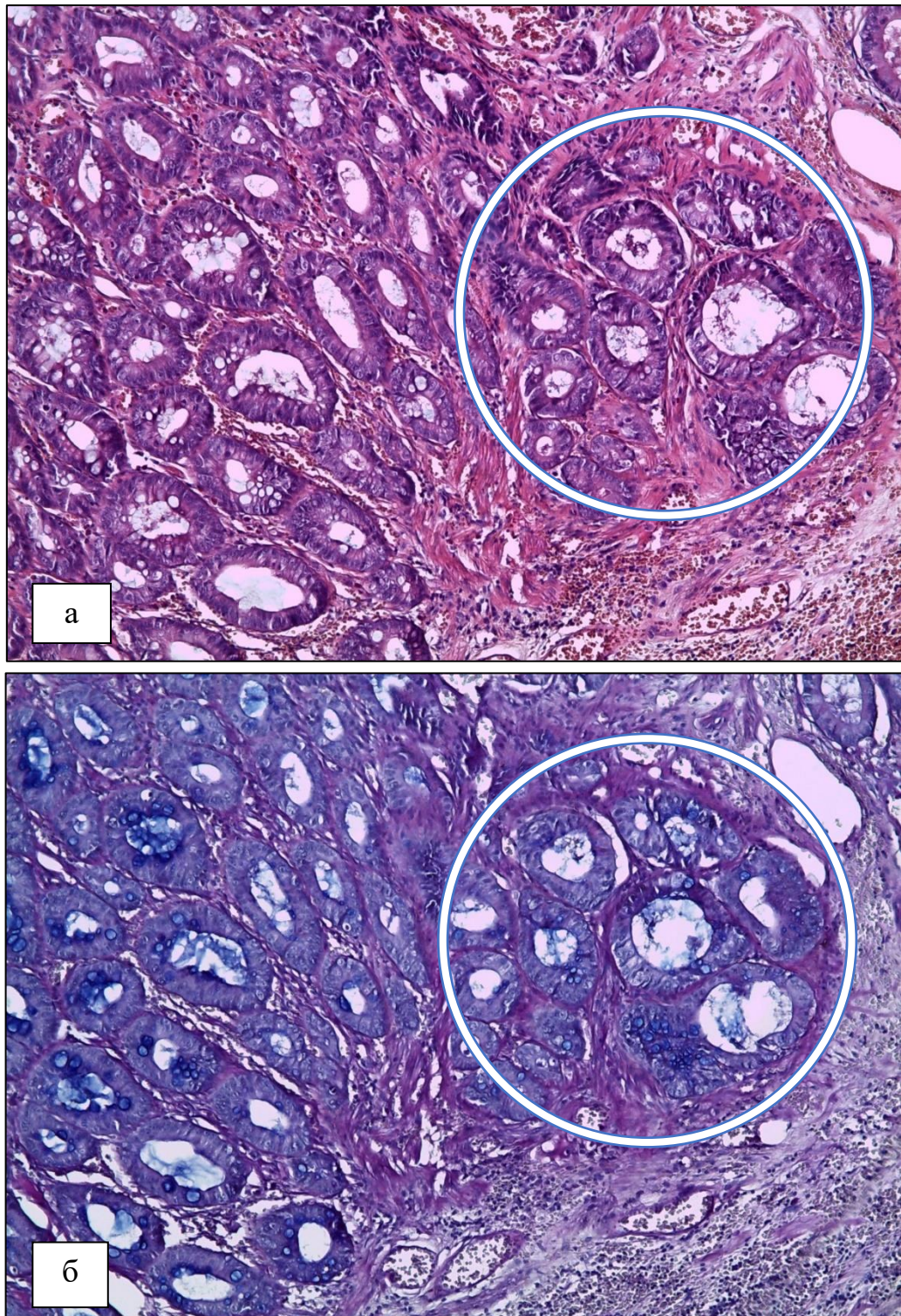


Рисунок 17 - Микрофотографии. Сидячее зубчатое поражение толстой кишки с признаками дисплазии высокой степени (low-grade). А) Окр. гематоксилином и эозином, ув. х 200. Б) Окр. реактивом Шиффа в сочетании с альциановым синим, ув. х 200

В 1,5% СЗП (3 наблюдения из 201) были диагностированы участки малигнизации по типу высоко- и умереннодифференцированной аденокарциномы (рисунок 18, 19). Клетки имели признаки ядерной атипии с увеличенным ядром и хорошо выраженными ядрышками, и фигурами митоза.

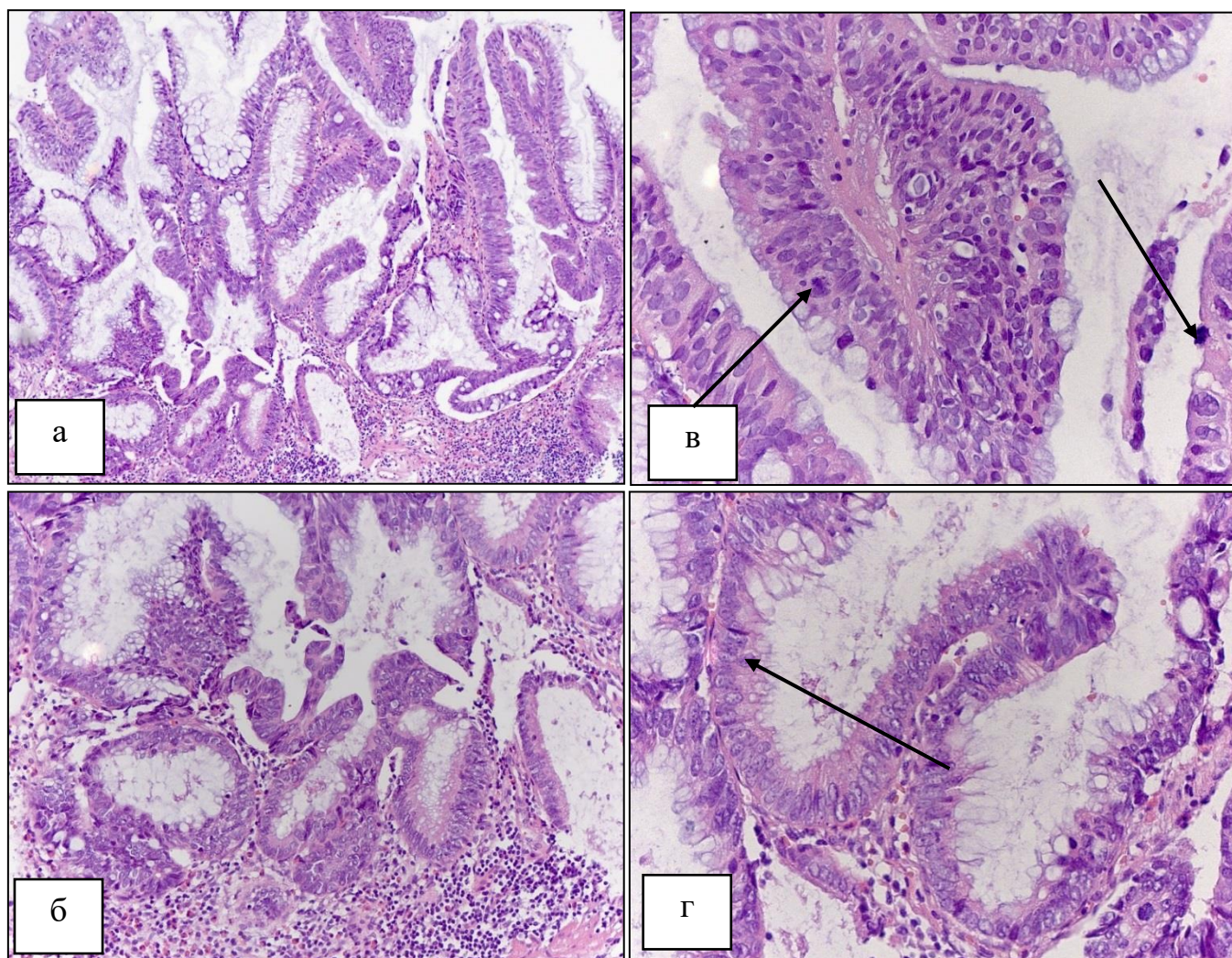


Рисунок 18 – Микрофотографии. Сидячее зубчатое поражение с признаками малигнизации по типу высокодифференцированной аденокарциномы (митозы обозначены стрелкой). Окр. гематоксилином и эозином, а - ув. х 100, б - ув. х 200, в, г - ув. х 400

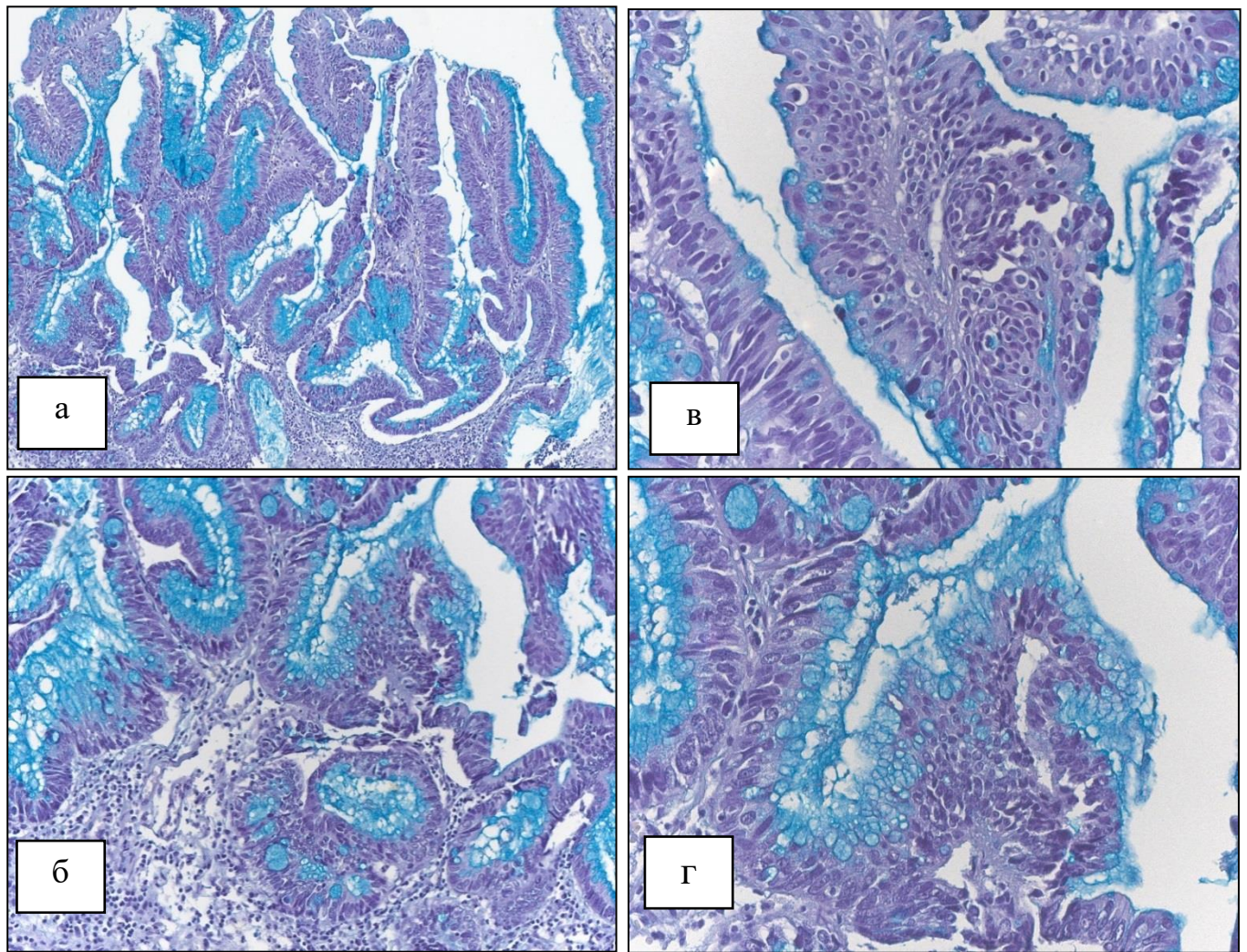


Рисунок 19 – Микрофотографии. Сидячее зубчатое поражение с признаками малигнизации по типу высокодифференцированной аденокарциномы. Окр. реактивом Шиффа в сочетании с альциановым синим, а - ув. х 100, б - ув. х 200, в, г - ув. х 400

В 2,5% наблюдений с СЗП признаков дисплазии не обнаружено, однако были выявлены участки пролапса (рисунок 20 а, б).

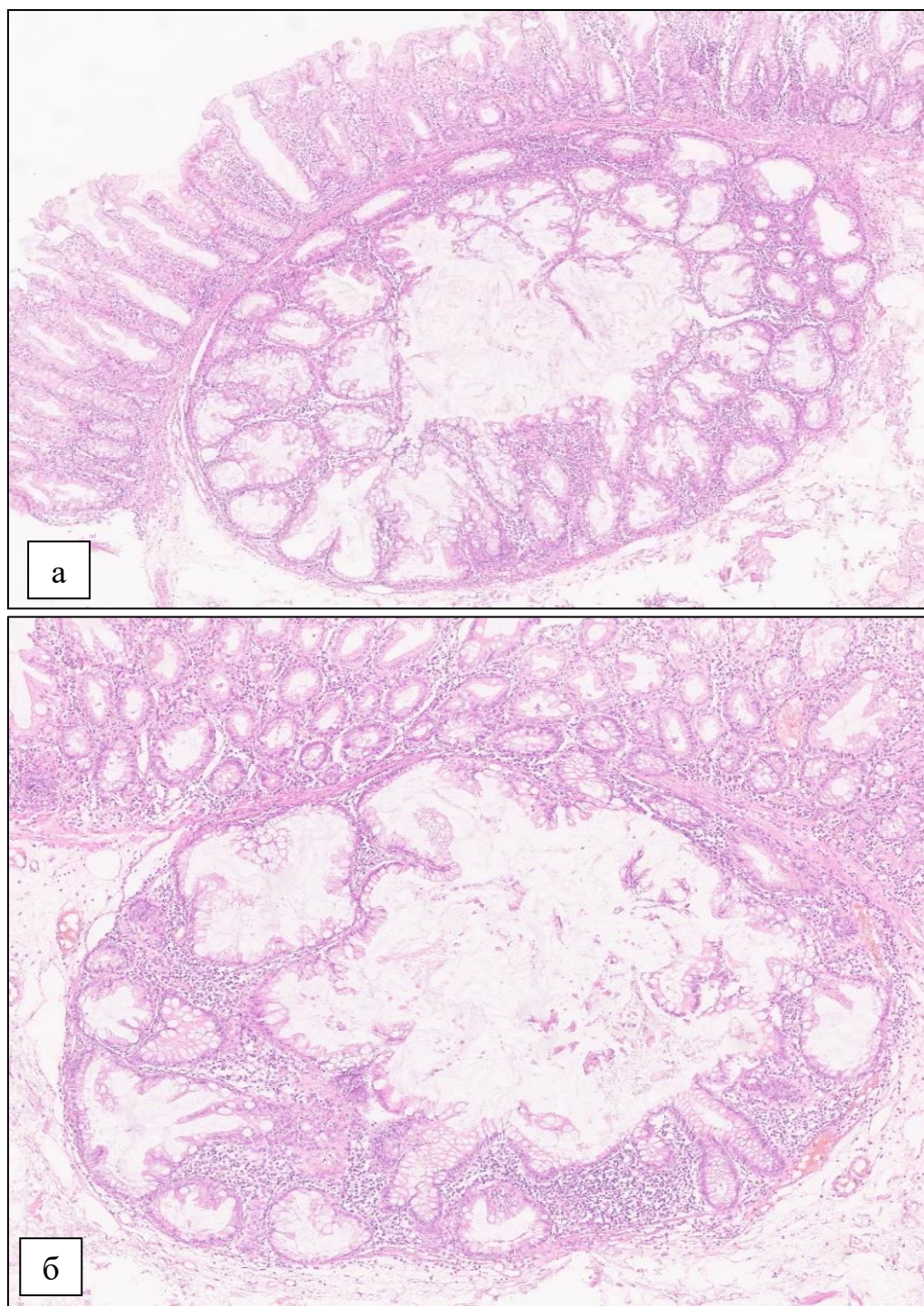


Рисунок 20 – Микрофотографии. Сидячее зубчатое поражение толстой кишки с признаками пролапса. Окр. гематоксилином и эозином, а – ув. х 40; б – ув. х100

3.2.3. Традиционные зубчатые аденомы

ТЗА встречались наиболее редко среди всех типов ЗП. Характерной морфологической чертой являлось отхождение от основной крипты перпендикулярных ответвлений (отмечено на рисунке 21 а стрелкой) в сочетании с зубчатостью просвета и вытянутыми «pencil-like» ядрами и выраженной эозинофильной цитоплазмой (рисунок 21 б).

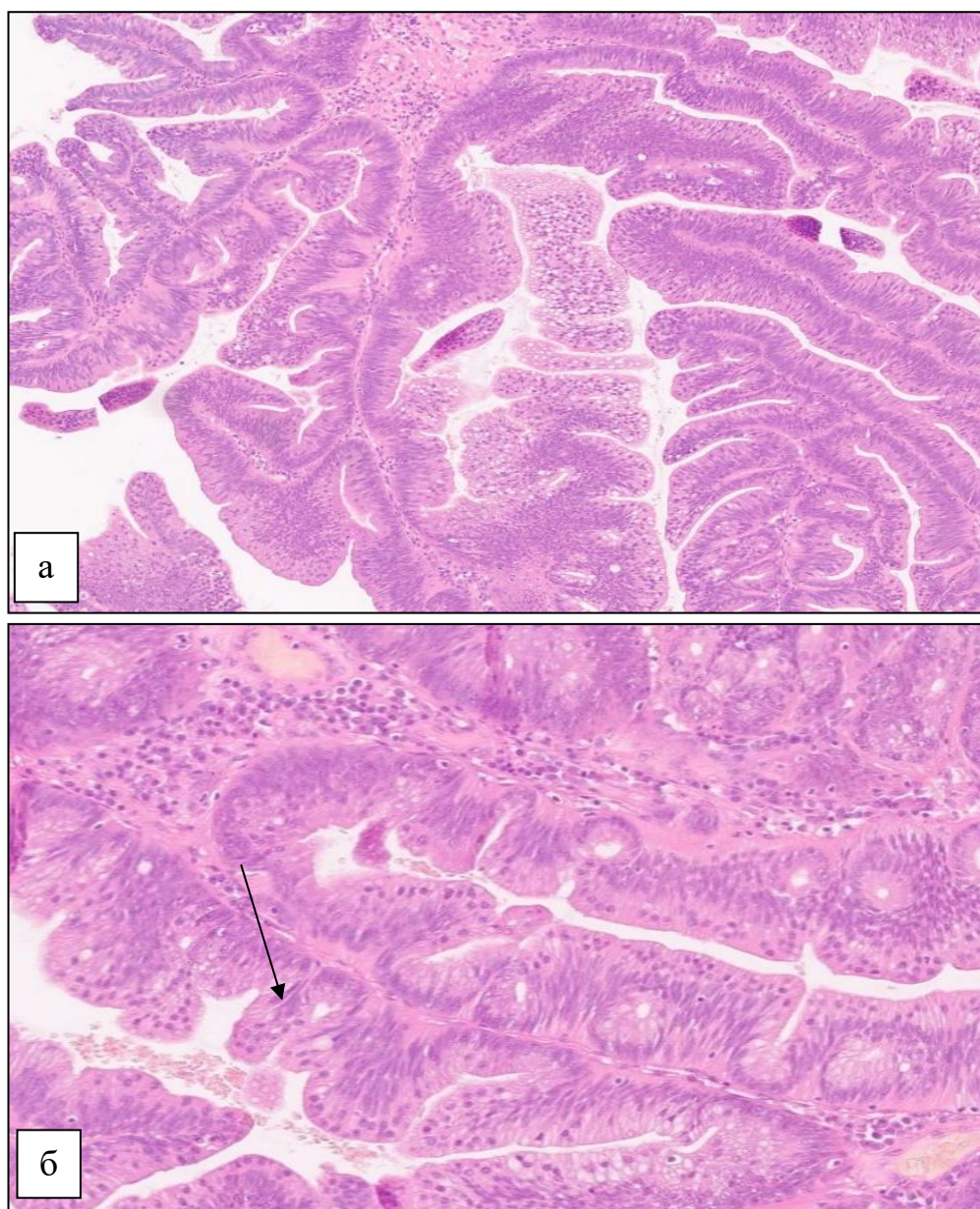


Рисунок 21 – Микрофотография. Традиционная зубчатая аденома толстой кишки с признаками дисплазии низкой степени (low-grade). Окр. гематоксилином и эозином, а – ув. х 100; б- ув. х 200

Бокаловидные клетки встречались редко, также отмечалось частичное изменение состава слизи с преобладанием нейтральных мукополисахаридов, которые при окраске реактивом Шиффа в сочетании с альциановым синим окрашивались в розовый цвет (рисунок 22 отмечено стрелкой).

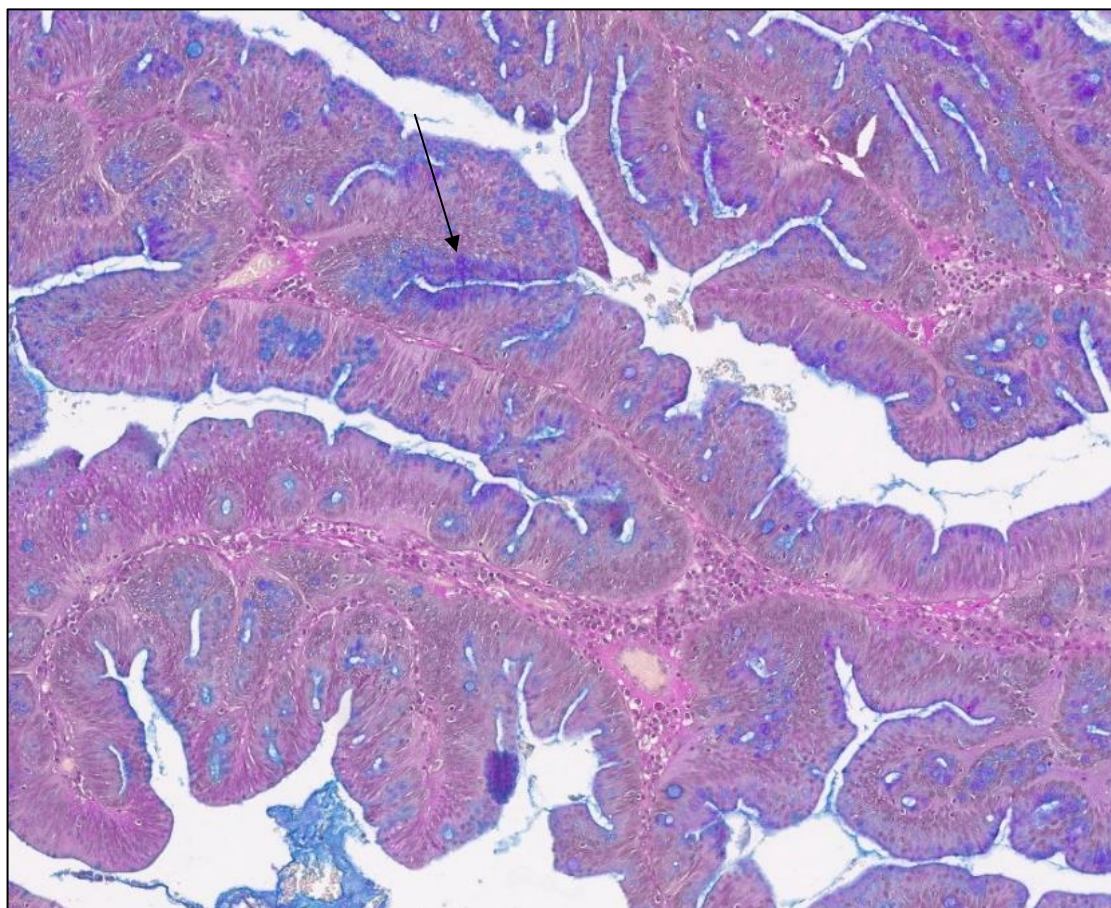


Рисунок 22 – Традиционная зубчатая аденома толстой кишки с признаками дисплазии низкой степени (low-grade). Окр. реактивом Шиффа с альциановым синим, ув. х 200

Следует подчеркнуть, что в 76,2% случаев с ТЗА была выявлена дисплазия высокой и низкой степени (рисунок 23), а в 11,9% - очаги малигнизации по типу умеренно- и высокодифференцированной аденокарциномы (рисунок 24). Лишь в 11,9% наблюдений ТЗА дисплазии не обнаружено.

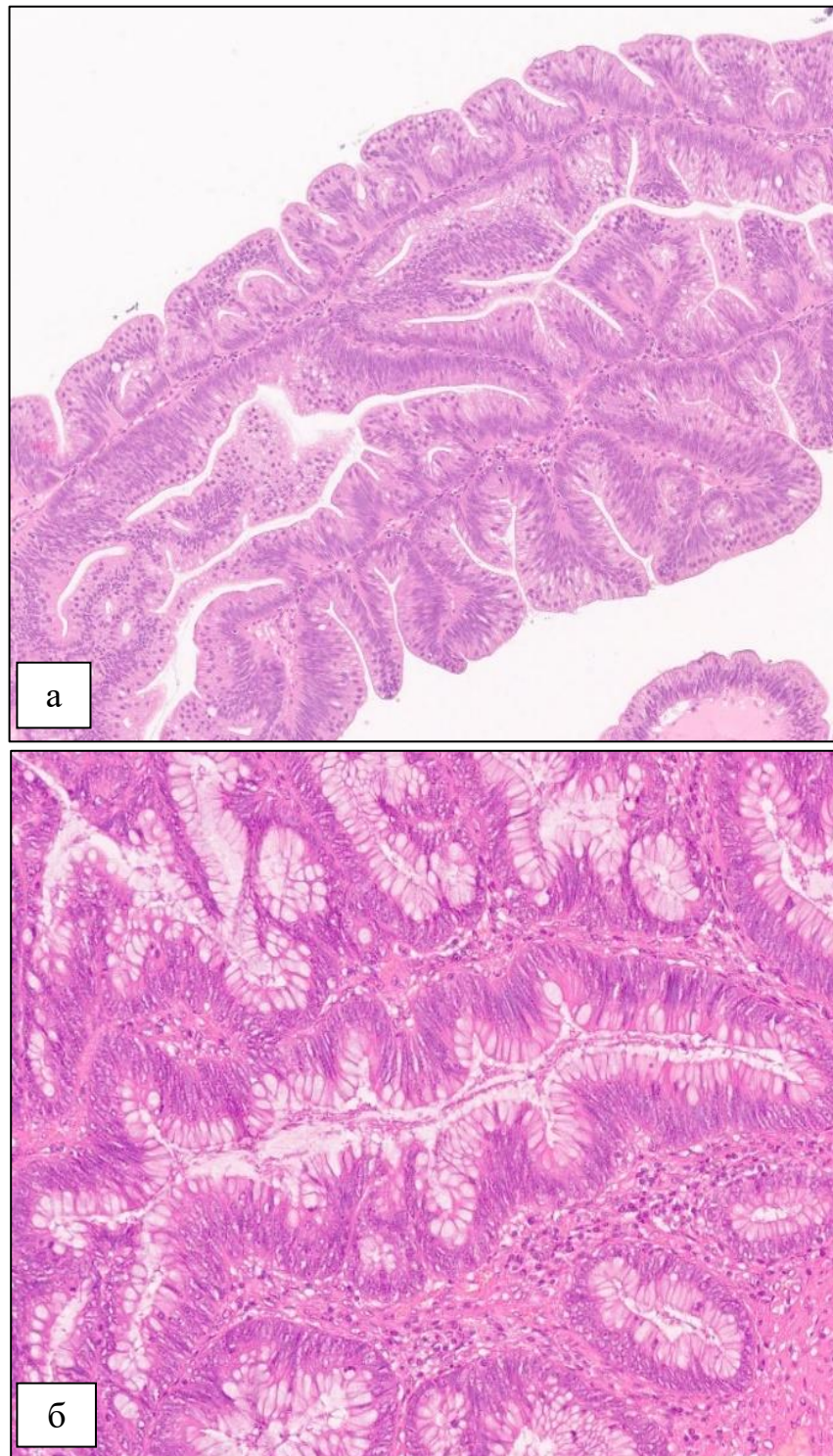


Рисунок 23 – Микрофотографии. Традиционные зубчатые аденомы толстой кишки с дисплазией низкой степени (low-grade) (а) и высокой степени (high-grade) (б). Окр. гематоксилином и эозином, а – ув. х 100; б - ув. х 200

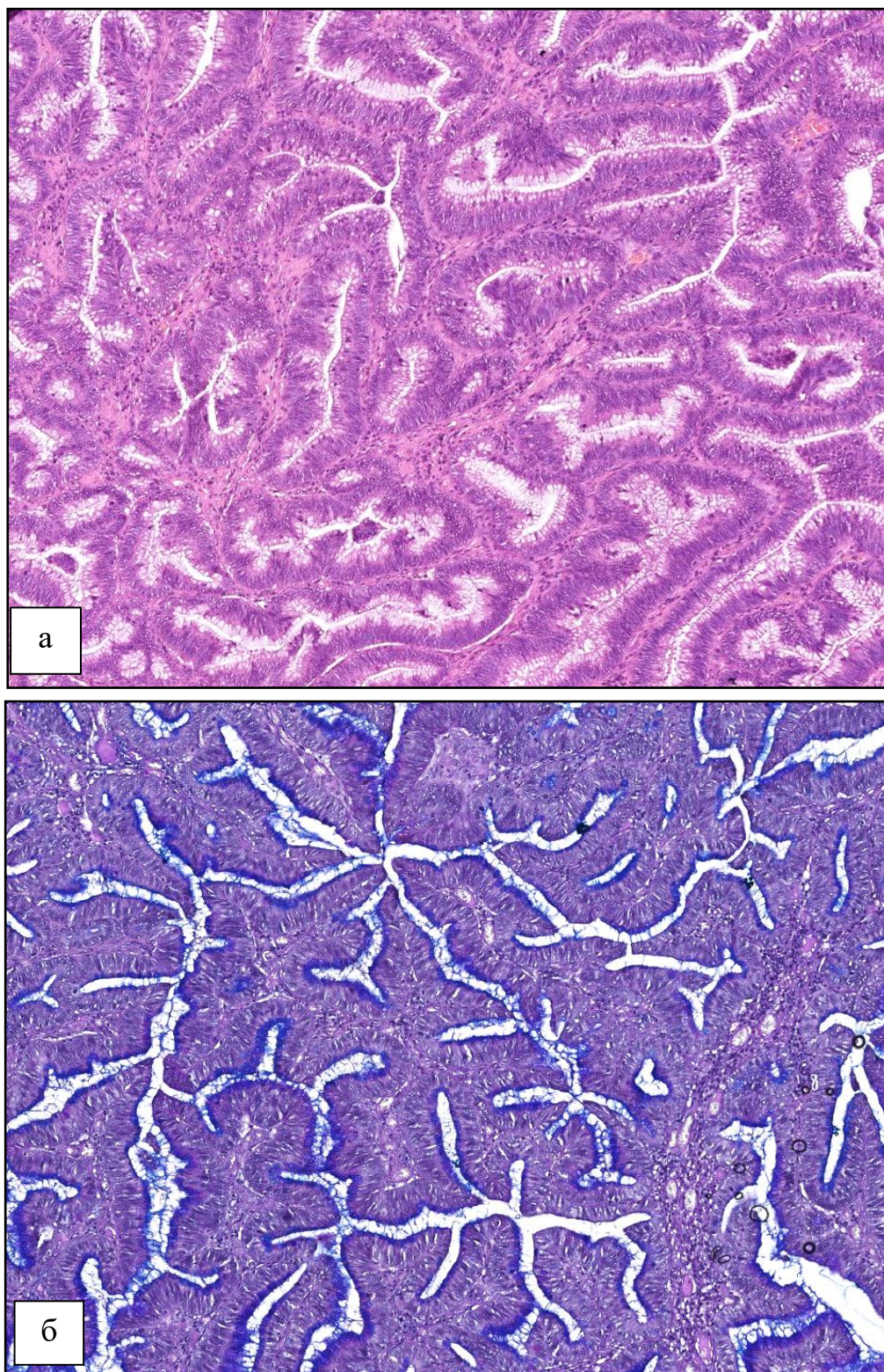


Рисунок 24 – Микрофотографии. Традиционная зубчатая аденома толстой кишки с малигнизацией по типу умереннодифференцированной аденокарциномы. А) Окр. гематоксилином и эозином, ув. х 100. Б) Окр. реактивом Шиффа в сочетании с альциановым синим, ув. х 100

3.3. Анализ иммуногистохимических особенностей зубчатых поражений толстой кишки

3.3.1. Оценка экспрессии с антителами к MUC2, MUC6 и MUC5AC

В ГП была отмечена выраженная цитоплазматическая экспрессия маркера к MUC2, которая определялась во всех случаях МВГП и ББГП, локализованная равномерно вдоль длины крипты (рисунок 25).

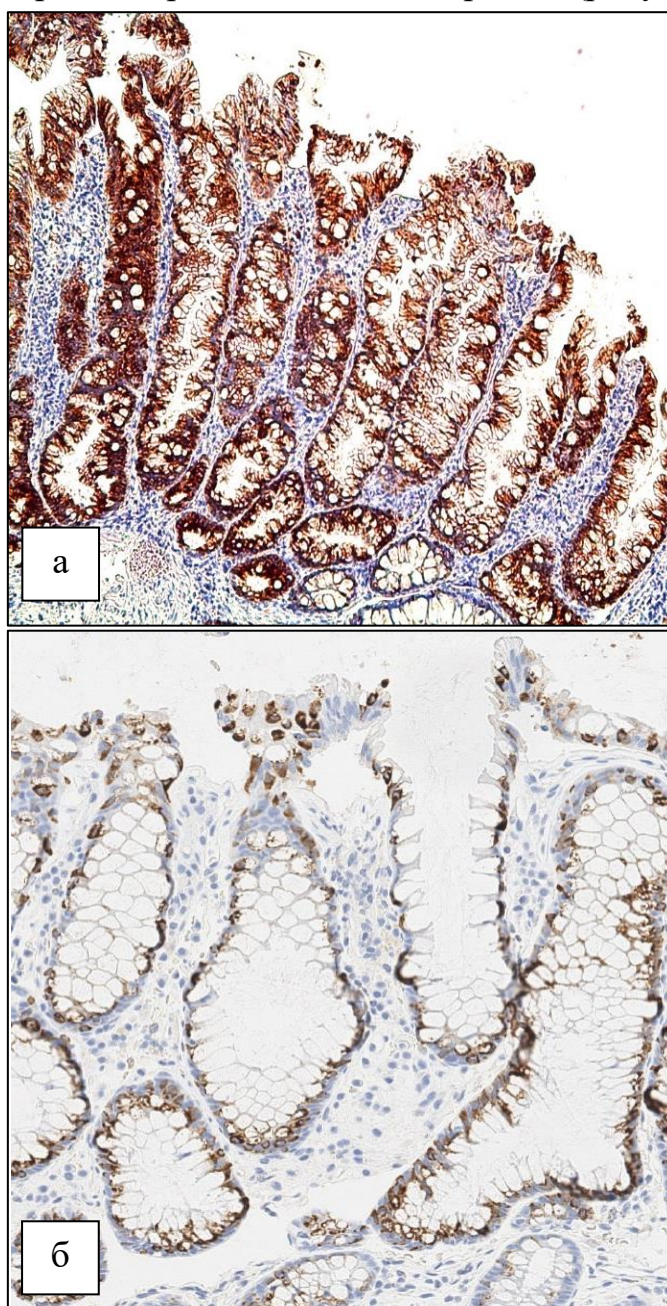


Рисунок 25 – Микрофотографии. Иммуногистохимическое исследование с антителом к MUC2. А) Гиперпластический полип микровезикулярного типа толстой кишки, ув. х 100. Б) Гиперпластический полип богатый бокаловидными клетками толстой кишки, ув. х 200

Выраженная цитоплазматическая экспрессия MUC2 выявлялась вдоль длины крипты СЗП в 84,6 % (рисунок 26 а), в то время как в 15,4% СЗП преобладала умеренная экспрессия, которая выявлялась очагово в случаях без дисплазии (рисунок 26 б).

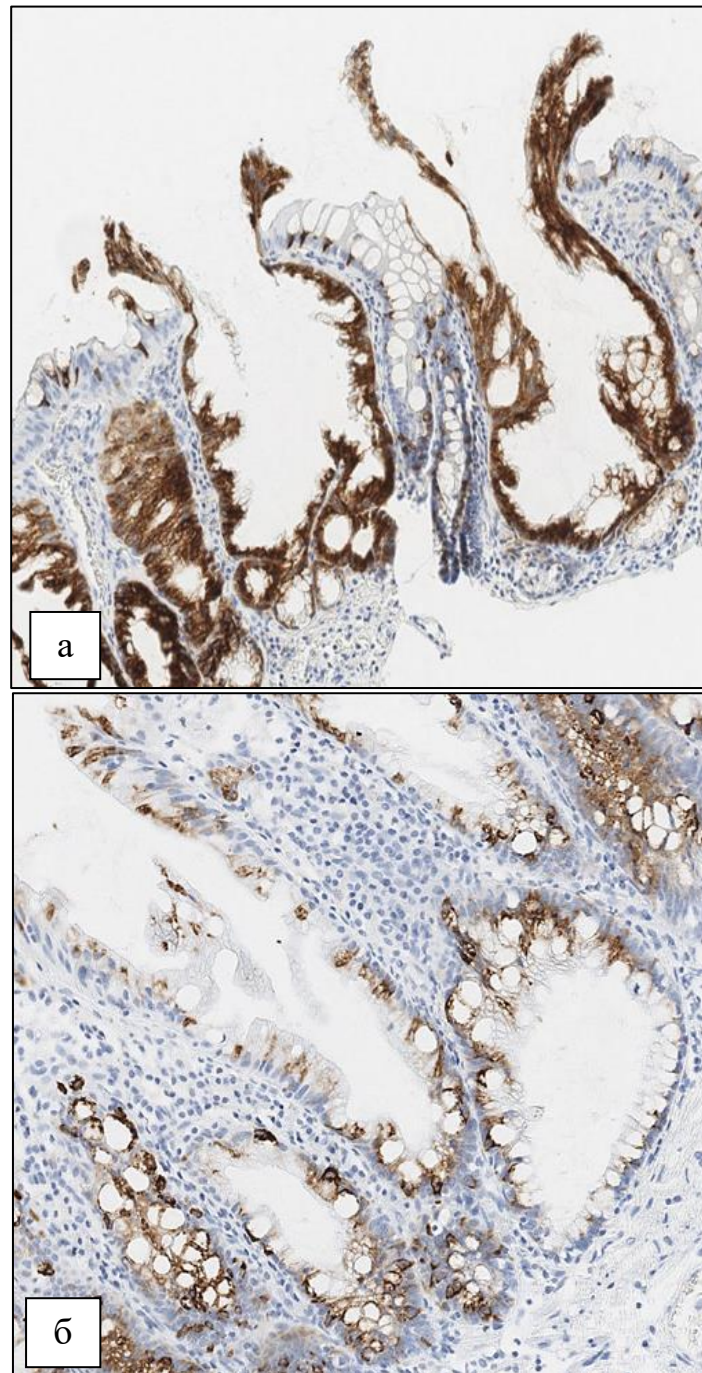


Рисунок 26 – Микрофотографии. Иммуногистохимическое исследование с антителом к MUC2. Сидячее зубчатое поражение толстой кишки - выраженная экспрессия вдоль длины крипты и в поверхностном эпителии (а – ув. х 100) и очаговая экспрессия (б – ув. х 200)

В группе ТЗА отмечались умеренная (58,8%) и выраженная (41,2%) реакции как вдоль длины крипты, так и в эктопированных участках (рисунок 27 а, б). Во всех наблюдениях ТЗА с дисплазией высокой степени и с малигнизацией (52,9%) было окрашено более 50% клеток.

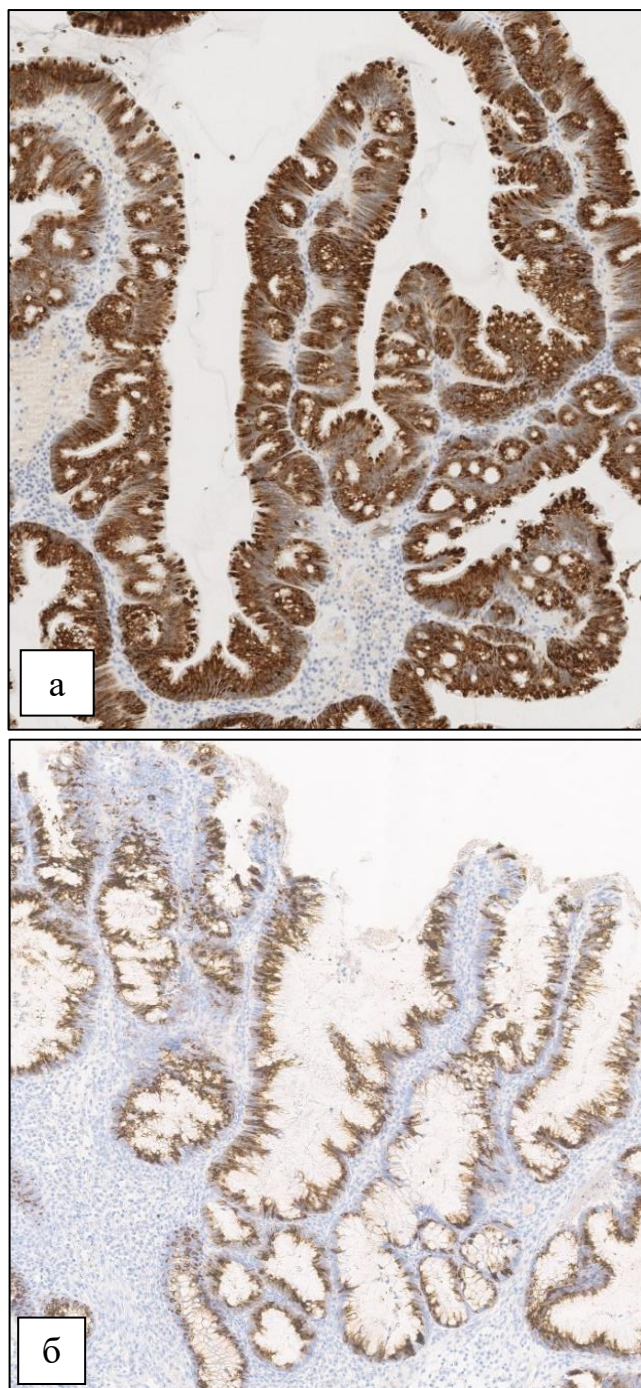


Рисунок 27 – Микрофотографии. Иммуногистохимическое исследование с антителом к MUC2. Традиционная зубчатая аденома толстой кишки – выраженная экспрессия (а – ув. х 100) и очаговая экспрессия (б – ув. х 50) вдоль длины крипты и в эктопированных участках

В ГП в большинстве исследованных случаев (92,3%) реакция с антителами к MUC6 была негативной в эпителиальных клетках (рисунок 28 а), как и во всех ТЗА (100%) (рисунок 28 б), однако в 7,7 % ГП – определена умеренная очаговая экспрессия в основании крипты.

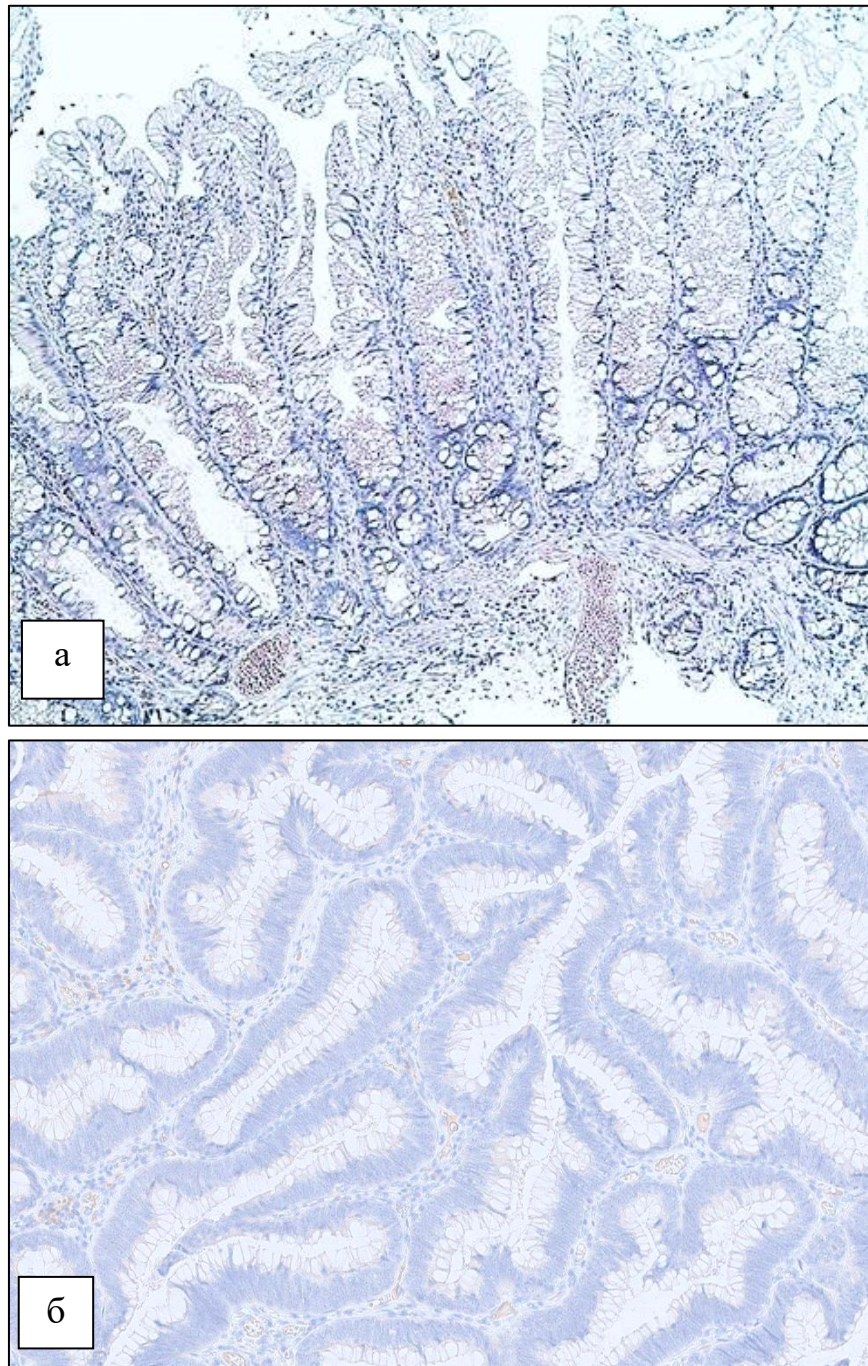


Рисунок 28 – Микрофотография. Иммуногистохимическое исследование с антителом к MUC6. А) Гиперпластический полип толстой кишки – характерное отсутствие экспрессии, ув. х 100. Б) Традиционная зубчатая аденома с дисплазией высокой степени - отсутствие экспрессии, ув. х 200

При исследовании СЗП с антителами к MUC6 в 76,9% наблюдений выраженная реакция маркера локализовалась в дилатированном основании и вдоль крипты (рисунок 29 б), также была выявлена очаговая умеренная реакция в основании крипт – в 19,2 % (рисунок 29 а), и в 1 случае (3,8%) отсутствовала экспрессия маркера. Во всех наблюдениях с дисплазией была отмечена преимущественно выраженная (57,1%) экспрессия MUC6.

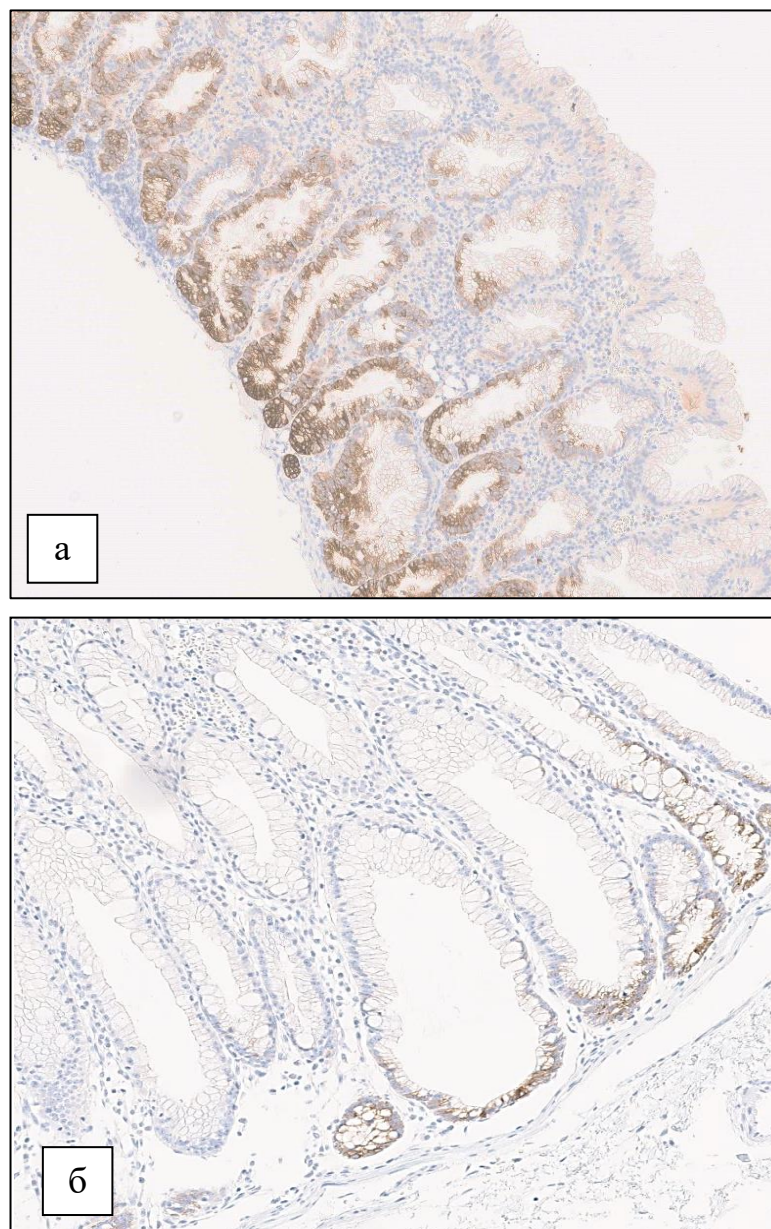


Рисунок 29 – Микрофотографии. Иммуногистохимическое исследование с антителом к MUC6. Сидячее зубчатое поражение толстой кишки – выраженная (а – ув. x 100) и очаговая умеренно выраженная экспрессии в основании дилатированных крипт (б – ув. x 200)

Положительная реакция с антителами к MUC5AC была выявлена во всех случаях ГП, экспрессия была очаговой и неравномерной вдоль длины крипты и наблюдалась менее чем в 50% клеток (рисунок 30 а, б).

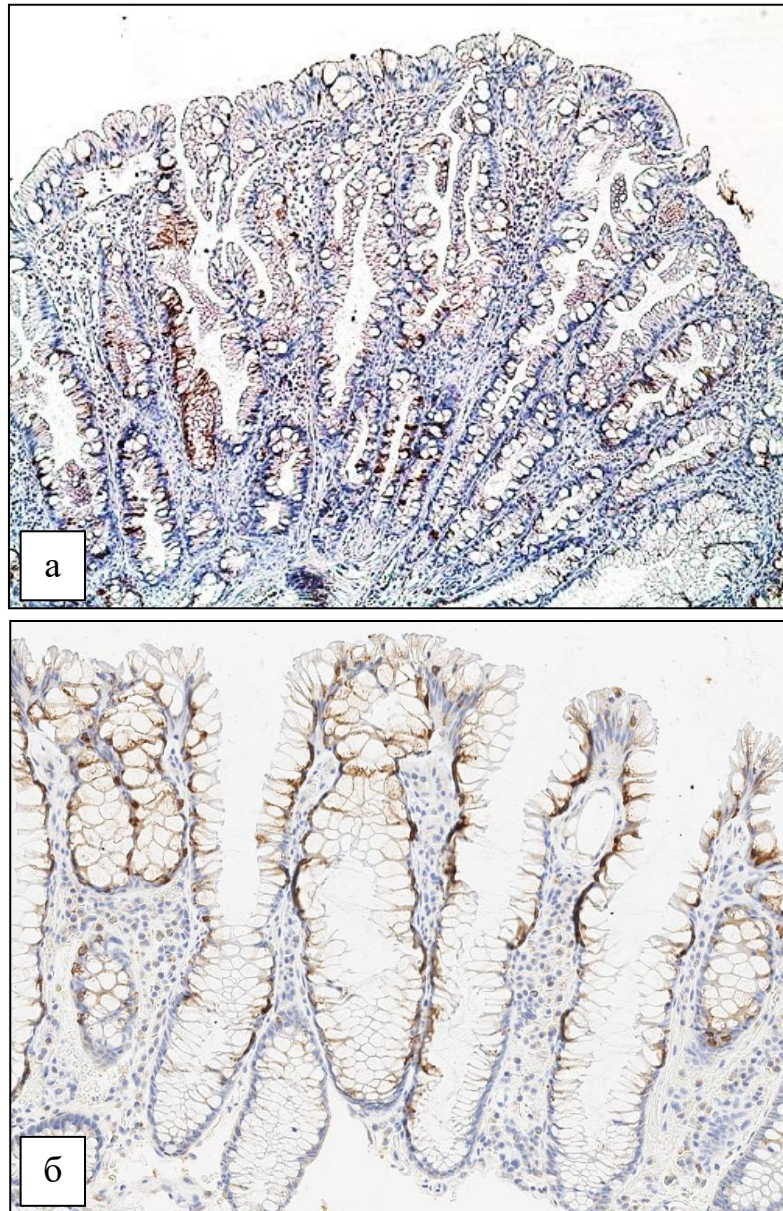


Рисунок 30 – Микрофотографии. Иммуногистохимическое исследование с антителом к MUC5AC. Гиперпластический полип толстой кишки – очаговая выраженная (а – ув. x 100) и очаговая умеренная экспрессия (б – ув. x 200)

В большинстве случаев СЗП (53,8%) определялась выраженная ИГХ реакция с антителами к желудочному типу муцина MUC5AC, в 30,8% наблюдений выявлялась очаговая экспрессия (менее 50% клеток) вдоль длины крипты, в 15,4% - отсутствовала реакция с маркером к MUC5AC. В 57,1% наблюдений СЗП с дисплазией экспрессия MUC5AC была выявлена более чем в 50% клеток. (рисунок 31 а, б).

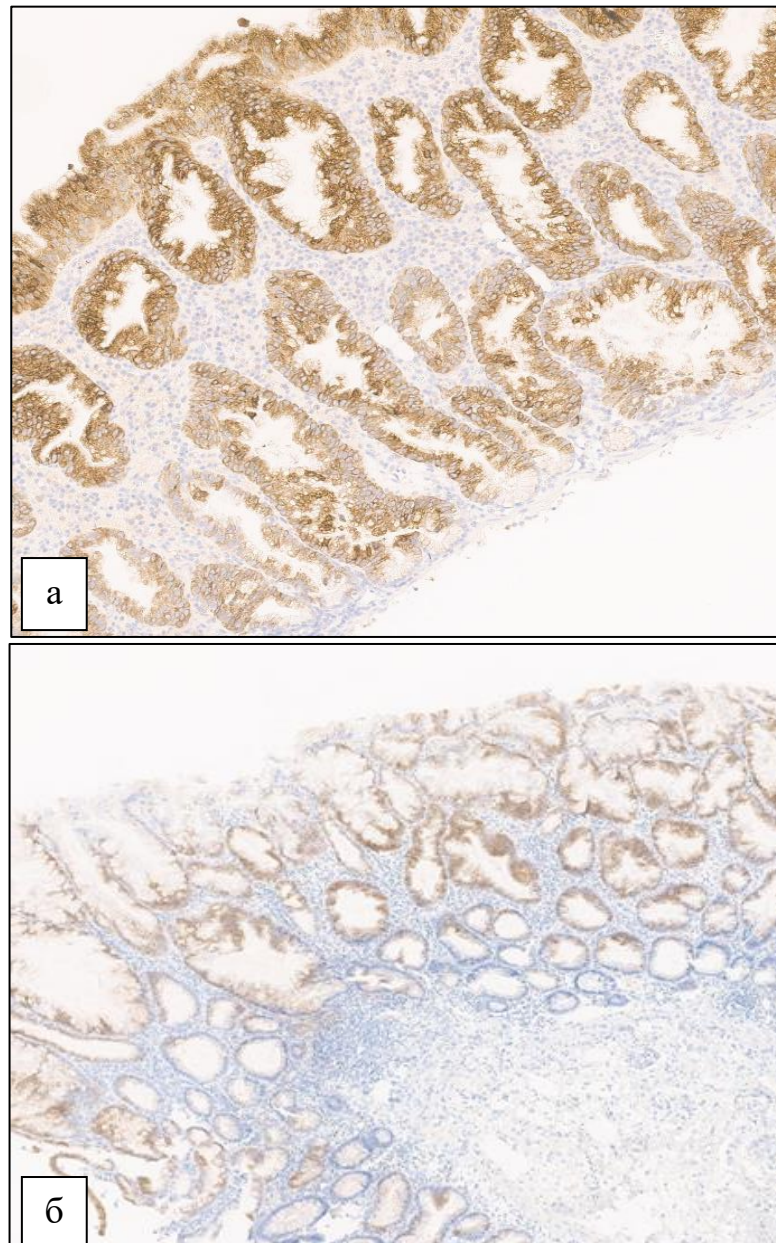


Рисунок 31 - Микрофотографии. Иммуногистохимическое исследование с антителом к MUC5AC. Сидячее зубчатое поражение толстой кишки – выраженная экспрессия (а – ув. х 100) и умеренно-выраженная экспрессии (б – ув. х 50)

В большей части ТЗА (70,6%) была выявлена положительная экспрессия маркера MUC5AC, при этом наиболее часто, в 41,2% наблюдений, диагностировалась умеренная очаговая реакция с преобладанием в верхней части крипты и в поверхностном эпителии (рисунок 32 б). В 23,5 % обнаружена выраженная экспрессия более чем в 50% клеток (рисунок 32 а), которая отмечалась в случаях с наличием дисплазии высокой степени и в 40% - с наличием малигнизации по типу умеренодифференцированной аденокарциномы. В то же время в 23,5% — реакция с антителами к MUC5AC отсутствовала.

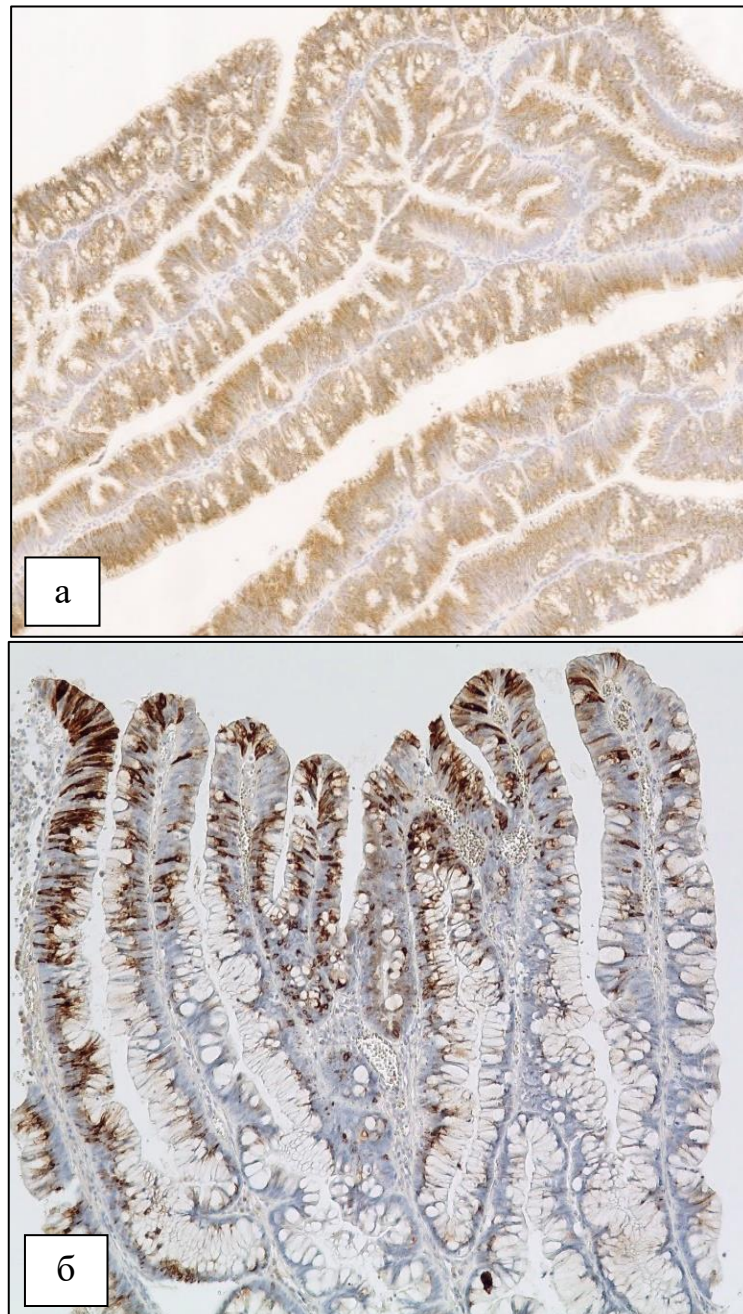


Рисунок 32 - Микрофотографии. Иммуногистохимическое исследование с антителом к MUC5AC. Традиционная зубчатая аденома толстой кишки – выраженная экспрессия (а – ув. х 50) и умеренно-выраженная очаговая экспрессии (б – ув. х 100)

3.3.2. Оценка экспрессии с антителами к CK20

Во всех наблюдениях ГП, в группе МВГП была отмечена выраженная экспрессия маркера CK20 в поверхностном эпителии, умеренная реакция – в средней трети и нижней трети крипты, а в основании крипты - отсутствовала (рисунок 33 а). Для БГП характерна была выраженная экспрессия CK20, которая локализовалась вдоль крипты равномерно (рисунок 33 б).

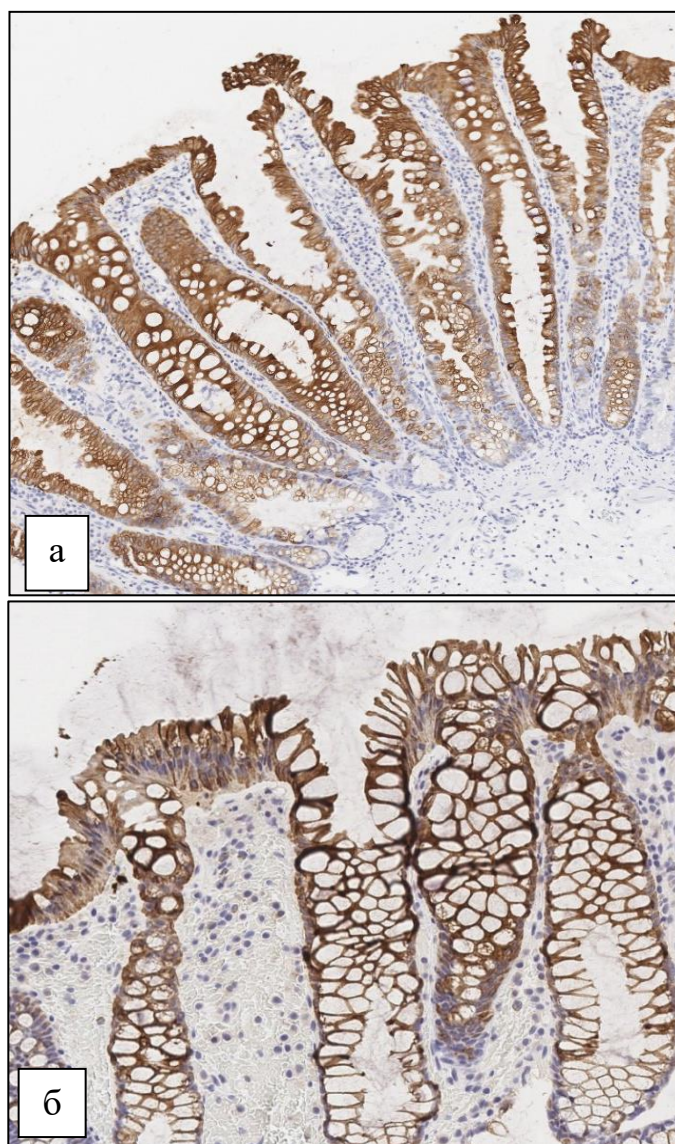


Рисунок 33 – Микрофотографии. Распределение экспрессии CK20 в микровезикулярном гиперпластическом полипе толстой кишки (а - ув. х 100) и выраженная экспрессия маркера CK20 в богатом бокаловидными клетками гиперпластическом полипе (б – ув. х 200)

Для СЗП как с наличием дисплазии высокой и низкой степени, так и без признаков дисплазии была выявлена характерная реакция с СК20, которая имела ярко выраженную реакцию, локализованную вдоль всей длины крипты. Однако область нижней трети и дилатированное основание крипты не экспрессировали данный маркер (рисунок 34 а, б).

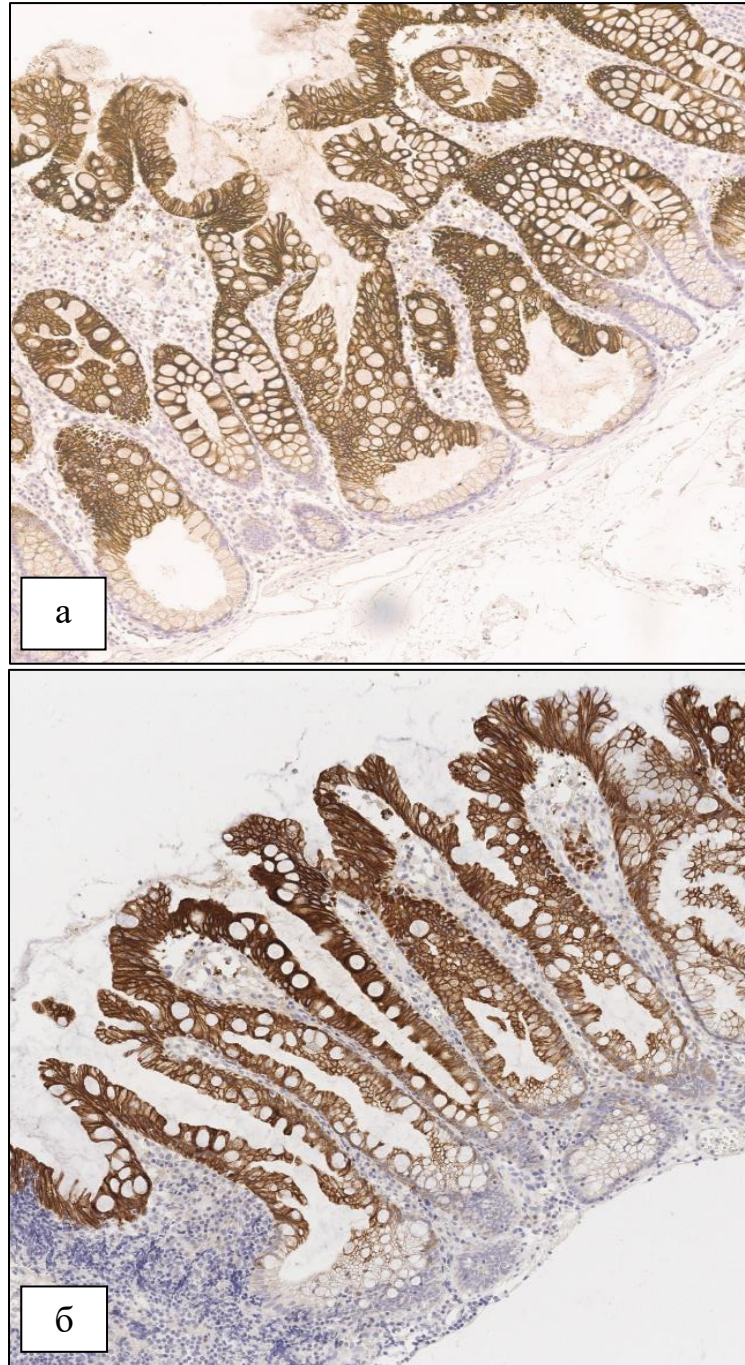


Рисунок 34 – Микрофотографии. Выраженная экспрессия маркера СК20 в сидячем зубчатом поражении без дисплазии (а, б – ув. х 100)

Маркер CK20 имел более интенсивную реакцию в наблюдениях ТЗА с наличием дисплазии высокой степени и с малигнизацией (рисунок 35 а, б). Для ТЗА с дисплазией низкой степени была характерна умеренная экспрессия CK20.

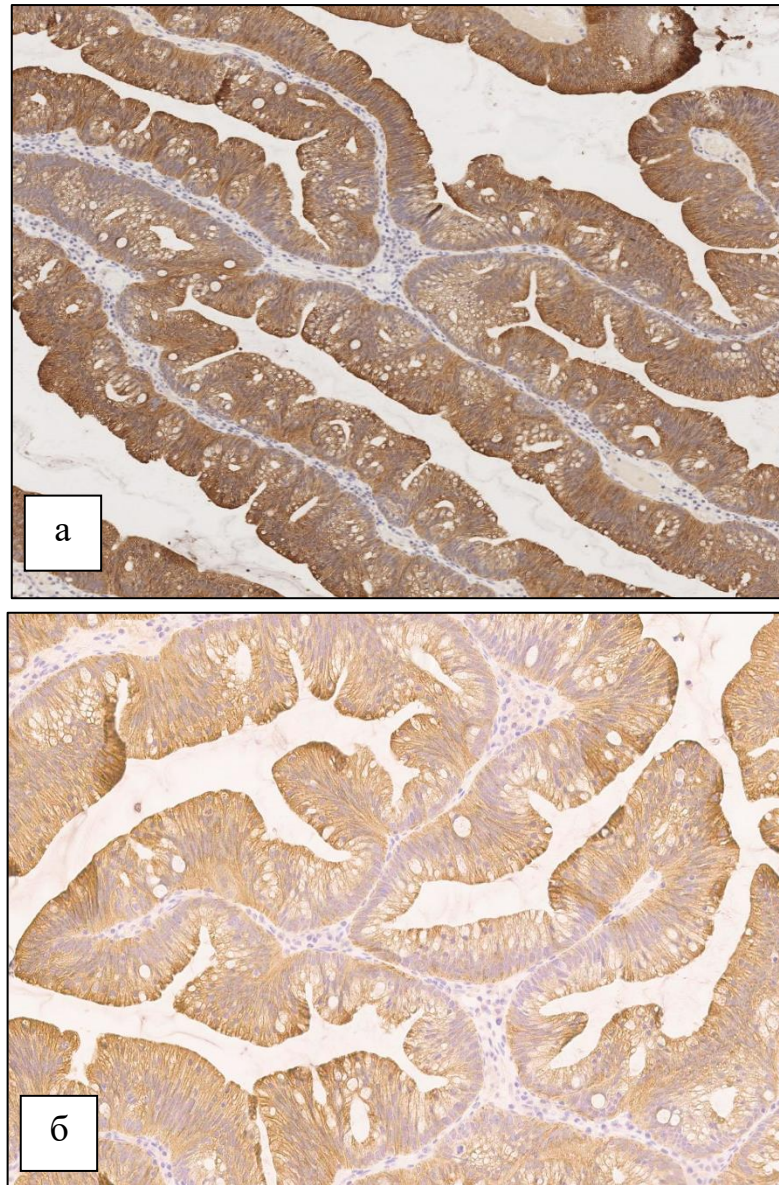


Рисунок 35 – Микрофотографии. Выраженная экспрессия маркера CK20 в традиционной зубчатой аденоме толстой кишки с дисплазией высокой степени (а – ув. х 100; б – ув. х 200)

3.3.2. Оценка экспрессии с антителами к маркеру пролиферативной активности Ki67

Экспрессия Ki67 в ГП локализовалась в зоне пролиферативной активности в нижней и средней трети крипт (рисунок 36). При оценке индекса пролиферативной активности было выявлено, что его среднее значение для ГП составило 34,4%, значения варьировались в диапазоне от 20% до 60%.

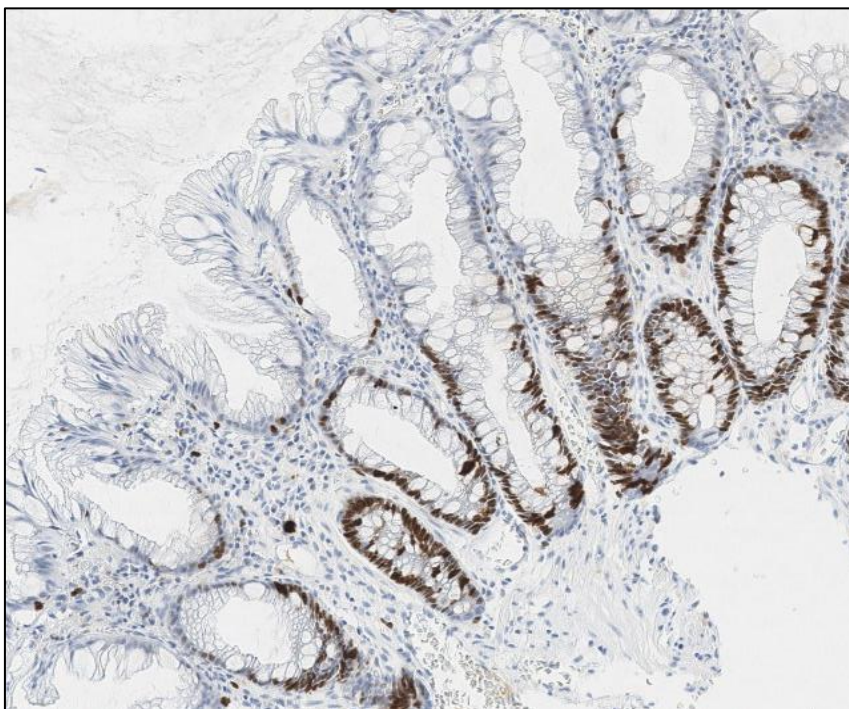


Рисунок 36 – Микрофотографии. Экспрессия маркера Ki67 в пролиферативной зоне микровезикулярного гиперпластического полипа толстой кишки, ув. х 100

В СЗП экспрессия маркера Ki67 локализовалась в основании дилатированных крипт и несимметрично вдоль длины крипт. Среднее значение индекса пролиферативной активности для СЗП без дисплазии составил 35,1% (рисунок 37 а), в то время как для СЗП с дисплазией был увеличен до среднего значения 56,3% (рисунок 37 б).

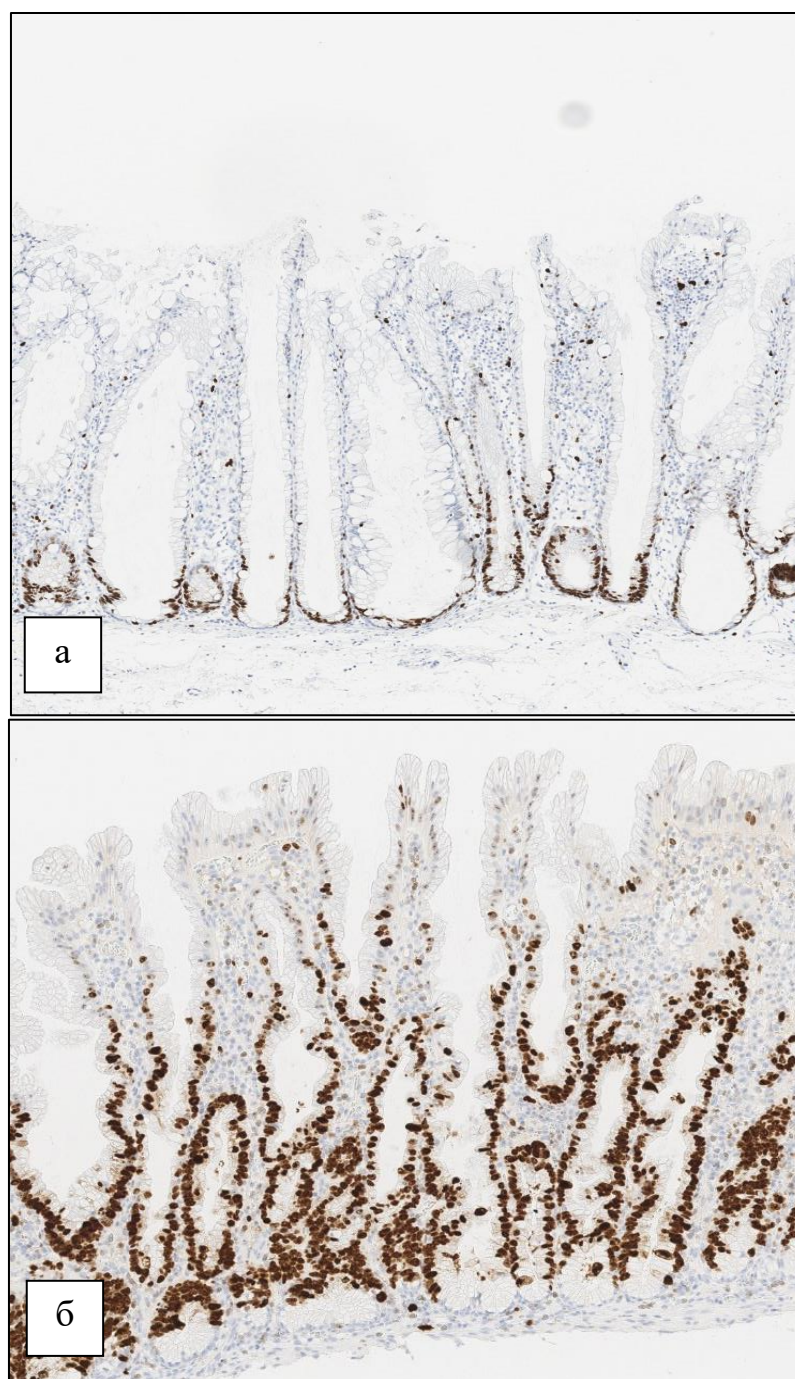


Рисунок 37 – Микрофотографии. Экспрессия маркера Ki67 в сидячем зубчатом поражении толстой кишки без дисплазии (а – ув. х 100) и с дисплазией низкой степени (б – ув. х 200)

Для ТЗА было характерно очаговое распределение экспрессии маркера Ki67, проявляющееся вдоль крипт и в эктопированных участках (рисунок 38). Значение индекса пролиферативной активности находились в диапазоне от 40% до 91%, среднее значение составило 76,3%.

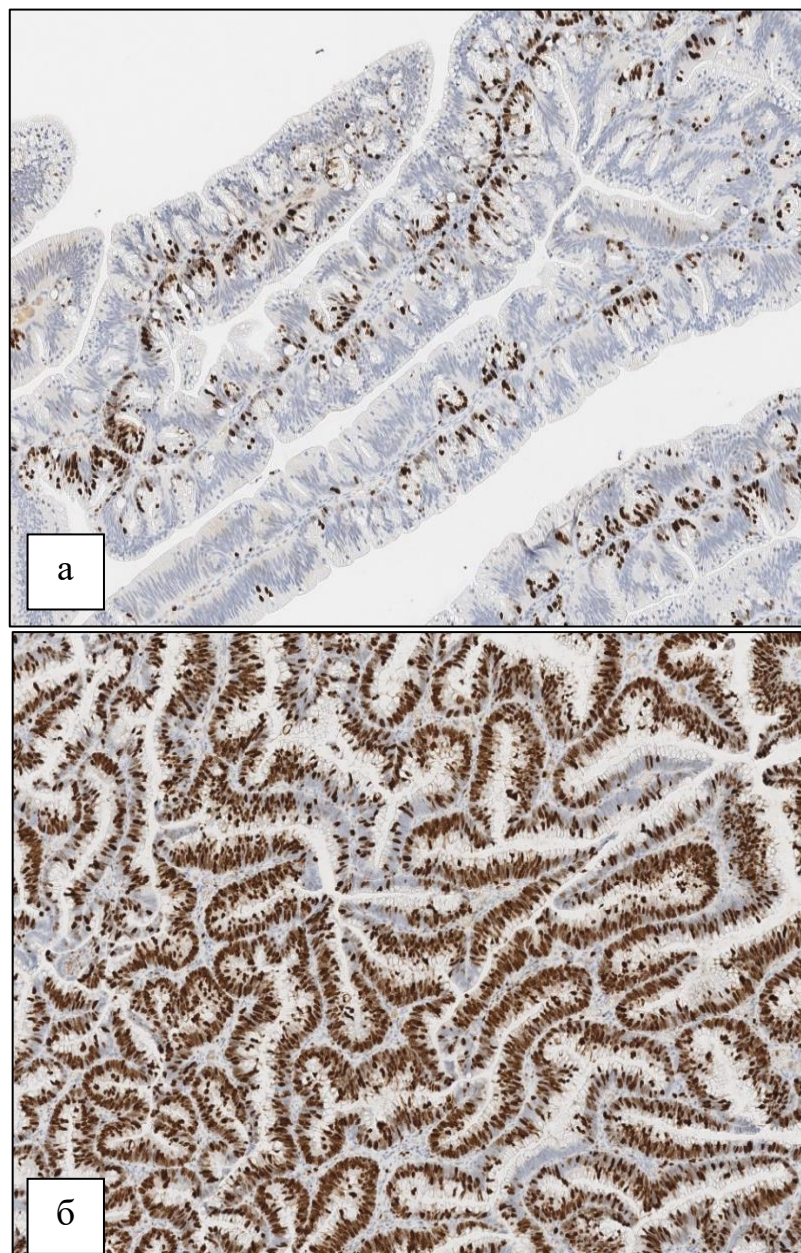


Рисунок 38 - Микрофотографии. Экспрессия маркера Ki67 в традиционной зубчатой аденоме толстой кишки с дисплазией низкой степени (а – ув. х 100) и в традиционной зубчатой аденоме с дисплазией высокой степени (б – ув. х 100)

3.3.3. Статистический анализ результатов

После проведения статистического анализа были получены следующие данные. Наше исследование показало, что во всех группах отмечается тенденция к усилению экспрессии MUC5AC, при этом экспрессии маркера MUC2 типа снижается ($p=0,046$, Spearman $R= -0,24$). Экспрессия MUC5AC коррелировала с экспрессией MUC6 в СЗП ($p=0,03$, Spearman $R= 0,38$). Наличие дисплазии как низкой, так и высокой степени сочеталось с усилением экспрессии MUC5AC для всех типов ЗП ($p=0,03$, Spearman $R= 0,38$). Также экспрессия Ki67 коррелировала с увеличением степени дисплазии ($p<0,001$, Spearman $R = 0,68$) и усилением реакции с MUC5AC ($p<0,001$, Spearman $R= 0,55$). Усиление выраженности экспрессии маркера CK20 типа сочеталась с усилением MUC2 типа ($p<0,05$, $p=0,001$, Spearman $R= 0,67$). Выраженность экспрессии CK20 типа была наиболее характерна для ГП и СЗП, чем для ТЗА ($p<0,001$).

Статистически значимые различия были получены по уровню экспрессии MUC2 между ТЗА с ГП ($p<0,001$) и СЗП ($p=0,02$), где значительно чаще встречалась умеренная экспрессия маркера. Уровень экспрессии и количество окрашенных клеток MUC5AC был статистически значимо ниже в ГП, по сравнению с СЗП и ТЗА ($p<0,001$). В СЗП индекс пролиферативной активности статистически значимо был выше, чем в ГП ($p=0,02$), но ниже, чем у ТЗА ($p=0,001$).

3.4. Результаты молекулярно-генетического исследования зубчатых поражений толстой кишки

3.4.1. Результаты генетического исследования на наличие мутации генов *BRAF*, *KRAS* и *NRAS* в гиперпластических полипах, сидячих зубчатых поражениях и традиционных зубчатых аденомах толстой кишки

При генетическом исследовании ГП были выявлены мутации гена *BRAF* в 38,5% случаев и гена *KRAS* в 15,4%, в 46,2% случаев – отсутствовали мутации генов (таблица 9). В МБГП обнаружены мутации обоих генов, в то время как в ББГП была выявлена мутация только гена *KRAS*.

В СЗП была обнаружена мутация гена *BRAF* в 53,8% наблюдений, в 46,2% СЗП мутация генов *KRAS* и *NRAS* не обнаружена (таблица 9). СЗП с дисплазией в 64,3% наблюдений и СЗП без дисплазии в 41,7% имели мутацию гена *BRAF*.

Результаты генетического исследования показали, что в 47,1% ТЗА имеется мутация гена *KRAS*, в 11,8% - мутация гена *BRAF*, а в 41,2% - мутации генов отсутствовала (таблица 9). Что оказалось характерно, мутация гена *BRAF* была обнаружена в наблюдениях ТЗА с наличием дисплазии высокой степени и фокусами малигнизации по типу умеренно- и высокодифференцированной аденокарциномы. Мутация гена *KRAS* выявлена в 50% наблюдений с дисплазией низкой степени, а также во всех оставшихся случаях с дисплазией высокой степени и с фокусами малигнизации.

Мутации гена *NRAS* не было выявлено ни в одном из исследуемых образцов от пациентов с ГП, СЗП и ТЗА.

Таблица 9 – Число наблюдений ЗП с распределением по типу с диагностированными мутациями генов *BRAF*, *KRAS* и *NRAS*

Тип зубчатых поражений	Число наблюдений/ пациентов	<i>BRAF</i> + случаи	<i>KRAS</i> + случаи	<i>NRAS</i> + случаи	<i>BRAF /KRAS</i> - (без мутаций генов)
ГП	26/26	10 (38,4%)	4 (15,4%)	0 (0%)	12 (46,2%)
СЗП	26/26	14 (52,8%)	0 (0%)	0 (0%)	12 (42,2%)
ТЗА	17/17	2 (11,8%)	8 (47,1%)	0 (0%)	7 (41,2%)

3.4.2. Результаты иммуногистохимического исследования на наличие микросателлитной нестабильности в гиперпластических полипах, сидячих зубчатых поражениях и традиционных зубчатых аденомах толстой кишки

В 60% ГП была обнаружена МСН, при этом в большинстве случаев отмечалась МСН-Н (40%), что соответствует негативной экспрессии MSH2 и MSH6 более чем в 3-х смежных криптах, и в 20% - МСН-В при негативной экспрессии MLH1 и PMS2 или всех четырех MLH1, PMS2, MSH2 и MSH6 (рисунок 39). В то же время отмечалась единичная потеря экспрессии MSH6 в 20% наблюдений.

Проведенное ИГХ исследование выявило в половине случаев СЗП МСН. Причем в 31,3% была отмечена МСН-В – негативная экспрессия в MLH1 и PMS2 или всех четырех MLH1, PMS2, MSH2 и MSH6, и МСН-Н была обнаружена в 18,7% (отрицательная экспрессия MSH2 и MSH6) (рисунок 40).

Исследование ТЗА показало, что в 40% была выявлена только МСН-В – отрицательная экспрессия маркеров MLH1 и PMS2, или всех четырех MLH1, PMS2, MSH2 и MSH6 (рисунок 41).

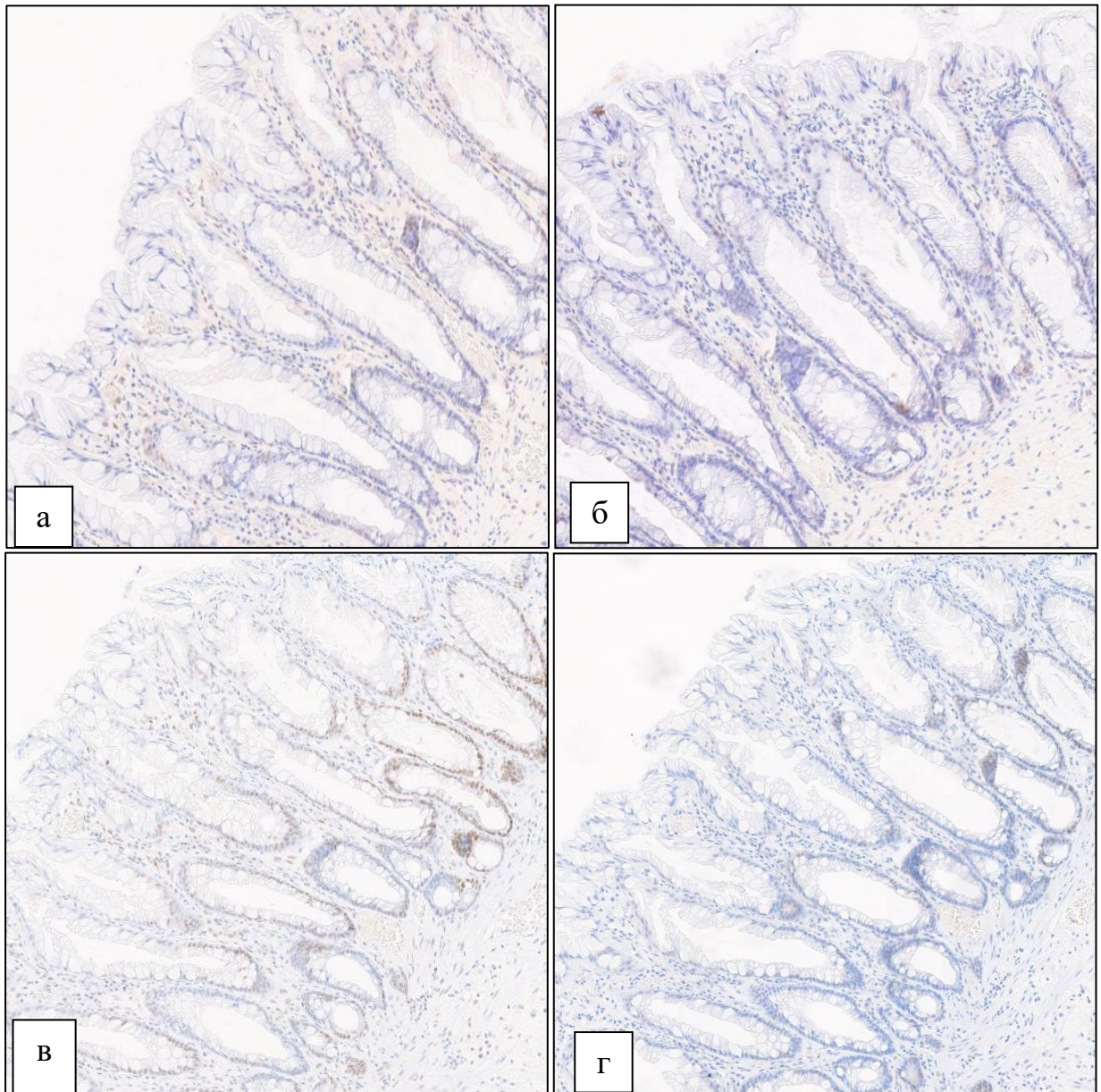


Рисунок 39 – Микрофотографии. Реакция с маркерами микросателлитной нестабильности в гиперпластическом полипе микровезикулярного типа толстой кишки:

- отсутствие экспрессии маркеров MLH1 (а – ув. х 200) и PMS2 (б – ув. х 200);
- частичная потеря экспрессии в эпителии крипты маркеров MSH2 (в – ув. х 100) и MSH6 (г – ув. х 100)

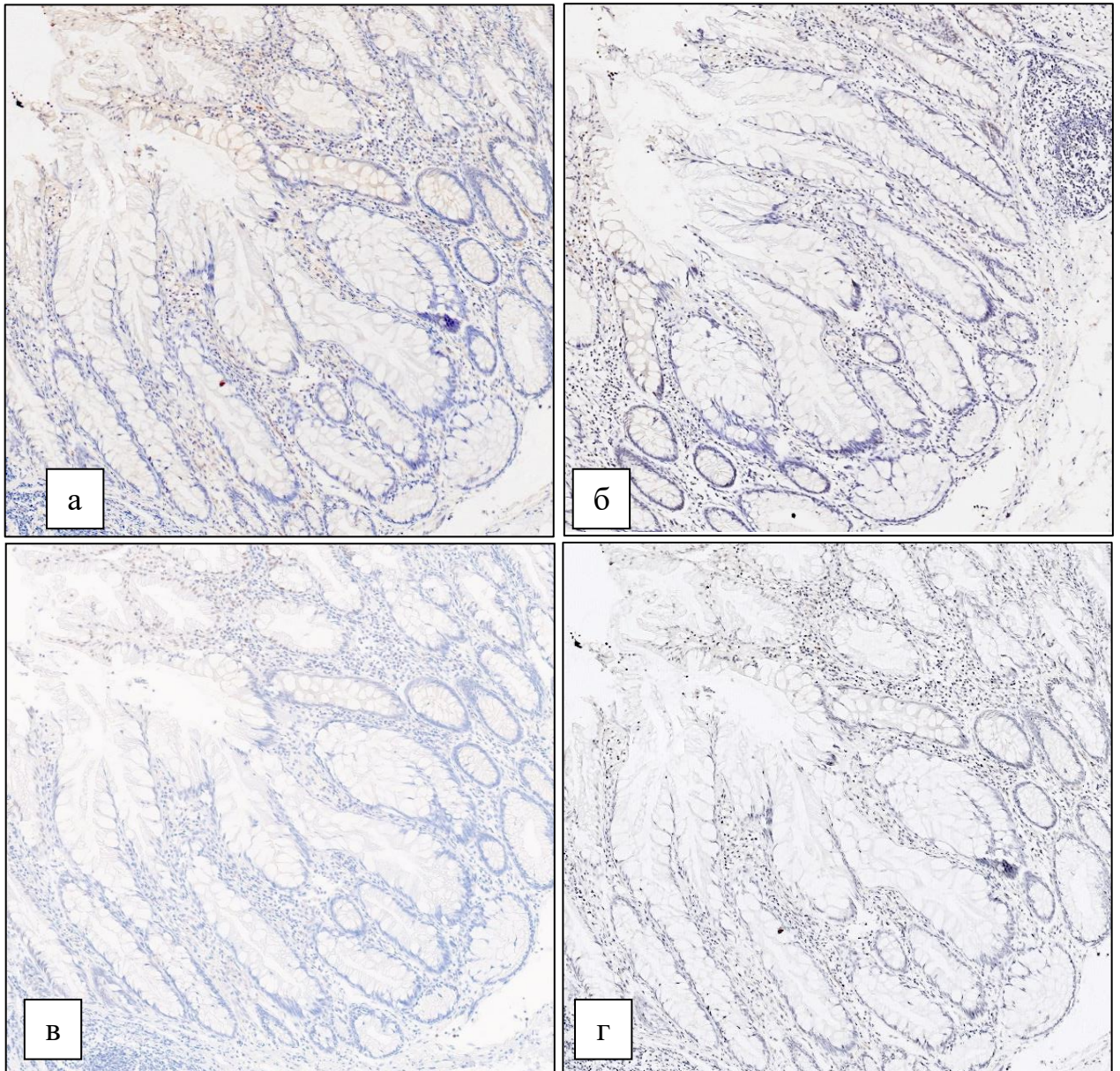


Рисунок 40 – Микрофотографии. Реакция с маркерами микросателлитной нестабильности в сидячем зубчатом поражении толстой кишки с дисплазией низкой степени (low-grade): отсутствие экспрессии маркеров в эпителии крипты маркеров MLH1 (а), PMS2 (б), MSH2 (в) и MSH6 (г) ув. х 100

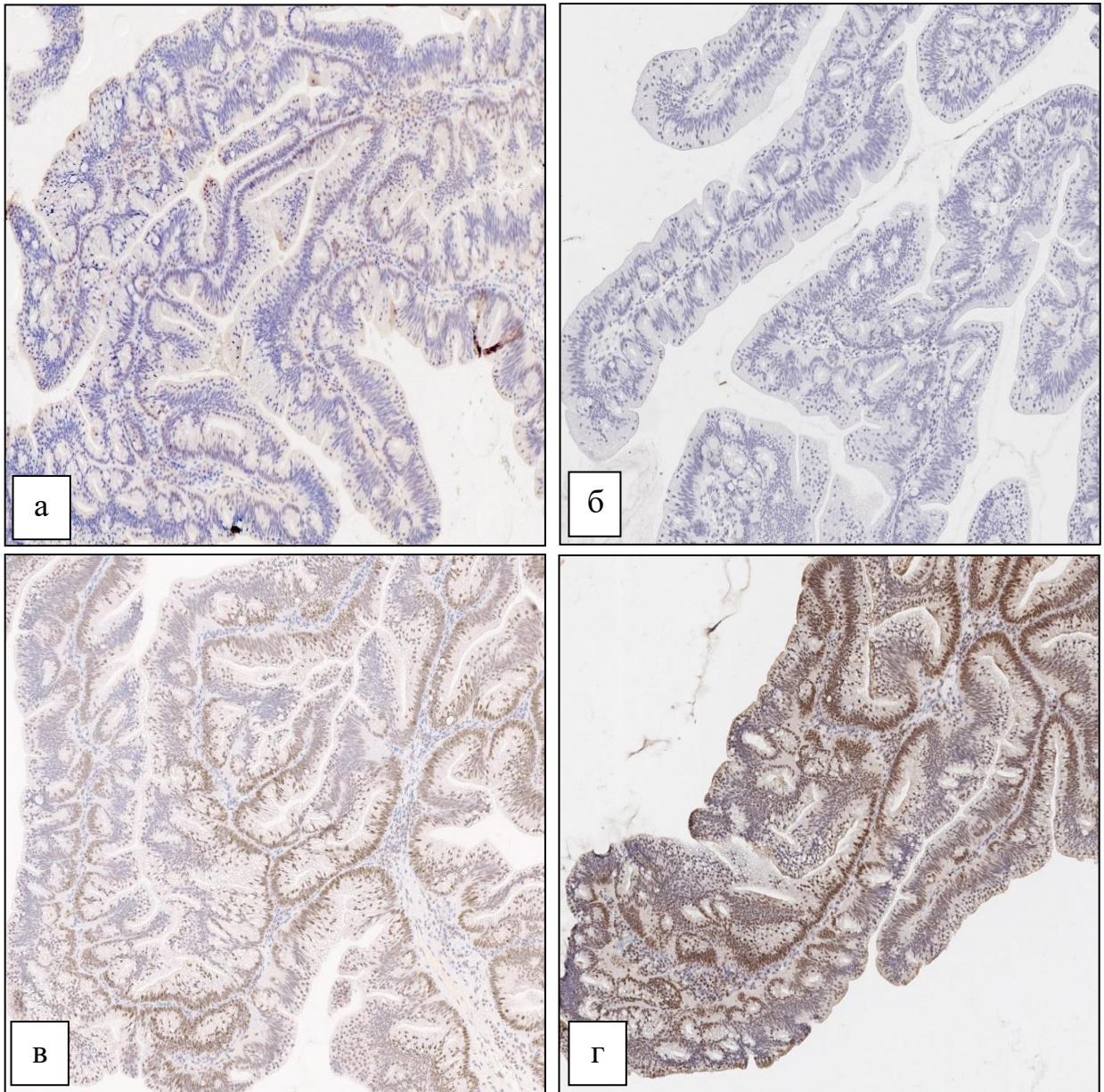


Рисунок 41 – Микрофотографии. Реакция с маркерами микросателлитной нестабильности в традиционной зубчатой аденоме толстой кишки с дисплазией низкой степени (low-grade):

- отсутствие экспрессии маркеров MLH1 (а) и PMS2 (б) ув. х 100;
- выраженная экспрессии в эпителии крипт маркеров MSH2 (в) и MSH6 (г) ув. х 100

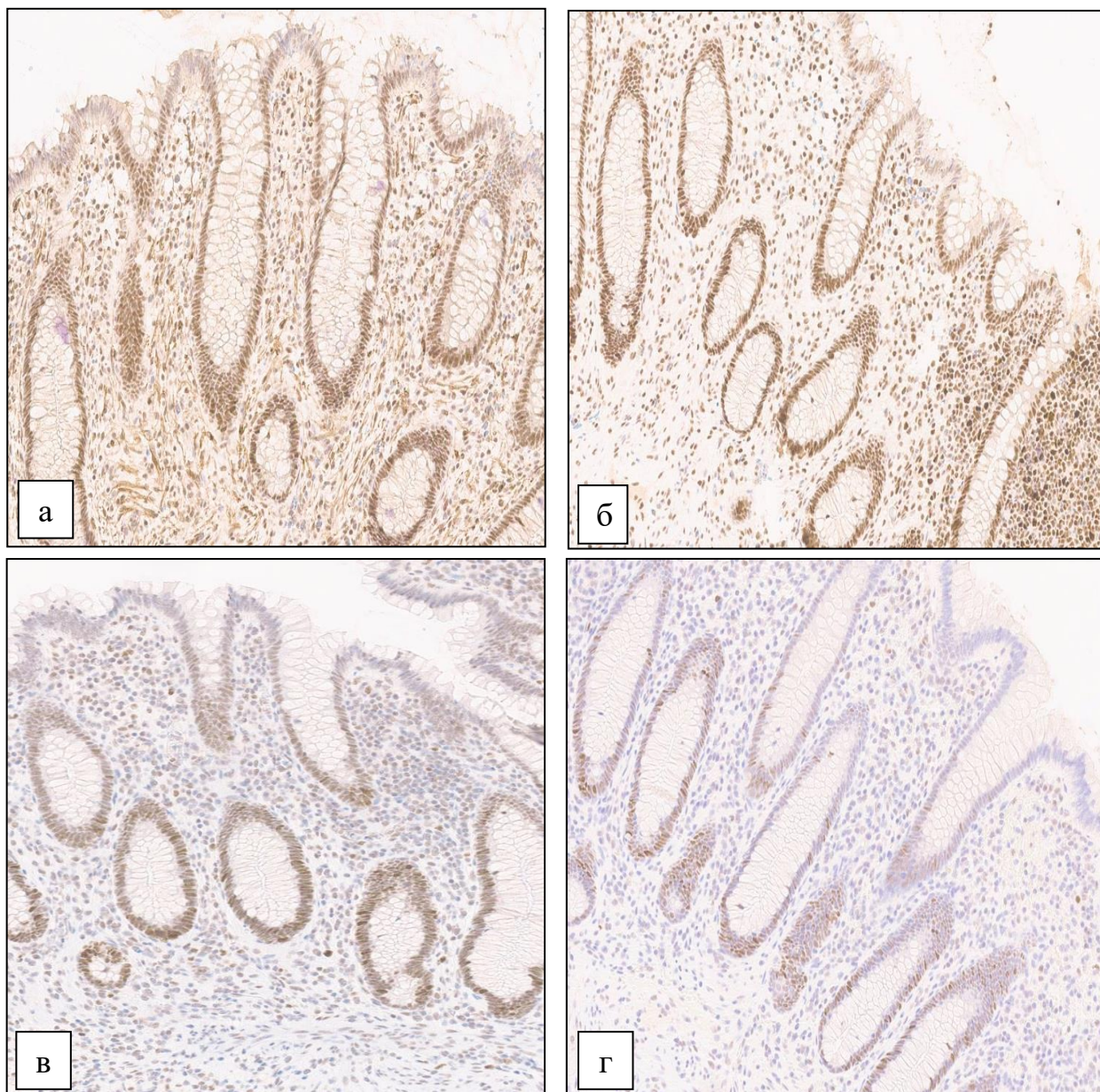


Рисунок 42 – Микрофотографии. Контрольная реакция на срезах червеобразного отростка с маркерами микросателлитной нестабильности: MLH1 (а) и PMS2 (б), MSH2 (в) и MSH6 (г), ув. х 200

3.4.3. Сопоставление результатов молекулярно-генетического исследования на наличие мутации генов *BRAF*, *KRAS*, *NRAS* и микросателлитной нестабильности с иммуногистохимическим профилем гиперпластических полипов, сидячих зубчатых поражений и традиционных зубчатых аденом толстой кишки

В результате проведенного исследования было отмечено, что в ГП выраженная цитоплазматическая экспрессия маркера к MUC2 определялась во всех случаях и локализовалась равномерно вдоль длины крипт, при этом различий в группе с мутациями генов *BRAF* и *KRAS*, и без них обнаружено не было ($p>0,05$). В большинстве исследованных случаев (92,3%) реакция с антителами к MUC6 была негативной (во всех случаях была выявлена мутация генов). Экспрессия MUC6 была отмечена в ГП без наличия мутаций генов в 16,6%. Так же, как и с антителами к MUC2, особенностей в экспрессии MUC5AC в ГП с наличием и без мутаций генов *BRAF* и *KRAS* не было ($p>0,05$). Экспрессия CK20 и маркера ядерной пролиферации Ki67 не имели статистически значимых различий в уровне реакции в зависимости от наличия или отсутствия мутаций. Наличие MCH также не сказывалось на особенностях экспрессии всех исследованных маркеров в ГП.

В большинстве наблюдений СЗП (85,7%) с наличием мутации гена *BRAF* диагностировалась выраженная экспрессия к MUC2 и в 14,3% была выявлена умеренная экспрессия с очаговым распределением (менее 50% клеток) вдоль длины крипты. В то время в СЗП без мутации гена *BRAF* в 50% случаев выявлялась умеренная экспрессия, преимущественно в основании дилатированных крипт и затрагивала менее 50% клеток. В 50% случаев – определялась выраженная реакция вдоль длины крипт. Статистически значимых отличий в экспрессии с наличием мутации гена *BRAF* получено не было.

Во всех наблюдениях с мутацией гена *BRAF* в СЗП выявлялась выраженная экспрессия MUC6, локализованная в дилатированных основаниях

и вдоль длины крипт. В случаях СЗП без мутации была характерна выраженная (50%) и умеренная (41,6%) экспрессия к MUC6 в основании дилатированных крипт, в 8,4% наблюдений экспрессия указанного маркера отсутствовала.

В группе СЗП с мутацией гена *BRAF* во всех наблюдениях была отмечена выраженная цитоплазматическая экспрессия с антителами к MUC5AC вдоль длины крипт. В группе без мутации гена *BRAF* в 66,7% наблюдений преимущественно выявлялась умеренная очаговая экспрессия MUC5AC, которая затрагивала менее 50% клеток, а в 33,3% случаев экспрессия MUC5AC отсутствовала.

Экспрессия CK20 типа была одинаковой в группах с мутацией гена *BRAF* и без, так же, как и маркера ядерной пролиферации Ki67. Однако при оценке особенностей экспрессии маркеров в наблюдениях СЗП с наличием MCH было выявлено, что у данных пациентов наблюдается повышенный индекс пролиферативной активности Ki67 ($p=0,048$), другие маркеры не имели значимых различий.

Во всей группе ТЗА с мутацией гена *KRAS* и гена *BRAF* сохранялась выраженная экспрессия маркера MUC2 вдоль длины крипт. В группе ТЗА без мутации гена *KRAS* — в 50% была выявлена умеренная очаговая экспрессия, в другой половине — выраженная экспрессия.

Реакция с антителом к MUC6 отсутствовала во всех случаях ТЗА, как в группах с наличием мутации гена *KRAS* и гена *BRAF*, так и в группе без выявленных мутаций.

Выраженная экспрессия MUC5AC, которая затрагивала более чем 50% клеток ТЗА, была выявлена во всех наблюдениях с наличием мутации гена *BRAF*. Очаговая экспрессия встретилась во всех случаях с мутацией гена *KRAS*, и в 1 наблюдении (16,7%) - без мутации. В остальных случаях без мутаций реакция с антителами к MUC5AC была негативной (83,3%). Однако статистически значимых отличий выявлено не было.

Как и для предыдущих типов, отличий в экспрессии маркеров CK20 и Ki67 в группах с наличием мутации генов *KRAS*, *BRAF* и без мутаций выявлено не было.

Особенностей экспрессии изученных нами маркеров в группах с выявленной MCH и без наличия MCH получено не было.

Глава 4. Зубчатые поражения червеобразного отростка

Данная глава посвящена двум клиническим наблюдениям сидячих зубчатых поражений червеобразного отростка, которые были обнаружены как случайная находка при изучении удаленных червеобразных отростков у пациентов, проходивших стационарное лечение в ГБУЗ «ГКБ №31 ДЗМ» по поводу острого аппендицита. ЗП червеобразного отростка являются крайне редкими образованиями и относятся к предопухолевым поражениям аппендикса, наряду с классическими аденомами.

Данный материал был получен от 2-х пациентов мужского пола 31 и 53 лет. Для определения молекулярно-генетических характеристик и сравнения с СЗП толстой кишки были выполнены: ИГХ исследование с антителами к MUC2, MUC5AC, MUC6, CK20 и Ki67, с маркерами микросателлитной нестабильности MLH1, PMS2, MSH2 MSH6, а также ПЦР исследование на наличие мутации генов *KRAS*, *BRAF* и *NRAS*.

Первый пациент 53 лет поступил в больницу с жалобами на боль внизу живота, которая сместилась из области эпигастрия в правую подвздошную область. Боль сопровождалась многократной рвотой с примесью желчи и повышением температуры тела до 37°C. При физикальном осмотре: живот не вздут, симметричен, участвует в акте дыхания; перистальтика обычной звучности; притуплений перкуторного звука в отлогих местах живота не выявлено. При пальпации живот мягкий, болезненный в правой подвздошной области. Симптомы Воскресенского, Ровзинга, Ситковского – положительные. Симптом Щеткина-Блюмберга отрицательный. Лабораторные показатели приведены далее: гемоглобин 159,0 г/л; эритроциты 5,41x10¹²/л; тромбоциты 167x10⁹/л; лейкоциты 147x10⁹/л; гематокрит 47,4. При осмотре хирургом был установлен диагноз острый аппендицит, в связи с чем в экстренном порядке была проведена лапароскопическая аппендэктомия. Во время операции утолщенный, напряжённый, гиперемированный червеобразный отросток находился в тазовом положении. Интраоперационный диагноз: острый флегмонозный аппендицит. Послеоперационный период протекал без

особенностей, пациент был выписан из больницы в удовлетворительном состоянии на 4 сутки после операции для наблюдения по месту жительства.

При макроскопическом осмотре удаленный червеобразный отросток с брыжеечкой был длиной 10,5см, диаметром 1см, серозная оболочка его серо-синюшная, тусклая с инъецированными сосудами и очаговыми сероватыми пленчатыми наложениями; на расстоянии 4 см от устья на участке длиной 1,5см стенка несколько утолщена, на разрезе слизистая оболочка шероховатая; в просвете червеобразного отростка слизь.

Микроскопическое исследование выявило сидячую зубчатую аденому червеобразного отростка (с характерным пилообразным профилем поверхностного эпителия и крипт, разветвлением крипт, дилатацией их оснований, которые образуют структуры Т- и L-форм) с фокусами дисплазии тяжелой степени (high grade) и выраженным флегмонозным воспалением, распространяющимся на всю толщу стенки и брыжеечку (рисунок 43).

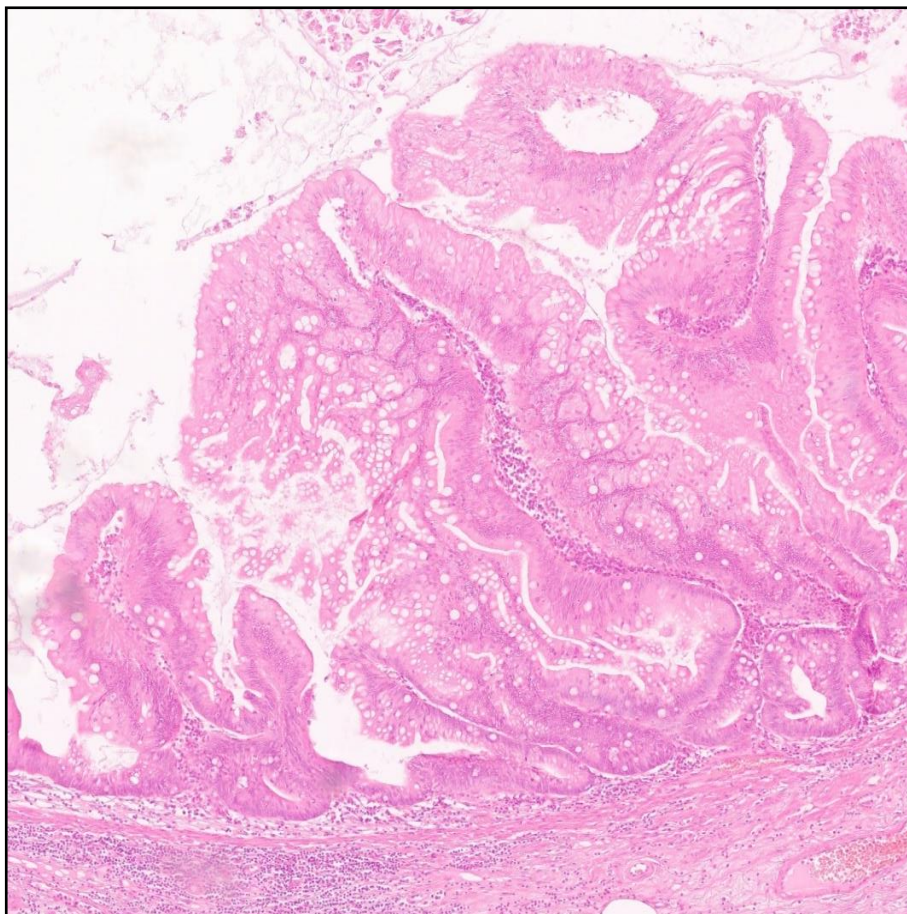


Рисунок 43 – Сидячее зубчатое поражение червеобразного отростка с дисплазией высокой степени. Слизистая оболочка инфильтрирована сегментоядерными нейтрофилами. Окр. гематоксилином и эозином, ув. х 100

Проведенное молекулярно-генетическое исследование выявило наличие у пациента мутации гена *KRAS*, что отличалось от всех исследованных случаев СЗП толстой кишки. Маркеры МСН показывали полную потерю экспрессии MSH2 (рисунок 44 в), частичную потерю экспрессии в определенных клетках MLH1 (рисунок 44 а) и MSH6 (рисунок 44 г), PMS2 экспрессировался во всех клетках. Однако для постановки диагноза МСН не было выявлено полной потери в 3-х смежных криптах.

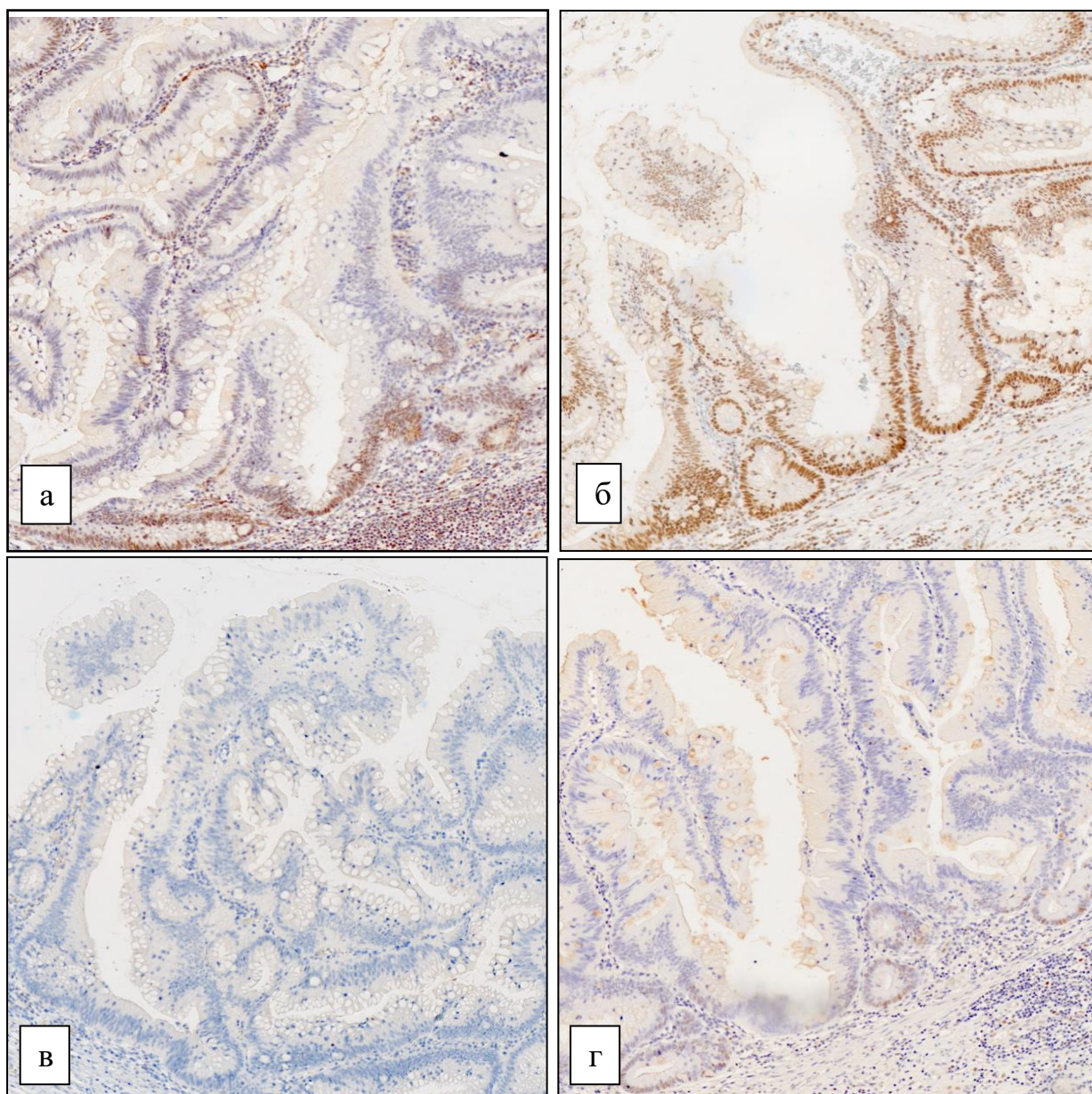


Рисунок 44 – Микрофотографии. Иммуногистохимическая реакция с маркерами к MLH1 (а), PMS2 (б), MSH2 (в) и MSH6 (г) в сидячем зубчатом поражении червеобразного отростка с дисплазией высокой степени и мутацией гена *KRAS*, ув. х 100

ИГХ профиль данного СЗП червеобразного отростка показал выраженную реакцию MUC2 (рисунок 45 а) и очаговую выраженную экспрессию MUC5AC (рисунок 45 в), а также экспрессию маркера MUC6 (рисунок 45 б) в расширенном основании крипт. Экспрессия CK20 выявлялась во всех отделах крипты и имела выраженную интенсивность реакции, что отличалось от СЗП толстой кишки (рисунок 45 г).

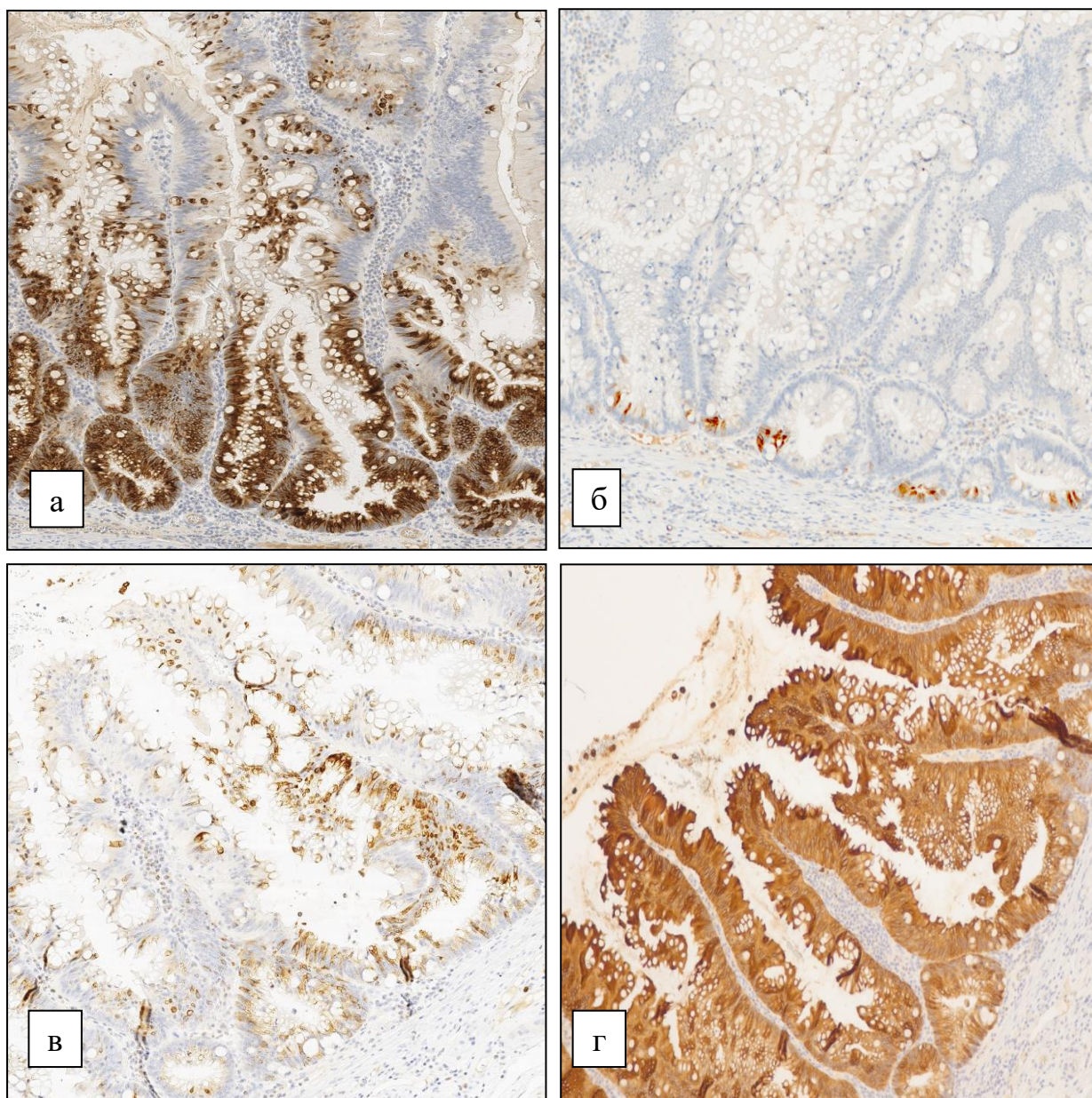


Рисунок 45 – Микрофотографии. Иммуногистохимическая реакция с маркерами к MUC2 (а), MUC6 (б), MUC5AC (в) и CK20 (г) в сидячем зубчатом поражении червеобразного отростка с дисплазией высокой степени и мутацией гена *KRAS*, ув. х 100

Индекс пролиферативной активности по маркеру Ki67 составил 87% (рисунок 46).

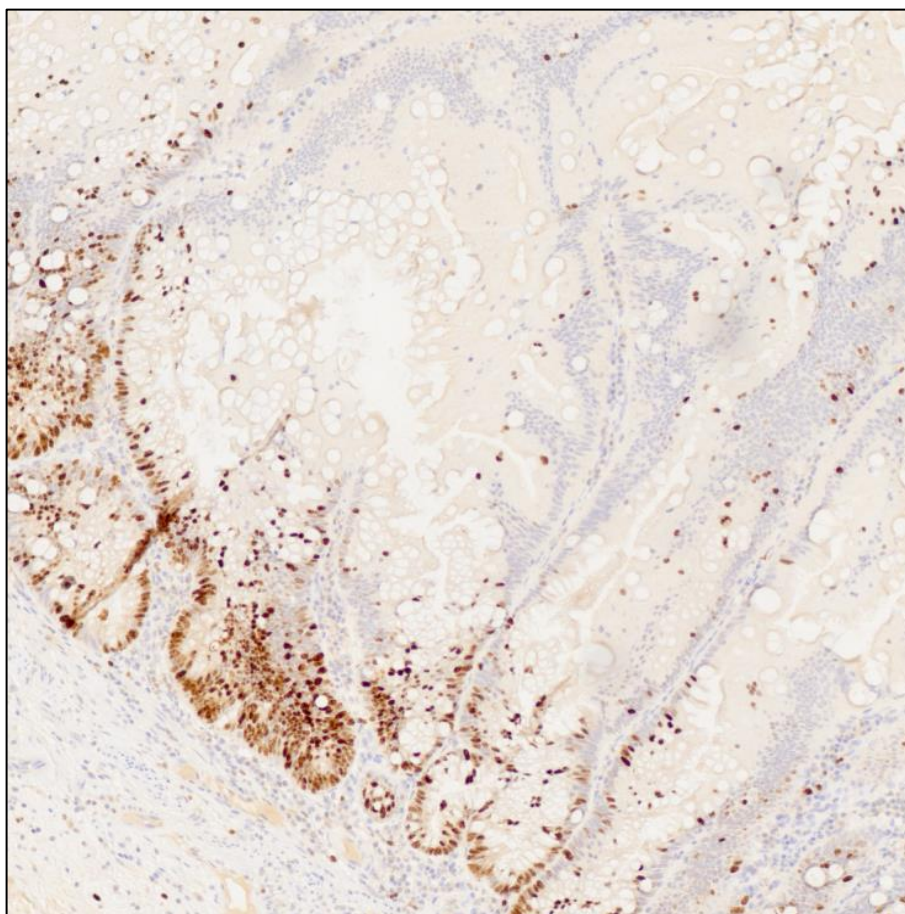


Рисунок 46 – Микрофотография. Иммуногистохимическая реакция с маркером Ki67 в сидячем зубчатом поражении червеобразного отростка с дисплазией высокой степени и мутацией гена *KRAS*, ув. x 100

Пациент Ц., 31 года, поступил с жалобами на остро возникшую боль в верхних отделах живота, которая со временем переместилась в правую подвздошную область, дважды была рвота пищей, в связи с чем он обратился в поликлинику, откуда нарядом СМП доставлен в ГБУЗ «ГКБ № 31 ДЗМ». При физикальном осмотре: живот не вздут, симметричен, участвует в акте дыхания; перистальтика обычной звучности; притуплений перкуторного звука в отлогих местах живота не выявлено. Симптомы Воскресенского, Ровзинга, Ситковского – положительные. Симптом Щеткина-Блюмберга

положительный. Лабораторные показатели приведены далее: гемоглобин 165,0 г/л; эритроциты $5,57 \times 10^{12}/л$; тромбоциты $175 \times 10^9/л$; лейкоциты $143 \times 10^9/л$; гематокрит 49,4. При осмотре хирургом был установлен диагноз острый аппендицит, в связи с чем в экстренном порядке была проведена лапароскопическая аппендэктомия. Во время операции утолщенный, напряжённый, гиперемированный червеобразный отросток, покрытый фибрином на вершукке, находился в правой подвздошной области. Интраоперационный диагноз: острый флегмонозный аппендицит. Послеоперационный период протекал без особенностей, пациент был выписан из больницы в удовлетворительном состоянии на 4 сутки после операции для наблюдения по месту жительства

При макроскопическом осмотре удаленный червеобразный отросток с брыжеечкой был длиной 10,5см, диаметром от 0,5 до 0,6см, серозная оболочка его серо-синюшная, с инъецированными сосудами; стенка аппендикса толщиной 0,2см; в просвете его коричневатое содержимое.

Микроскопическое исследование выявило сидячее зубчатое поражение червеобразного отростка без дисплазии в сочетании с острым воспалением, захватывающим всю толщину стенки отростка (рисунок 47).

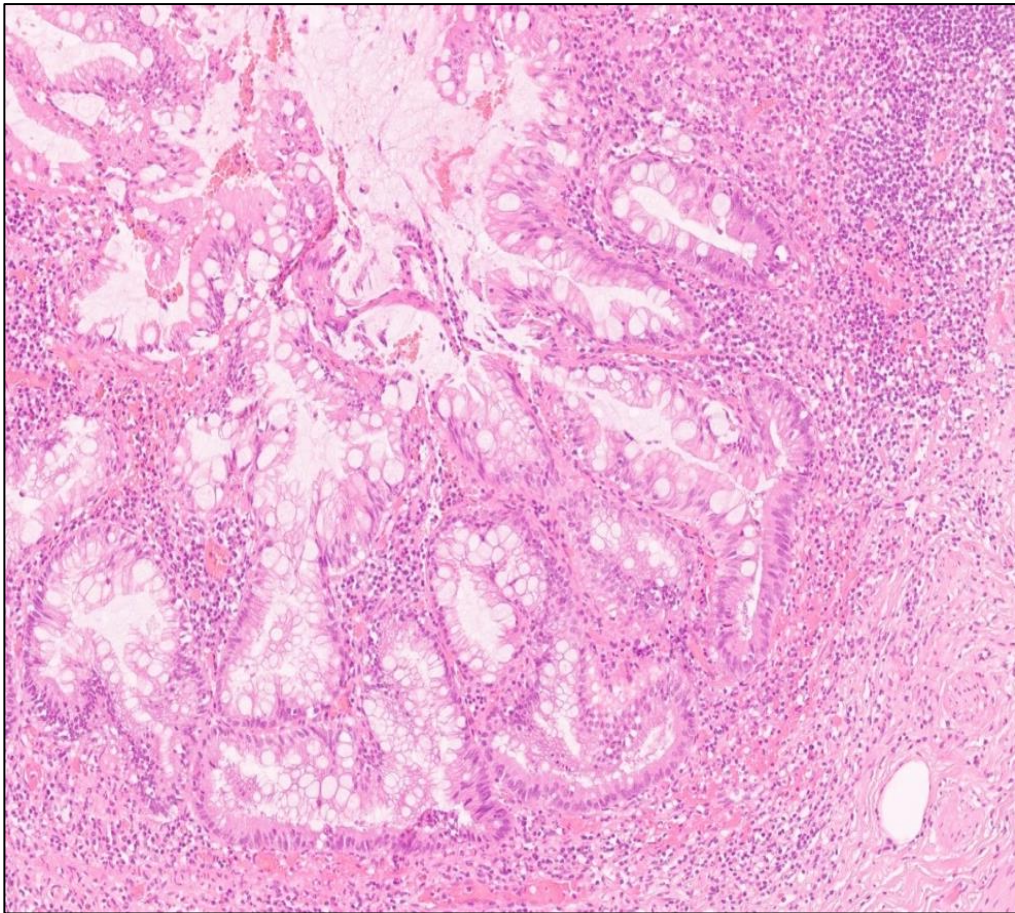


Рисунок 47 – Микрофотография. Сидячее зубчатое поражение червеобразного отростка без дисплазии. Слизистая оболочка инфильтрирована сегментоядерными нейтрофилами. Окр. гематоксилином и эозином, ув. x 100

Проведенное молекулярно-генетическое исследование выявило наличие у пациента мутации гена *BRAF* и наличие MCH низкой степени по потере экспрессии MSH2 и MSH6 в 3-х смежных криптах (рисунок 48 в, г). Также была отмечена частичная потеря MLH1 и PMS2 (рисунок 48 а, б).

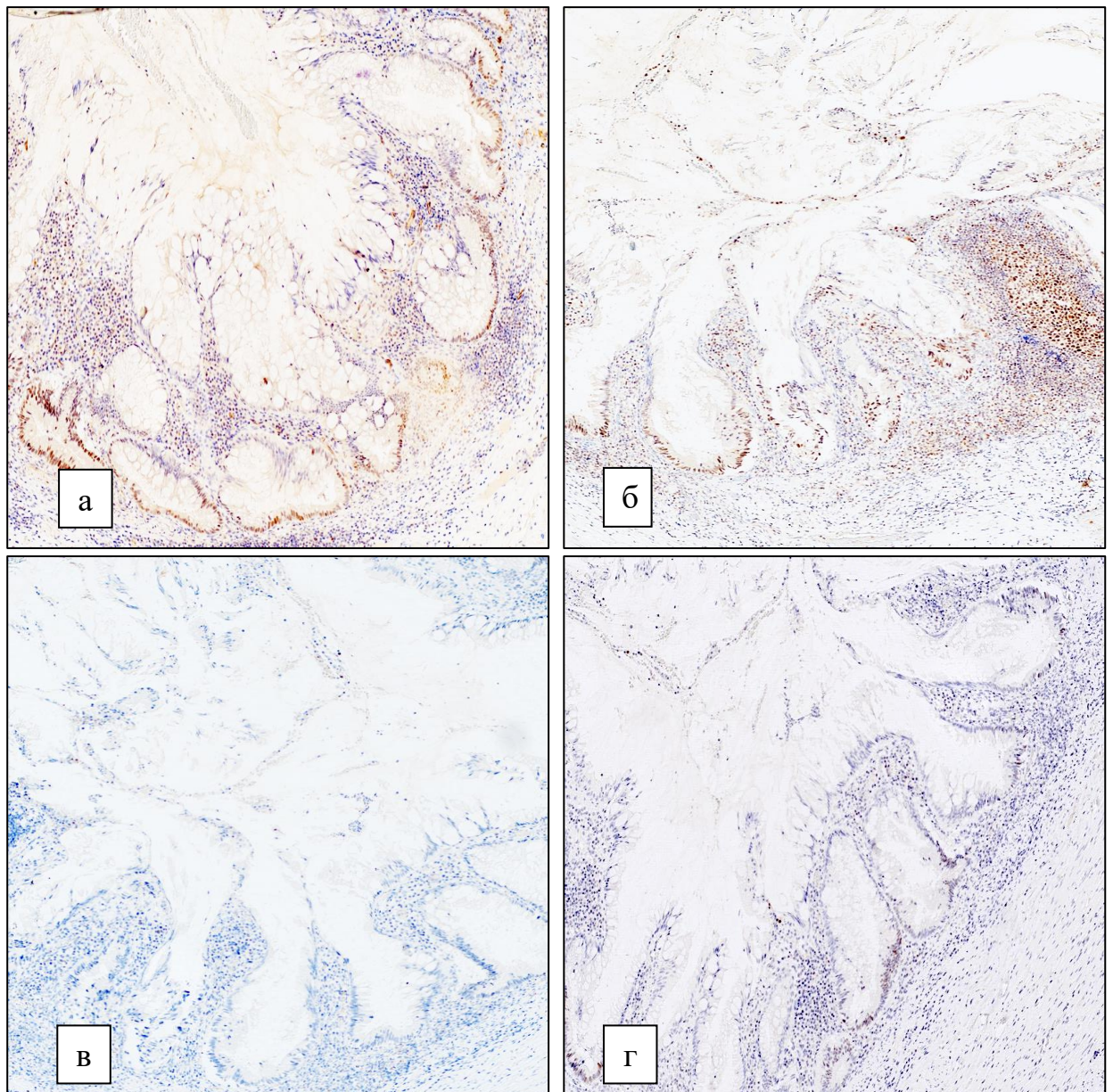


Рисунок 48 – Микрофотографии. Иммуногистохимическая реакция с маркерами к MLH1 (а), PMS2 (б), MSH2 (в) и MSH6 (г) в сидячем зубчатом поражении червеобразного отростка без дисплазии и мутацией гена *BRAF*, ув. х 200

ИГХ профиль данного СЗП червеобразного отростка с мутацией гена *BRAF* выявило выраженную реакцию MUC2 (рисунок 49 а) и очаговую выраженную экспрессию MUC5AC (рисунок 49 в), также экспрессировался маркер MUC6 (рисунок 49 б) в расширенном основании крипт. Экспрессия CK20 выявлялась во всех отделах крипты, кроме расширенного основания, как и в СЗП толстой кишки (рисунок 49 г).

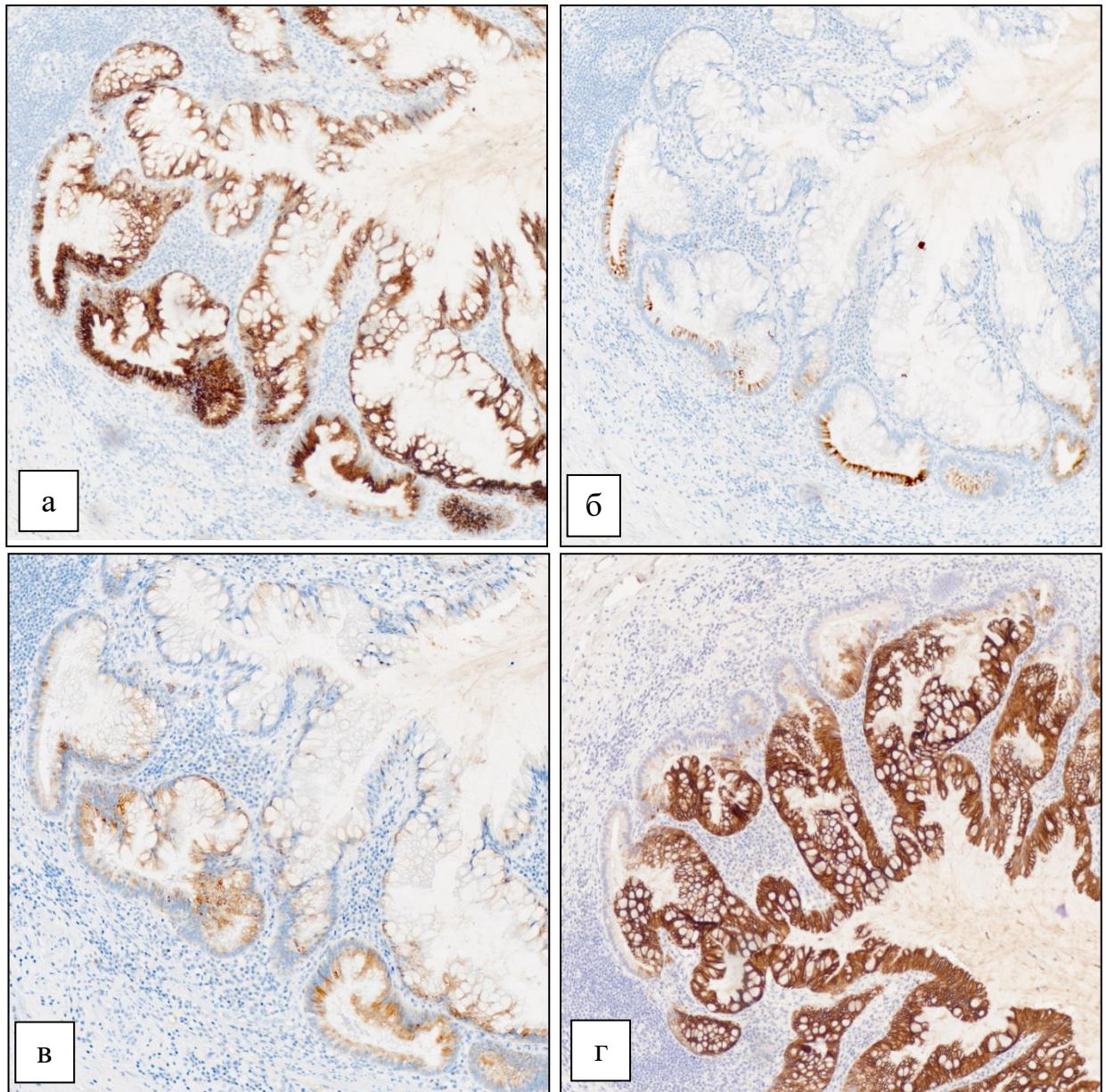


Рисунок 49 – Микрофотографии. Иммуногистохимическая реакция с маркерами к MUC2 (а), MUC6 (б), MUC5AC (в) и CK20 (г) в сидячем зубчатом поражении червеобразного отростка без дисплазии и мутацией гена *BRAF*, ув. x 100

Индекс пролиферативной активности по маркеру Ki67 составил 30% (рисунок 50).

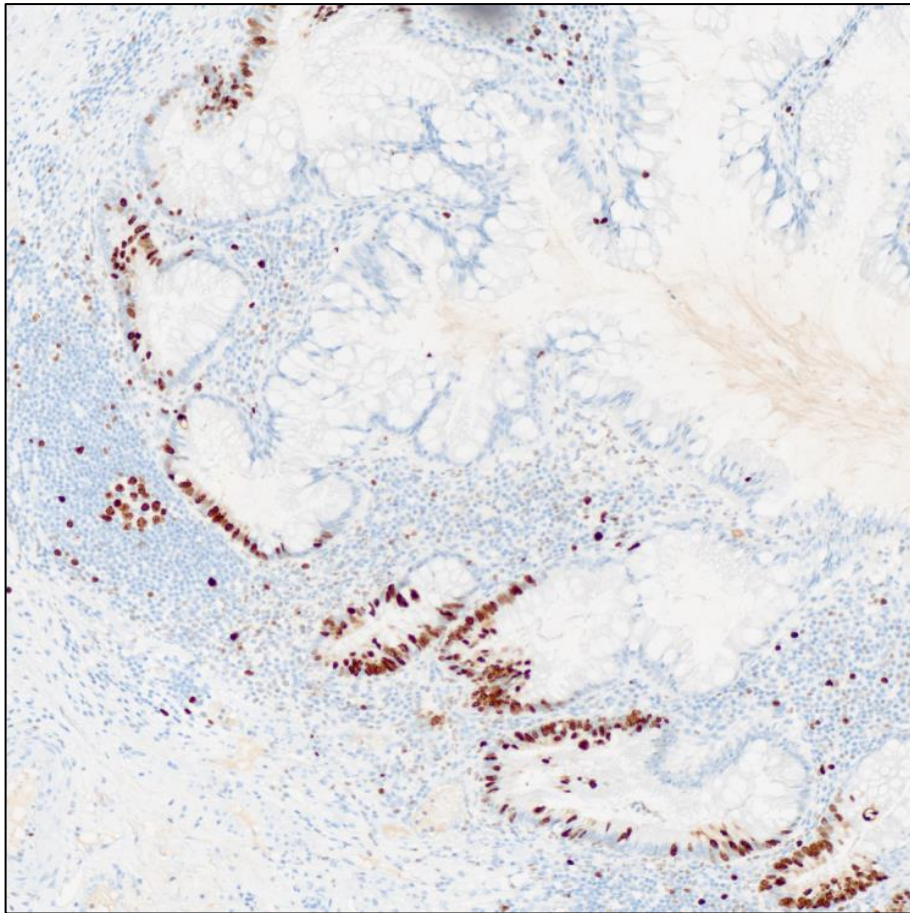


Рисунок 50 – Микрофотография. Иммуногистохимическая реакция с маркером Ki67 в сидячем зубчатом поражении червеобразного отростка без дисплазии и с мутацией гена *BRAF*, ув. х 100

Резюме

В результате исследования были определены отличительные клинико-морфологические черты каждого типа ЗП толстой кишки, описан их иммуногистохимический профиль и молекулярно-генетические характеристики (таблица 10).

1. Пациенты, страдающие ЗП толстой кишки, были преимущественно женского пола, у которых частота встречаемости ЗП была выше в 1,5 раза, чем у мужчин. У женщин СЗП встречаются достоверно чаще чем ГП ($p=0,037$), в то время как ТЗА диагностировались одинаково часто у мужчин и у женщин.
2. Вторым отличием по половому признаку был возраст пациентов с ЗП. Стоит отметить, что для мужчин и женщин средний возраст был одинаковым и составил 59,1 год. Однако большинство наблюдений ЗП у мужчин диагностировались в возрасте от 20 до 49 лет (со средним значением в этом диапазоне 46,5 лет). Для пациентов женского пола наиболее характерной оказалась возрастная группа от 60 до 69 лет со средним значением 64,7 лет.
3. ЗП толстой кишки имеют небольшие размеры при макроскопическом исследовании: до 10 мм в диаметре в 72,14%, при этом в 20,5% - менее 5 мм.
4. Большая часть ГП (59,24%) были размером до 10 мм в диаметре со средним значением 6,2 мм. В 14,71% наблюдений ГП их размер составил более 10 мм. Диагностируются преимущественно в левой половине толстой кишки.
5. СЗП размером до 5 мм составляют 15,92%. Около половины наблюдений СЗП (48,76%) имели размеры от 5,0 до 10,0 мм, среднее значение составило 8,4 мм.
6. СЗП с дисплазией низкой степени имели средние размеры 6,8 мм (у женщин) и 10,3 мм (у мужчин).

7. ТЗА отличаются от остальных ЗП по макроскопическим чертам за счет размеров и формы. Так, в большинстве наблюдений ТЗА имели размеры более 16 мм (среднее значение 16,3 мм).
8. Для СЗП характерными иммуногистохимическими и молекулярно-генетическими признаками являются:
 - присутствие мутации гена *BRAF*;
 - выраженная экспрессия MUC2 и экспрессия MUC6 в дилатированных основаниях крипт;
 - при наличии мутации гена *BRAF* характерно более яркое окрашивание с антителами к MUC2, чем в СЗП без мутации. *BRAF* - положительные СЗП имеют также выраженную положительную цитоплазматическую экспрессию MUC5AC в энтероцитах вдоль длины крипты;
 - высокий индекс пролиферативной активности Ki67 в СЗП с дисплазией (среднее значение 56,3%), а для СЗП без дисплазии - 35,1%;
 - выраженная экспрессия CK20 вдоль всей длины, кроме базальных отделов крипты;
 - СЗП без мутации гена *BRAF* в большей части случаев характеризует очаговая умеренная экспрессия MUC5AC вдоль длины крипты, в меньшей части случаев экспрессия этого муцина отсутствует.
9. Дифференциально-диагностическими признаками ТЗА являются:
 - отсутствие мутации гена *BRAF*;
 - отсутствие экспрессии MUC6;
 - при отсутствии мутации гена *KRAS* характерными признаками являются выраженная экспрессия MUC2 вдоль длины крипты или умеренная экспрессия MUC2, умеренно выраженная экспрессия муцина MUC5AC;
 - при наличии мутации гена *KRAS* традиционная зубчатая аденома характеризуется очаговой экспрессией MUC5AC (более 50 % клеток) с расположением в верхней части крипты и поверхностном эпителии наряду с выраженной экспрессией MUC2 вдоль длины крипты;

- высокий индекс пролиферативной активности Ki67 - среднее значение 76,3 %;
- выраженная или умеренная экспрессия CK20 вдоль всей длины, в части наблюдений очаговая.

10. Дифференциально-диагностическими признаками ГП являются:

- выраженная цитоплазматическая экспрессия MUC2 вдоль длины крипты;
- отрицательная экспрессия MUC6 в основаниях крипт;
- низкий индекс пролиферативной активности Ki67 - среднее значение 34,4 %;
- выраженная экспрессия CK20 вдоль всей длины, кроме базальных отделов крипты;
- могут присутствовать как мутации генов *BRAF* и *KRAS*;
- очаговая положительная экспрессия MUC5AC в базальных отделах крипт независимо от наличия мутаций генов *KRAS* и *BRAF*.

11. Мутации гена *NRAS* не было выявлено ни в одном из наблюдений с ЗП.

12. Микросателлитная нестабильность встречается во всех типах ЗП. Микросателлитная нестабильность высокой степени наиболее характерна оказалась для СЗП и ТЗА, низкой степени – для ГП.

Таблица 10 - Сводная таблица результатов значений показателей иммуногистохимических маркеров, наличия мутации генов и микросателлитной нестабильности в трех типах зубчатых поражений толстой кишки

Показатель	Гиперпластические полипы	Сидячие зубчатые поражения	Традиционные зубчатые поражения
CK20	Выраженная экспрессия, кроме основания крипты	Выраженная экспрессия, кроме основания крипты	Выраженная или умеренная экспрессия, преимущественно в поверхностном эпителии
Индекс Ki67	<30%	<30% - СЗП без дисплазии >50% - СЗП с дисплазией	>40%
MUC2	Выраженная экспрессия, кроме основания крипты	Выраженная экспрессия, кроме основания крипты	Выраженная или умеренная экспрессия, преимущественно в поверхностном эпителии
MUC5AC	Умеренно выраженная очаговая экспрессия	Выраженная экспрессия	Умеренно выраженная очаговая экспрессия
MUC6	Нет	Умеренная и выраженная экспрессия в основании	Нет
Мутация <i>BRAF</i>	+	+	-/+
Мутация <i>KRAS</i>	+	-	+
Мутация <i>NRAS</i>	-	-	-
MCH	MCH-H	MCH-B	MCH-B

Глава 5. Обсуждение результатов

Зубчатые поражения толстой кишки являются, несомненно, актуальной проблемой с точки зрения патогенетического механизма развития КРР. Изучение клинико-морфологических и молекулярно-генетических характеристик данных поражений вносит весомый вклад в общую картину канцерогенеза КРР по зубчатому пути. Большинство работ зарубежных авторов посвящено именно путям канцерогенеза, в то время как в российской литературе на данный момент не хватает таких исследований, и большая часть посвящена дифференциальной диагностике с классическими аденомами толстой кишки.

Но даже опубликованные данные не позволяют определить четкие критерии для диагностики каждого типа зубчатых поражений, а также не найдены маркеры, показывающие прогностическую значимость малигнизации. Второй спорный момент касается возможности трансформации гиперпластических полипов в сидячие зубчатые поражения и традиционные зубчатые аденомы.

Важным аспектом изучения остаются клинические характеристики зубчатых новообразований толстой кишки, так как известно, что обнаружение и удаление предраковых поражений является одним из главных руководящих принципов для скрининговых программ. В настоящее время в США в результате введения скрининговых программ отмечается стабилизация роста заболеваемости КРР, снижается этот показатель и в Канаде [10]. В то же время на территории России ЗП продолжают ассоциироваться с гиперпластическими полипами, которые редко подвергаются удалению [5]. Полученные новые данные позволяют идентифицировать пациентов с высоким риском развития ЗП и КРР.

По данным литературы ЗП толстой кишки поражают наиболее часто пациентов в возрасте от 50 до 65 лет, при этом у мужчин средний возраст с данным заболеванием составляет 63,3 года, у женщин — 56,8 лет [63, 91, 127,

146, 158, 161, 184, 214]. По нашим результатам, средний возраст пациентов с ЗП толстой кишки составил 59,1 год, и не отличался значительно у мужчин и женщин. В то же время ЗП в 1,5 раза чаще диагностируются у женщин, чем у мужчин. Нами было отмечено, что большинство наблюдений с ЗП у мужчин фиксировалось в возрасте от 20 до 49 лет со средним значением 46,5 лет. Для пациентов женского пола наиболее характерной оказалась возрастная группа от 60 до 69 лет со средним значением 64,7 лет. Что интересно, четверть пациентов, страдающих ЗП, были моложе 50 лет. В данной возрастной группе преобладали СЗП толстой кишки, которые обладают наибольшим потенциалом злокачественной трансформации. Это свидетельствует о том, что необходимо проводить скрининг в более раннем возрасте и тщательно исследовать гистологический материал для дифференциальной диагностики между СЗП и ГП. Стоит также отметить, что у 15,4% пациентов с ЗП были выявлены от 2-х и более поражений одновременно. Преимущественно это касалось СЗП, которые обнаруживались в одной и той же локализации одновременно в 36,7% и в то же время многие были в количестве от 5 до 13 СЗП.

По макроскопическим данным большая часть ЗП имеют небольшие размеры до 10 мм и плоскую форму, которые крайне тяжело диагностируются [5]. Согласно нашим исследованиям 72,14% ЗП толстой кишки были также до 10 мм в диаметре, при этом в 20,5% - менее 5 мм. Большая часть исследователей приводят данные, свидетельствующие о том, что частота появления диспластических изменений и рака «in situ» в ЗП возрастает с увеличением размеров образования [5, 40, 154, 157, 170, 190].

В нашей работе ГП диагностировались наиболее часто среди всех ЗП (49,5%), что совпадает с данными, приведенными в большинстве исследований. Они обычно имеют небольшие размеры до 10 мм в диаметре со средним значением 6,2 мм, большая часть исследованных полипов 59,24% - были диаметром от 5,0 до 10 мм, что отличается от большинства данных.

Стоит также отметить, что в 14,71% наблюдений с ГП их размер был более 10 мм. Часть зарубежных коллег считают, что истинные ГП не могут быть таких размеров, поэтому рекомендуют ставить диагноз СЗП для более тщательного наблюдения за таким пациентом и обеспечения тотальной резекции данного участка. Поэтому согласно существующим рекомендациям ГП, размером больше 1,0 см, по одним данным, и более 5 мм – по другим, особенно расположенные проксимальнее селезеночного изгиба следует трактовать как СЗП [140, 166, 200]. По эндоскопическим характеристикам, согласно Парижской классификации, относятся к «плоско-приподнятым» 0-IIa в 46,03% и «полиповидным образованиям на широком основании» 0-Is в 44,44%. Также характерно развитие в левой половине толстой кишки, и множественное поражение в прямой кишке и сигмовидной части толстой кишки [83, 149, 151, 164]. Так же, как и большинство коллег, мы считаем, что нужно очень осторожно и тщательно относиться к проксимально расположенным ГП, относительно печеночного изгиба.

Наибольшую настороженность вызывают СЗП толстой кишки, которые сложно диагностируются при колоноскопии на ранних этапах из-за правосторонней локализации, небольшого диаметра и их макроскопической формы, и бледного цвета [200]. Большинство СЗП и СЗП с дисплазией развиваются в правой половине толстой кишки с преобладанием в восходящей части как у пациентов мужского пола (31,8%), так и женского (44,4%). У женщин также преимущественно обнаруживались в слепой части толстой кишки (20,0%), а у мужчин – в сигмовидной (21,2%). Наиболее характерной чертой при эндоскопическом исследовании является наличие муцинозной шапки на поверхности образования. Стоит отметить, что врачи эндоскопической диагностики на сегодняшний день также активно занимаются изучением данных образований, что отражается уже в направительном диагнозе биопсированного или резецированного фрагмента

как «зубчатый полип», «зубчатая аденома» или сидячая зубчатая аденома\полип (синонимы СЗП).

Также по нашим данным высока доля СЗП размером до 5 мм и составляет 15,92%. Около половины наблюдений СЗП (48,76%) имели размеры от 5,0 до 10,0 мм, среднее значение достоверно выше, чем у ГП и составило 8,4 мм ($p < 0,001$), что согласуется с данными исследованиями [2, 8, 12, 140]. При этом многими авторами отмечается, что с увеличением размеров СЗП увеличивается риск развития диспластических изменений и средний размер СЗП с дисплазией составляет 12 мм, и около 40% от них оказались менее 10 мм [40, 54, 60, 124]. Результаты нашего исследования показали, что размеры образований с увеличением степени дисплазии возрастало у женщин, у мужчин же было отмечено, что средний размер СЗП с дисплазией оказался 10,7 мм. При дисплазии низкой степени средние размеры составили 6,8 мм (у женщин) и 10,3 мм (у мужчин). У пациентов женского пола с усилением дисплазии размер образований увеличивается в 1,5 раза, что также согласуется с имеющимися данными, которые описывают, что увеличение размеров СЗП сочетается с развитием диспластических изменений. СЗП с дисплазией в 32% наблюдений имеют размер более 20 мм, однако дисплазия может появляться и в поражениях размером менее 5 мм [40, 54, 60]. По данным исследования Bettington M. et al. (2014 г.) в большинстве СЗП наличие дисплазии не коррелировало с размерами образований [39]. СЗП с дисплазией в общей группе ЗП составляют от 2% до 5% и менее 1% - от всех эпителиальных предраковых поражений толстой кишки [40, 80, 124]. Настораживающим моментом при постановке СЗП является появление очагов дисплазии, которые характеризуются плохим прогнозом и быстрым темпам прогрессирования до зубчатого КРР [208].

До 87% СЗП и СЗП с дисплазией расположены в правой половине толстой кишки, но также встречаются в левых отделах, прямой кишке и аппендиксе [24, 83, 134]. В наших исследованиях в правых отделах было

обнаружено только 63,2% СЗП с дисплазией, при этом низкой степени (low-grade) встречались чаще в 69,4%. По литературным данным, СЗП встречаются одинаково часто как у мужчин, так и у женщин, в то время как СЗП с дисплазией поражают преимущественно женщин [208]. Наши результаты согласуются с этими данными, СЗП с дисплазией были выявлены у 64,9% пациентов женского пола. Мы получили также данные, что у женщин эти поражения возникают преимущественно в правых отделах, а у мужчин – в 62,5% в левых отделах диагностируются СЗП низкой степени (low-grade) и в 60% - СЗП высокой степени (high-grade).

Отдельно стоит выделить СЗП с участками малигнизации по типу умеренно- и высокодифференцированной аденокарциномы, которые в 66,7% выявлены у мужчин как в левом (сигмовидная часть), так и правом отделе в восходящей части, также, как и у женщин. Что также важно отметить, что средние размеры данных образований у женщин меньше (14 мм), в отличие от мужчин (16 мм).

Традиционная зубчатая аденома — это признанный термин, используемый для описания «зубчатой аденомы», о которой сообщали Longacre T. A. и Fenoglio-Preiser C. M. еще в 1990 г. [129]. Мировое патологоанатомическое сообщество делает предположение, что вскоре термин ТЗА трансформируется до зубчатой аденомы, так как другие типы будут именоваться как полипы или повреждения/новообразования. ТЗА встречается гораздо реже, чем СЗП, составляя до 2% всех колоректальных новообразований толстой кишки [44, 61]. Распространенность ТЗА, вероятно, является заниженной, так как может напоминать обычную аденому, а плоские варианты ТЗА часто описываются как СЗП с дисплазией [43, 80, 111, 205]. Полученные нами результаты исследования ТЗА согласуются с этими данными. Наиболее часто в 76,19% ТЗА диагностировались у людей старше 60 лет, и средний возраст составил 66,7 лет. Также стоит отметить, что у женщин ТЗА встречались преимущественно в возрастном периоде от 60 до 69

лет, в то время как у мужчин - от 70 до 79 лет. Более половины исследованных ТЗА располагались в левой части толстой кишки, с преобладанием в сигмовидной кишке, как у пациентов женского, так и мужского пола. Большинство ТЗА были размерами более 16 мм и 0-IIa типа по Парижской классификации и имели полиповидную форму (0-Is и 0-Ir типов). Размер ТЗА возрастал при усилении степени дисплазии. В 47,6% была выявлена дисплазия низкой степени и их средний размер составил 9,7 мм. ТЗА с дисплазией высокой степени (28,6%) имели средние размеры в 1,4 раза больше – 13,4 мм. ТЗА с признаками малигнизации по типу умеренно- и высокодифференцированной аденокарциномы, которые составили 11,2% от всех ТЗА, в среднем были больше 33 мм.

Важно подчеркнуть, что размер, местоположение, количество и эндоскопический вид не входят в патоморфологический диагноз. Стоит отметить, что благодаря опыту использования современных визуализирующих технологий и знанию характерной эндоскопической семиотики, улучшилась точность дифференциальной диагностики на этапе проведения колоноскопии [207]. Это позволяет пациентам с плоскими поражениями вовремя получить адекватную терапию на первом этапе в виде полной резекции образования. Конечно, все ЗП не имеют отличительных симптомов. Первые симптомы, по литературным данным, в виде появления крови в кале появляются только при образованиях более 2,0 см, а также при злокачественной трансформации и развитии рака с сопутствующей симптоматикой в виде потери веса, обтурации просвета толстой кишки и анемии [5]. Мы полагаем, что размер и местоположение, по-видимому, являются важными предикторами риска развития ЗП. Многие исследователи связывают выявление СЗП и крупных (более 10 мм) ГП с последующим развитием множественных аденом, как классических тубулярных и тубуловорсинчатых, так и СЗП [75, 147, 176]. В ряде других работ показано, что у пациентов с любыми ЗП, имеющими размеры более 10 мм, и с СЗП любого

размера чаще наблюдаются впоследствии более крупные ЗП, чем классические аденомы, что увеличивает риск развития проксимально расположенных аденокарцином толстой кишки [30, 32, 53, 57, 61, 62, 132, 144]. Из-за редкого развития ТЗА и недостаточного опыта в диагностике вопрос о наблюдении таких пациентов в плане дальнейшего развития процесса еще остается спорным. В данном случае мы предлагаем опираться на имеющиеся данные, что большинство из ТЗА имеют крупные размеры и присутствует дисплазия, и чаще чем у СЗП была выявлена дисплазия и малигнизация. В то же время зарубежные коллеги считают, что лечение крупных ЗП должно быть схоже с аденомами, обладающими низким риском малигнизации, поскольку риск развития рака в краткосрочной перспективе является низким [159].

Основой для диагностики остается микроскопическая диагностика. Что касается морфологического исследования, то критерии для постановки диагноза ЗП и их типов были подробно описаны многими авторами и собраны в 4-ом издании классификации новообразований органов пищеварения ВОЗ от 2010 года [184]. За последнее десятилетие было проведено большое количество исследований, которое легло в основу новой классификации ЗП в 2019 году [61, 217]. Сегодня ЗП не являются предметом столь активных морфологических исследований. Тем не менее, важно подчеркнуть, что существует постоянная необходимость решения проблемы разногласия в постановке диагноза. Несмотря на имеющиеся данные, до сих пор не сформулировано единого структурированного подхода к дифференциальной диагностике ЗП с использованием иммуногистохимических и молекулярно-генетических методов.

Так тип «бедный муцином ГП» («mucin-poor» hyperplastic polyp), в новой классификации исключен и трактуется как «истощённый микровезикулярный гиперпластический полип», либо возникающий в ответ на воспалительные изменения слизистой оболочки без выделения его в отдельную подгруппу ГП. Связано это с тем, что по данным большинства

исследований в различных странах они либо не встречались, либо обнаруживались в менее чем 9% случаев от всех ГП [58, 82, 185]. В ходе нашего исследования мы обнаружили 2 наблюдения с данным типом ГП, однако мы их исключили.

СЗП именовались ранее как сидячая зубчатая аденома/полип и были переименованы в современной классификации ВОЗ 2019 года [159, 217]. Большинство зарубежных коллег не согласны с данной интерпретацией и рекомендуют продолжать использовать термин сидячая зубчатая аденома или сидячий зубчатый полип [159]. Аргументом для включения аденомы в название было желание подчеркнуть, что эти поражения являются предшественниками КРР; однако, поскольку у этих образований (СЗП) отсутствует аденоматозный эпителий, использование слова «аденома» в названии вызвало критику. Также определение «аденома» в патологии не включает цитологическую атипию. Аденомы – это доброкачественные опухоли железистой ткани, некоторые из которых имеют потенциал злокачественной трансформации. Поэтому с точки зрения фундаментальной и прикладной науки в другом термине никогда не было необходимости. И сидячий зубчатый полип, и сидячее зубчатое поражение являются подходящими терминами, если клиницисты признают, что это два названия одного и того же полипа. Если дисплазия присутствует в сидячем зубчатом полипе, тогда целесообразно просто поставить диагноз сидячий зубчатый полип с дисплазией, а не квалифицировать дисплазию как «цитологическую», как это необходимо при использовании термина сидячая зубчатая аденома. Поэтому чтобы избежать путаницы с истинно аденоматозными полипами, недавние согласованные рекомендации выступили против сидячей зубчатой аденомы и стали именоваться поражением. Стоит отдельно отметить, что мы соглашаемся и пользуемся заключением консенсусного мнения от 2012 года, по данным которого достаточно одной крипты с расширенным основанием, чтобы поставить диагноз СЗП [166].

Основными критериями для диагностики ТЗА являются перпендикулярно отходящие от основной части крипты, которые называются ЭК [50, 217]. Во всех наблюдениях ТЗА в нашей работе присутствовали все три основных признака. В то же время в некоторых исследованиях показано, что в плоских и небольших ТЗА может не быть ЭК [159]. Детальный морфологический анализ ТЗА привел к распознаванию плоских и ранних форм этого образования.

В то же время стало ясно, что некоторые диспластические ЗП не вписываются в картину ТЗА или СЗП с дисплазией, или обычной аденомой. Группа неклассифицируемых зубчатых аденом была введена для образований, которые сложно дифференцировать между ТЗА и СЗП, которые редко, но встречаются в практике врача патологоанатома [217].

Приведенные данные подтверждают актуальность выбранной темы и необходимость разработки дополнительных критериев для диагностики ЗП. Основными направлениями для дифференциальной диагностики является возможность отличить на этапе патоморфологического исследования ГП и СЗП. Как уже было сказано, достаточно одной крипты с расширенным основанием, для постановки данного диагноза, однако для этого необходимо убедиться в том, что образец для исследования был правильно ориентирован при заливке в парафиновый блок, чтобы срез проходил максимально ровно и перпендикулярно. Вторым моментом является наличие очагов пролапса в мышечную пластинку, которые могут выглядеть как расширенное основание, что приведет к неверной постановке диагноза. Также неосведомленность о плоских вариантах ТЗА, особенно расположенных в правой части ободочной кишки, приводит к их неправильной трактовке и диагностированию как тубулярных аденом, либо вариантом СЗП.

Предложенная нами панель ИГХ антител позволяет провести дифференциальную диагностику ЗП, а также определить возможный молекулярный статус образования. Несмотря на то, что впервые желудочная

дифференцировка ЗП была описана в 1999 году на основании ИГХ реакции с “human gastric mucin”[210], в практике патологоанатома, на наш взгляд, в настоящее время недостаточно широко используются антитела к муцинам. Мы выявили, что исследования с MUC2, MUC5AC и MUC6 имеют хороший потенциал для дифференциальной диагностики, а также экспрессия этих антител изменяется в зависимости от молекулярных нарушений. Особенно интересны полученные различия в группах ЗП с наличием и без мутаций генов *BRAF*, *KRAS* и *NRAS*.

Полученные в ходе нашего исследования результаты во многом согласуются с данными литературы. Так, нами подробно описаны особенности экспрессии MUC2 в СЗП, ГП и ТЗА, с акцентом в подгруппах с наличием и без мутации генов. По результатам нашего исследования было определено, что для всех ЗП характерна положительная реакция с MUC2 типа, которая имела некоторые отличия в выраженности экспрессии в зависимости от типа и генетического нарушения. Для ГП выраженная реакция оказалась характерна для всех наблюдений и не отличалась в зависимости от присутствия мутаций генов *BRAF*, *KRAS* и *NRAS* и без. Так же, как и в группе СЗП в 84,6 % была выявлена выраженная экспрессия MUC2, которая выявлялась вдоль всей длины крипты и в дилатированном основании. Однако в 15,4% СЗП преобладала умеренная экспрессия, которая выявлялась очагово в случаях без дисплазии. Стоит отметить, что СЗП с мутацией гена *BRAF* показывали более яркую реакцию (в 85,7%), чем в СЗП без мутации и без признаков дисплазии, что согласуется с имеющимися данными [45, 70, 130, 201]. Экспрессия MUC2 была отмечена во всех случаях ТЗА, здесь важно сказать, что при наличии дисплазии высокой степени и при наличии очагов малигнизации по типу умеренно- и высокодифференцированной аденокарциномы везде отмечалось интенсивное окрашивание более 50% клеток. При сопоставлении с генетическим исследованием для ТЗА с мутацией генов была характерна выраженная реакция к MUC2, в то время как без

мутации генов в половине случаев отмечена выраженная экспрессия вдоль длины крипт, в другой половине – умеренная экспрессия. Наши результаты сопоставимы с данными литературы, по которым известно, что экспрессия MUC2 повышается при прогрессировании злокачественного процесса в муцинпродуцирующих опухолях толстой кишки, а также более часто встречается в ЗП с мутацией гена *BRAF* [6, 70, 92, 196, 201, 202].

Исследование с антителами к MUC6 показали наибольшие отличия в типах ЗП. Так положительная экспрессия MUC6 выявлена в большинстве СЗП, особенно важно подчеркнуть, что в СЗП с признаками дисплазии высокой и низкой степени, а также при наличии мутации гена *BRAF* присутствовала экспрессия данного маркера. В ГП в 7,7 % (в том числе с наличием мутации гена *BRAF*) была выявлена умеренная экспрессия MUC6 в базальных отделах крипты, что, по нашему мнению, может быть косвенным свидетельством того, что микровезикулярный ГП может быть предшественником СЗП. Из этого следует, что необходимо в подозрительных на СЗП ГП случаях проводить иммуногистохимическую оценку. В ТЗА как с мутацией гена *KRAS*, так и с наличием мутации гена *BRAF* экспрессия MUC6 оказалась отрицательной. По экспрессии MUC6 типа полученные нами данные не противоречат описанным в научной литературе [76, 93, 201].

Еще одним важным маркером для дифференциальной диагностики ЗП и изучения молекулярно-генетических характеристик является маркер MUC5AC. Эпителиальные клетки толстой кишки в норме не продуцируют данный белок, который также является общим признаком злокачественной прогрессии не только для желудочно-кишечного тракта [198]. Мы отметили, что в ЗП экспрессия желудочного маркера MUC5AC выявилась во всех типах [13–15]. Разница между типами была в распространении экспрессии, интенсивности и количестве окрашенных клеток. Так положительная умеренно выраженная экспрессия с MUC5AC в ГП выявлялась менее чем в 50% и отличалась в ГП с наличием мутаций *BRAF* и *KRAS*. В отличие от ГП,

большинство СЗП, особенно с признаками дисплазии, характеризовались ярко выраженной реакцией с маркером MUC5AC, которая определялась более чем в 50% клеток крипт. Также при сопоставлении с наличием генетических нарушений оказалось, что выраженная экспрессия наблюдалась с мутантными формами, а без мутации гена *BRAF* в СЗП интенсивность экспрессии оценивалась как умеренная. В ТЗА диагностировалась преимущественно умеренно выраженная реакция, которая затрагивала более 50% клеток и была характерна для наблюдений с признаками дисплазии и малигнизации, а также в ТЗА с мутацией гена *KRAS*. Наличие дисплазии как низкой, так и высокой степени сочеталось с усилением экспрессии MUC5AC для всех типов ЗП ($p=0,03$). Таким образом экспрессия MUC5AC характерна для ЗП и связана с основными молекулярно-генетическими нарушениями - мутациями генов *BRAF* и *KRAS*, что согласуется с имеющимися сведениями других исследователей [13, 14, 93, 106, 196].

Основным маркером энтероцитов является СК20, который в норме экспрессируется только в верхней части крипт. В случаях с ГП и СЗП отмечалось распределение экспрессии на нижнюю треть, без экспрессии в основании. В ТЗА наблюдалась в большинстве случаев выраженная экспрессия, которая диагностировалась вдоль всей длины и в ЭК. При сопоставлении данных экспрессии СК20 с наличием мутаций генов – отличий получено не было.

Для выявления пролиферативных особенностей было проведено исследование с маркером Ki67. По полученным данным ГП характеризовались малой пролиферативной активностью со средним значением индекса 34,4%. Наиболее высокий индекс был выявлен у ТЗА со средним значением 76,3%. В СЗП индекс пролиферативной активности статистически значимо был выше, чем в ГП ($p=0,02$), но ниже, чем у ТЗА ($p=0,001$). Полученные показатели согласуются с данными многих исследователей [17, 19, 192, 208, 217]. В ТЗА экспрессия выявлялась неравномерно, также присутствовала в ЭК, что согласуется с результатами Bettington M. et al. (2018). В то же время в более

ранних исследованиях Torlakovic E. et al. (2008) показано, что экспрессия в ЭК для них не была характерна [41]. Однако в СЗП мы выявили более высокие уровни индекса Ki67, особенно для наблюдений с дисплазией со значением 56,3%, а для СЗП без дисплазии составил 35,1%. Результаты проведенного нами исследования показали, что экспрессия Ki67 коррелировала с увеличением степени дисплазии в СЗП и ТЗА ($p < 0,05$) и усилением реакции с MUC5AC во всех типах ЗП ($p < 0,05$).

В результате иммуногистохимического исследования нами показано, что все ЗП характеризуются выраженной экспрессией CK20 и MUC2, что характерно для образований толстой кишки. Однако выявленная экспрессия маркеров MUC6 и MUC5AC оказалась характерна для образований с наличием мутаций генов *BRAF*, и реже *KRAS*.

Молекулярно-генетические механизмы, лежащие в основе зубчатого пути канцерогенеза, являются крайне сложными и многогранными, на сегодняшний день считается, что наиболее характерными являются MCH и активация MAP-киназного пути за счет мутации гена *BRAF*, и реже – гена *KRAS*. По нашим наблюдениям, мутация гена *BRAF* оказалась также преобладающей (37,7%), которая диагностировалась во всех типах, с преобладанием в ГП и СЗП. Эти результаты согласуются с данными большинства исследователей [49, 82, 113, 122, 169, 172, 185, 209, 211, 214]. В наблюдениях с ТЗА напротив, мы чаще выявляли мутацию гена *KRAS* (41,7%). Часть зарубежных коллег полагает, что ТЗА с мутацией гена *KRAS* развиваются *de novo*, в то время как ТЗА с мутацией гена *BRAF* – имеют предшественников в виде МБГП или СЗП [41, 61, 84]. Схожие результаты были получены японскими коллегами Shigeki Sekine et al. (2016), которые продемонстрировали, что в ТЗА чаще встречается мутация гена *KRAS*, и выявили дополнительные изменения, такие как *PTPRK*– *RSPO3* и *RNF43*, которые приводят к активации WNT путей, в дополнение к мутациям, что доказывает возможность перехода ГП в СЗП и ТЗА, и СЗП в ТЗА [178].

Считается, что возникновение той или иной мутации гена зависит в большей степени от локализации, а не от гистологического типа образования [83, 148, 149, 151, 164, 183, 213]. Так мутация гена *BRAF* наблюдается преимущественно в КРР и предраковых поражениях, включая ЗП локализованных в правых отделах толстой кишки, в отличие от образований с мутацией гена *KRAS* [31, 48, 61, 120, 173, 187, 208]. Мы можем отметить, что действительно мутация гена *KRAS* встречалась в ТЗА и ГП, локализованных в левых отделах, и при наличии мутации гена *BRAF* в этих же типах образований они были локализованы в правых отделах. Но для СЗП толстой кишки была характерна только мутация гена *BRAF* и не зависела от расположения. В наблюдениях СЗП в червеобразном отростке в одном из наблюдений была выявлена мутация гена *KRAS*, что отличает молекулярный путь этого типа в данной локализации и подтверждается большинством исследований [28, 47, 74, 103, 174]. Что касается влияния мутации гена *NRAS* на зубчатый путь, мы считаем его незначимым, так как не было выявлено ни одного ЗП с данной мутацией. Исследований в этой области еще крайне мало, но считается, что *NRAS* мутантные КРР могут иметь в качестве предшественника ЗП [4, 65]. Стоит отметить, что более половины исследованных нами наблюдений не имели мутации генов, что еще раз подтверждает факт того, что эти образования крайне гетерогенны и еще до конца не изучены с молекулярно-генетической точки зрения.

КРР с диагностированной мутаций гена *BRAF* в 25% случаев развиваются из СЗП и имеют плохие прогнозы [118, 128, 139, 163, 167, 183]. Это касается также, по данным исследователей Богомоловой И.А. и соавторами (2019), нарушений EGFR-сигнального пути в целом (*KRAS*, *NRAS* и *BRAF*) в предраковых поражениях и раке толстой кишки, наличие которых помимо плохого прогноза еще повышает риск развития рецидива рака. Последние результаты исследований показали, что мутации в кодонах 12, 134 и 61 генов *NRAS* и *KRAS*, приводящие к активности сигнального пути RAS-

RAF-ERK, являются причиной резистентности к анти-EGFR терапии приблизительно в 35-40% случаев КРР [4].

Переходя к вопросу о МСН, важно понимать, что присутствие в опухолях МСН ассоциировано с целым рядом клинически значимых признаков: правосторонняя локализация опухоли, относительно благоприятный прогноз (так как высокая частота соматических мутаций способствует иммуногенности опухоли). Кроме того, наличие МСН влияет на выбор схемы адъювантной полихимиотерапии [156, 212]. Таким образом, определение МСН показано не только у пациентов при подозрении на синдром Линча [203], а также у пациентов с правосторонней локализацией опухолевых образований и наличием микроскопических характеристик, соответствующих ЗП и аденокарциноме, что в дальнейшем будет способствовать правильному выбору тактики ведения пациентов с данной патологией [156, 203, 212].

В половине исследованных нами наблюдений ЗП толстой кишки и во всех гистологических типах были отмечены признаки МСН, что было обусловлено нарушением функции генов репарации неспаренных оснований – *MLH1*, *PMS2*, *MSH6* и *MSH2*. Для большинства злокачественных опухолей для точного диагностирования МСН необходима потеря маркеров при ИГХ исследовании во всем опухолевом участке [7, 11]. Что касается КРР и предраковых поражений, часть исследователей предлагают на основании только *PMS2* и *MSH6* и их выпадении диагностировать МСН [131, 182]. Так как ЗП относятся к доброкачественным образованиям, не описано четких критериев для постановки диагноза МСН, однако при выпадении только одного маркера *MLH1* считается достаточным, по рекомендациям ВОЗ (2019), для диагностики МСН [18, 67, 145, 159, 217].

При сопоставлении с полученными результатами исследования на предыдущих этапах, мы выявили, что появление МСН в ГП сочеталось в 66,7% наблюдений с мутацией гена *BRAF*. Половина наблюдений СЗП и ТЗА с МСН имели мутацию гена *BRAF*. Стоит отметить, что в ТЗА МСН не была выявлена

в наблюдениях с мутацией гена *KRAS*. Полученные результаты сопоставимы с данными большинства наблюдений [40, 43, 207, 209]. В то же время, при определении иммунофенотипа ЗП толстой кишки с наличием или отсутствием МСН значимых различий получено не было. Несмотря на наличие МСН-В, такие КРР имеют хорошее значение для пациента, так как они менее склонны к метастазированию и обладают в общем благоприятным прогнозом.

Одним из ключевых моментов перехода из СЗП в СЗП с дисплазией, которое в дальнейшем имеет тенденцию к быстрой малигнизации в стадию ЗА является потеря экспрессии MLH1. Впервые это отметили и связали в предположение в 2006 году Goldstein N.S. и Sheridan T.B. et al. [79, 181]. В практическую значимость этот метод еще не вошел для СЗП. По последним публикациям, включая рекомендации ВОЗ, при появлении подозрений на дисплазию в СЗП рекомендуется проводить ИГХ с MLH1, и при выявлении выпадения экспрессии данного маркера диагностировать СЗП с дисплазией высокой степени (high grade), даже при минимальных гистологических проявлениях дисплазии [135, 159, 217]. Оценив СЗП с помощью данного метода, мы приходим к такому же мнению: при потере экспрессии MLH1 во всех наблюдениях выявляются признаки дисплазии.

Таким образом, в настоящее время остается актуальным в наиболее сложных клинических наблюдениях проведение дифференциальной диагностики между гистологическими типами зубчатых поражений толстой кишки, включающие в себя клинко-морфологические особенности (локализация, размеры образования, пол и возраст пациентов), а также иммунофенотип с обязательным включением в исследование антител к MUC2, MUC5AC, MUC6, Ki67, CK20; в тех случаях, когда проведенная иммуногистохимическая реакция демонстрирует выраженную экспрессию MUC5AC и MUC6, индекс пролиферативной активности больше 30% в ГП и СЗП и более 50% - в ТЗА, необходимо продолжить дальнейшее исследование с применением антител к MLH1, PMS2, MSH6 и MSH2 для оценки

микросателлитной нестабильности и ПЦР с оценкой мутации генов *BRAF* и *KRAS* (см. практические рекомендации, рисунок 51).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Зубчатые поражения толстой кишки – это гетерогенная группа новообразований, отличающаяся морфологическими, иммуногистохимическими и генетическими свойствами, а также различным потенциалом злокачественности. Совокупность многочисленных исследований, проведенных в разных странах, показывает высокий интерес к данной проблеме, а также то, что ЗП еще остаются не до конца изученными. Особое место занимает определение патогенеза каждого из типов ЗП и их роли в канцерогенезе КРР. Гетерогенность морфологических проявлений приводит к путанице и необходимости получения четких критериев, алгоритмов и дополнительных методов для дифференциальной диагностики ЗП. Патоморфологическая диагностика зубчатых новообразований на сегодняшний день основана на выявлении в гистологических препаратах специфической структуры, в первую очередь зубчатого профиля эпителия и формы крипт. Однако не во всех клинических наблюдениях удастся выявить эти характерные гистологические признаки. Наше исследование было направлено на выявление клинических особенностей в совокупности с морфологическими, иммуногистохимическими и молекулярно-генетическими данными, которые позволят правильно классифицировать зубчатые поражения.

Существуют способы диагностики зубчатых образований, при которых традиционное микроскопическое исследование гистологических препаратов дополняется иммуногистохимическим выявлением маркеров, определяющих пролиферативный потенциал, а также секреторного профиля новообразования. В нашей работе были отобраны наиболее значимые иммуногистохимические маркеры, которые характеризуют как патогенетические основы ЗП, так и позволяют оценить течение заболевания и тактику дальнейшего лечения. Мы рекомендуем проводить тщательное

наблюдение за пациентами с крупными ЗП или с сопутствующими запущенными аденомами.

В ходе проведённого нами исследования был разработан способ дифференциальной диагностики видов зубчатых новообразований с исследованием залитого в парафин биоптата, что позволяет не только проводить диагностику при поступлении пациента в лечебно-профилактическое учреждение, но и по прошествии времени в случае необходимости уточнения диагноза или проверки точности его формулировки.

Мы определили характерные иммунофенотипические особенности каждого типа ЗП в совокупности с молекулярно-генетическими нарушениями. Полагаем, что это также позволит проводить дифференциальную диагностику КРР, возникших на фоне ЗП и которые развиваются в результате малигнизации классических аденом.

Надеемся, что осведомленность об особенностях ЗП, особенно расположенных в правых отделах ободочной кишки, приведет к большему вниманию к данным новообразованиям толстой кишки и полному своевременному удалению, что существенно снизит риск развития колоректального рака у этих пациентов в будущем.

ВЫВОДЫ

1. Зубчатые поражения толстой кишки развиваются у пациентов со средним возрастом 59,1 год, и в 1,5 раза чаще у женщин. Наибольшее количество наблюдений (49,5%) составили гиперпластические полипы, затем сидячие зубчатые поражения – 41,8%, традиционные зубчатые аденомы – в 8,7%. Для зубчатых поражений толстой кишки характерен размер до 10 мм (средний размер гиперпластических полипов 6,2 мм, и сидячих зубчатых поражений 8,4 мм). Типичной локализацией гиперпластических полипов и традиционных зубчатых аденом является сигмовидная кишка, сидячих зубчатых поражений – восходящая часть толстой кишки ($p < 0,05$).
2. Зубчатые поражения толстой кишки характеризуются выраженной экспрессией маркеров MUC2 и CK20, и Ki67 в зонах пролиферативной активности. Интенсивность реакции с маркерами MUC5AC и MUC6 зависит от гистологического типа: для гиперпластических полипов характерна очаговая умеренно выраженная экспрессия MUC5AC вдоль длины крипт, для сидячих зубчатых поражений – выраженная экспрессия в основании дилатированных крипт и вдоль их длины, и в традиционных зубчатых аденомах - очаговой экспрессией (более 50 % клеток) с расположением в верхней части крипты и эктопированных криптах; экспрессия MUC6 обнаружена только в сидячих зубчатых поражениях толстой кишки.
3. В зубчатых поражениях толстой кишки выявлена в 37,7% мутация гена *BRAF* и в 17,4% гена *KRAS*, ни в одном наблюдении мутация гена *NRAS* не была зарегистрирована. Мутации генов *BRAF* и *KRAS* в следующих соотношениях были выявлены в типах ЗП:
 - в гиперпластических полипах толстой кишки: мутация гена *BRAF* (38,4%), гена *KRAS* (15,4%), отсутствие мутации генов 46,2%;
 - в сидячих зубчатых поражениях: мутация гена *BRAF* (52,8%), гена *KRAS* (0%), отсутствие мутации генов (46,2%);

- в традиционных зубчатых аденомах: мутация гена *BRAF* (11,8%), гена *KRAS* (47,1%), отсутствие мутации генов (41,1%).

4. Микросателлитная нестабильность диагностирована во всех типах зубчатых поражений в следующих соотношениях:

- в гиперпластических полипах - микросателлитная нестабильность низкой степени (40%), высокой степени (20%), отсутствовала (40%);

- в сидячих зубчатых поражениях - микросателлитная нестабильность низкой степени (18,7%), высокой степени (31,3%), отсутствовала (50%);

- в традиционных зубчатых аденомах - микросателлитная нестабильность низкой степени (0%), высокой степени (40%), отсутствовала (60%).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты проведенного исследования показывают патогенез колоректального рака на фоне зубчатых поражений толстой кишки и необходимость в проведении диагностической колоноскопии пациентам для их выявления в рамках скрининга. Для эффективной диагностики зубчатых поражений мы рекомендуем:

1. Во время эндоскопической колоноскопии при выявлении полиповидных или «плоско-приподнятых» образований проводить полипэктомию или резекцию для полного и одномоментного удаления образования. Выполнение биопсии считаем нецелесообразным в виду того, что даже при размерах до 10 мм в зубчатых поражениях, особенно сидячих зубчатых поражениях, диагностируются признаки дисплазии. Гиперпластические полипы подлежат полному удалению в связи с возможной дальнейшей трансформацией в сидячие зубчатые поражения и традиционные зубчатые аденомы.
2. При направлении материала на патологоанатомическое исследование в направлении необходимо указывать диагноз, локализацию, размер и тип по Парижской эндоскопической классификации удаленного фрагмента.
3. Патоморфологическое исследование. Важным этапом для дифференциальной диагностики всех полиповидных образований толстой кишки является правильное расположение тканевого образца при вырезке материала и заливке в парафиновые блоки для морфологического исследования с гематоксилином и эозином и ШИК-реакцией в сочетании с альциановым синим. Ключевым моментом при дифференциальной диагностике гиперпластических полипов и сидячих зубчатых поражений является наличие расширенных крипт в основании для сидячих зубчатых поражений,

для диагноза традиционных зубчатых аденом – отхождение под прямым углом к основной эктопированных крипт.

4. Иммуногистохимическое исследование с антителами к MUC2, MUC5AC и MUC6 необходимо использовать для определения гистологического типа зубчатых поражений в случае затруднения постановки диагноза на предыдущем этапе (рисунок 51). Определение индекса пролиферативной активности позволяет определить наличие дисплазии в сидячих зубчатых поражениях при его значении более 50%.
5. При выраженной экспрессии MUC5AC и MUC6 увеличивается риск наличия мутации генов *BRAF* и *KRAS*. В связи с этим, рекомендуется более настороженное наблюдение за такими пациентами. В случае наличия более 2-х зубчатых поражений при текущем исследовании или в анамнезе, а также экспрессии маркеров MUC5AC и MUC6, следующим этапом идет проведение генетического исследования.
6. Независимо от экспрессии маркеров MUC2, MUC5AC и MUC6 рекомендуется проведение иммуногистохимического исследования с антителами к MLH1, PMS2, MSH6 и MSH2 для определения микросателлитной нестабильности.

Таким образом, исследование зубчатых поражений толстой кишки должно проходить комплексно с учетом клинических, макроскопических, морфологических и иммуногистохимических данных. Это позволит правильно оценить гистологический тип, который напрямую влияет на риск развития колоректального рака, а при наличии признаков малигнизации – назначить таргетную терапию, определяемую наличием микросателлитной нестабильности, мутации генов *KRAS/BRAF*.

Полученные данные, на наш взгляд, имеют важное значение для формирования рекомендаций проведения скрининга рака толстой кишки.

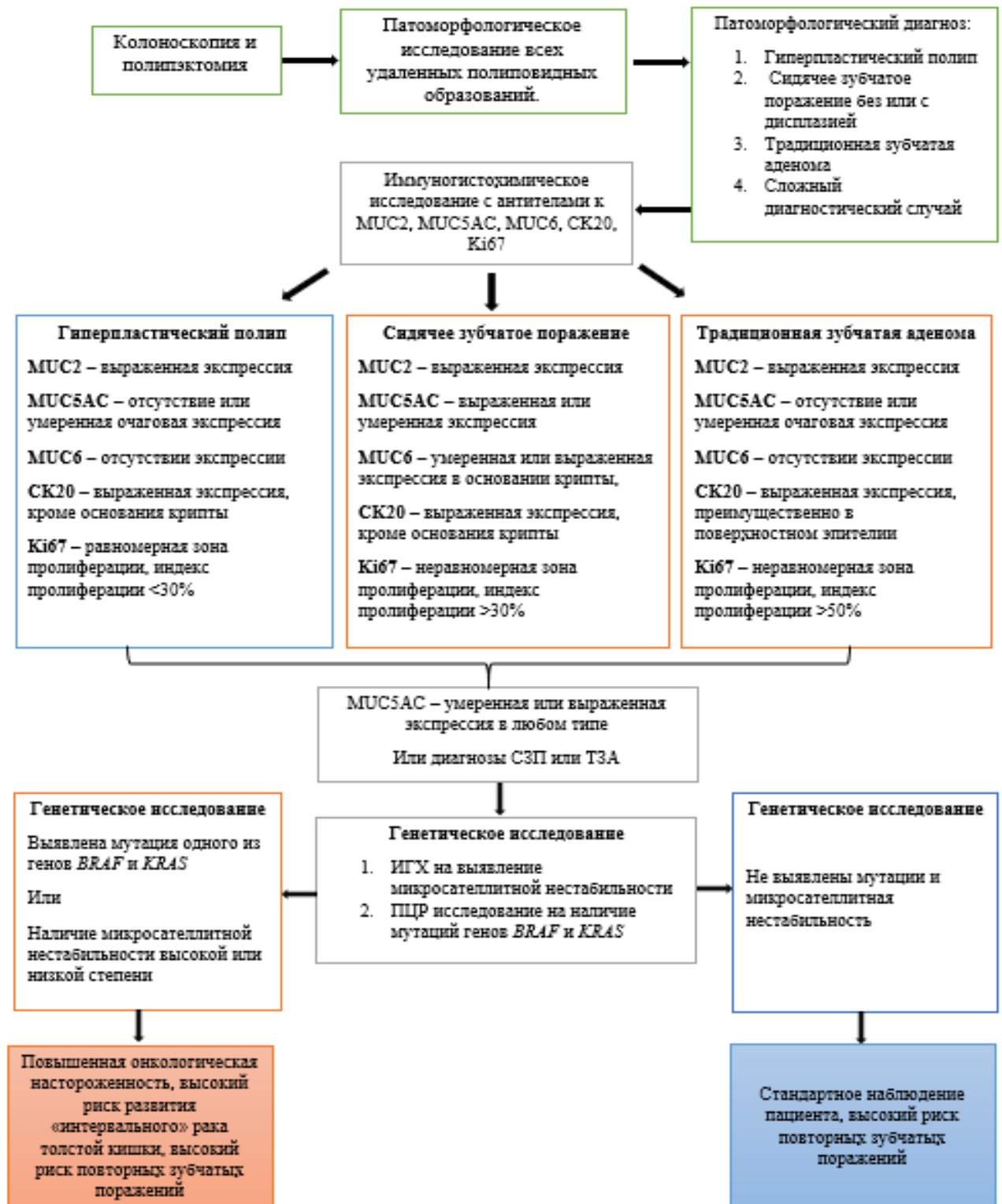


Рисунок 51 – Схема алгоритма диагностики зубчатых поражений толстой кишки

Список сокращений

ЗП – зубчатые поражения

КРР – колоректальный рак

ГП – гиперпластический полип

СЗП – сидячее зубчатое поражение

ТЗА – традиционная зубчатая аденома

МВГП – микровезикулярный гиперпластический полип

ББГП – богатый бокаловидными клетками гиперпластический полип

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

МСН – микросателлитная нестабильность

МСН-Н – микросателлитная нестабильность низкой степени

МСН-В – микросателлитная нестабильность высокой степени

ИГХ – иммуногистохимическое исследование

СИМР – высокий метиляторный фенотип CpG-island

Список литературы

1. Агейкина Н.В., Дуванский В.А., Князев М.В. Альтернативный путь развития колоректального рака. Эндоскопические и морфологические особенности зубчатых поражений (обзор литературы) // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2013. № 8.
2. Агейкина Н.В., Харлова О.А., Олейникова Н.А., Мальков П.Г., Князев М.В., Дуванский В.А. Диагностические критерии зубчатых образований толстой кишки // Доктор.Ру. 2017. № 2 (131). С. 56–62.
3. Андреева Ю.Ю., Москвина Л.В., Франк Г.А., Завалишина Л.Э., Бабенко О.В., Жевлова А.И., Кекеева Т.В., Стилиди И.С., Давыдов М.М., Паяниди Ю.Г., Кулик И.О., Подберезина Ю.Л. Гладкомышечные опухоли с неопределенным злокачественным потенциалом // Архив патологии. 2019. № 3 (81). С. 5–11.
4. Богомолова И.А., Антонеева И.И., Долгова Д.Р. Клинические особенности течения колоректального рака у пациентов с мутациями генов EGFR-сигнального пути // Ульяновский медико-биологический журнал. 2019. № 1. С. 60–67.
5. Веселов В. В., Майновская О. А., Меркулова Е. С., Веселов Вл. В. Зубчатые аденомы толстой кишки: диагностика и лечение // Доказательная гастроэнтерология. 2016. № 4 (5). С. 3–14.
6. Гуревич Л.Е., Казанцева И.А., Корсакова Н.А., Царьков П.В., Полищук Л.О. Особенности экспрессии муцинов 1-го и 2-го типов в эпителиальных опухолях толстой кишки // Архив патологии. 2007. № 2 (69). С. 12–16.
7. Завалишина Л.Э., Андреева Ю.Ю., Олюшина Е.М., Франк Г.А., Кузнецова О.А., Тележникова И.М., Виноградов И.И., Москвина Л.В. Исследование MSI-фенотипа уротелиального рака мочевого пузыря иммуногистохимическим методом // Архив патологии. 2020. № 1 (82). С. 5–14.

8. Зобнина М.В., Карасев И.А., Черкес Л.В., Туманян А.О., Малихов А.Г., Малихова О.А. Зубчатые образования толстой кишки: эндоскопическая диагностика, роль в колоректальном канцерогенезе // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2018. № 152 (4). С. 4–8.
9. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году. МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России / А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.В. Петрова, 2017. 236 с.
10. Кашин С.В. Современные аспекты выполнения колоноскопии с целью скрининга полипов и колоректального рака // Доказательная гастроэнтерология. 2014. № 3 (3). С. 57–67.
11. Кузнецова О.А., Завалишина Л.Э., Андреева Ю.Ю., Виноградов М.И., Шомова М.В., Франк Г.А. Иммуногистохимическое исследование маркеров MSI при раке молочной железы // Архив патологии. 2021. № 1 (83). С. 12–17.
12. Малов В.И., Скажутина Т.В., Мусорина В.П., Загорыкина Л.Ю. Зубчатые аденомы толстой кишки в практике врача-эндоскописта // Забайкальский медицинский журнал. 2017. №2. С. 30–32.
13. Михалева Л.М., Вандышева Р.А., Козлов И.С., Васюкова О.А., Мидибер К.Ю., Печникова В.В., Акопян Э.П., Шахпазян Н.К., Гущин М.Ю. Сидячая зубчатая аденома червеобразного отростка: обзор литературы и клинические наблюдения // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2019. № 10 (170). С. 105–109.
14. Михалева Л.М., Вандышева Р.А., Шахпазян Н.К., Федоров Е.Д., Бирюков А.Е., Мидибер К.Ю., Печникова В.В. Сравнительная оценка экспрессии Мис 2, Мис 5АС и Мис 6 в зубчатых новообразованиях толстой кишки // Архив патологии. 2019. № 2 (81). С. 10–17.
15. Михалева Л.М., Комлева Р.А., Бирюков А.Е., Шахпазян Н.К. Зубчатые

аденомы толстой кишки: клинико-морфологическая и молекулярно-генетическая характеристика // Архив патологии. 2017. № 1 (79). С. 19–27.

16. Нечипай А.М., Зобнина М.В., Черкасова Л.М., Перфильев И.Б., Кривоусков В.А. Морфологические и эндоскопические критерии диагностики зубчатых аденом толстой кишки // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2016. № 1 (26). С. 107–115.

17. Олейникова Н.А., Мальков П.Г., Данилова Н.В. Новое в классификации доброкачественных эпителиальных опухолей толстой кишки (ВОЗ, 2019, 5-е издание) // Архив патологии. 2020. № 2 (82). С. 35–42.

18. Олейникова Н.А., Харлова О.А., Мальков П.Г., Данилова Н.В. Коэкспрессия CD44 и Ki-67 в новообразованиях толстой кишки // Архив патологии. 2018. № 1 (80). С. 27–36.

19. Осинцева И.Л., Мозговой С.И., Панюшкин Л.В., Махров А.С. Сравнительная оценка муцинпродуцирующей и пролиферативной активности в полиповидных образованиях и «Переходной слизистой» при гиперпластическом полипе, тубулярной аденоме и аденокарциноме толстой кишки // Омский научный вестник, 2010. № 1 (94). С. 110–114.

20. Помогайло Е.Г. Апоптоз к канцерогенез толстой кишки. // Омский научный вестник. 2000. №11. С. 129–134.

21. Смагулова К.К., Кайдарова Д.Р., Чичуа Н.А., Ишкинин Е.И. Изучение частоты и спектра мутации гена KRAS у больных колоректальным раком (КРР) в зависимости от распространенности процесса // Современные проблемы науки и образования. 2019. (3). С. 150–158.

22. Федянин М.Ю., Трякин А.А., Тюляндин С.А. Локализация первичной опухоли толстой кишки: есть ли принципиальные отличия? // Тазовая хирургия и онкология. 2017. № 3 (7). С. 35–48.

23. Харлова О.А., Данилова Н.В., Мальков П.Г., и др. Клинико-

морфологические особенности зубчатых образований толстой кишки // Архив патологии. 2015. № 4 (77). С. 24–32.

24. Харлова О.А., Данилова Н.В., Мальков П.Г., Агейкина Н.В., Князев М.В. Зубчатые образования (serrated lesions) толстой кишки // Архив патологии. 2015. № 1 (77). С. 60–68.

25. Харлова О.А., Олейникова Н.А., Мальков П.Г., Данилова Н.В., Попов П.В. Сравнительный анализ клинических и морфологических характеристик зубчатых аденом/полипов на широком основании и гиперпластических полипов толстой кишки // Уральский медицинский журнал. 2017. № 4 (178). С. 25–34.

26. Харлова О.А., Олейникова Н.А., Мальков П.Г., Данилова Н.В. Новые подходы к классификации зубчатых образований толстой кишки // Современные проблемы науки и образования. 2018. №2. С. 24.

27. Adhya A.K., Misra P. Sessile Serrated Adenoma of Appendix Presenting as Acute Appendicitis // Indian Journal of Surgery. 2018. № 6 (80). С. 629–630.

28. Alburquerque-González B, López-Calderón FF, López-Abellán MD, Esteban-Gil Á, García-Solano J, Conesa-Zamora P. Biology and Therapeutic Targets of Colorectal Serrated Adenocarcinoma; Clues for a Histologically Based Treatment against an Aggressive Tumor // International Journal of Molecular Sciences. 2020. № 6 (21). С. 1991.

29. Anderson J.C., Butterly L.F., Robinson C.M., Weiss J.E., Amos C., Srivastava A. Risk of Metachronous High-Risk Adenomas and Large Serrated Polyps in Individuals With Serrated Polyps on Index Colonoscopy: Data From the New Hampshire Colonoscopy Registry // Gastroenterology. 2018. № 1 (154). С. 117-127.e2.

30. Anderson J.C., Srivastava A. Colorectal Cancer Screening for the Serrated Pathway // Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America. 2020. Т. 30. № 3.

457–478 с.

31. Arai T., Kasahara I., Sawabe M., Kanazawa N., Kuroiwa K., Honma N., Aida J., Takubo K. Microsatellite-unstable mucinous colorectal carcinoma occurring in the elderly: Comparison with medullary type poorly differentiated adenocarcinoma // *Pathology International*. 2007. № 4 (57). C. 205–212.
32. Ashktorab H., Sherif Z., Tarjoman T., Azam S., Lee E., Shokrani B., Okereke I., Soleimani A., Carethers J.M., Laiyemo A.O., Aduli F., Nouraie M., Habtezion A., Brim H. Elevated Risk for Sessile Serrated Polyps in African Americans with Endometrial Polyps // *Digestive Diseases and Sciences*. 2020. № 9 (65). C. 2686–2690.
33. Augenlicht L., Velcich A., Mariadason J., Bordonaro M., Heerdt B. Colonic cell proliferation, differentiation, and apoptosis // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2000. №470. C. 15–22.
34. Baglietto L., Lindor N.M., Dowty J.G., и др. Risks of lynch syndrome cancers for msh6 mutation carriers // *Journal of the National Cancer Institute*. 2010. № 3 (102). C. 193–201.
35. Bartley A.N., Thompson P.A., Buckmeier J.A., Kepler C.Y., Hsu C.H., Snyder M.S., Lance P., Bhattacharyya A., Hamilton S.R. Expression of gastric pyloric mucin, MUC6, in colorectal serrated polyps // *Modern Pathology*. 2010. № 2 (23). C. 169–176.
36. Bartman A.E., Sanderson S.J., Ewing S.L., Niehans G.A., Wiehr C.L., Evans M.K., Ho S.B. Aberrant expression of MUC5AC and MUC6 gastric mucin genes in colorectal polyps // *International Journal of Cancer*. 1999. № 2 (80). C. 210–218.
37. Benedix F., Schmidt U., Mroczkowski P., Gastinger I., Lippert H., Kube R. Colon carcinoma - Classification into right and left sided cancer or according to colonic subsite? - Analysis of 29 568 patients // *European Journal of Surgical Oncology*. 2011. № 2 (37). C. 134–139.

38. Bettington M., Liu C., Gill A., Walker N., Leggett B., Whitehall V., Rosty C. BRAF V600E immunohistochemistry demonstrates that some sessile serrated lesions with adenomatous dysplasia may represent collision lesions // *Histopathology*. 2019. № 1 (75). C. 81–87.
39. Bettington M., Rosty C., Whitehall V., Leggett B., McKeone D., Pearson S.A., Walker N.A. A morphological and molecular study of proposed early forms of traditional serrated adenoma // *Histopathology*. 2018. № 6 (73). C. 1023–1029.
40. Bettington M., Walker N., Clouston A., Brown I., Leggett B., Whitehall V. The serrated pathway to colorectal carcinoma: Current concepts and challenges // *Histopathology*. 2013. T. 62. № 3. 367–386 c.
41. Bettington M., Walker N., Rosty C., Brown I., Clouston A., Wockner L., Whitehall V., Leggett B. Critical appraisal of the diagnosis of the sessile serrated adenoma // *American Journal of Surgical Pathology*. 2014. № 2 (38). C. 158–166.
42. Bettington M., Walker N., Rosty C., Brown I., Clouston A., McKeone D., Pearson S.A., Leggett B., Whitehall V. Clinicopathological and molecular features of sessile serrated adenomas with dysplasia or carcinoma // *Gut*. 2017. № 1 (66). C. 97–106.
43. Bettington M.L., Chetty R. Traditional serrated adenoma: An update // *Human Pathology*. 2015. № 7 (46). C. 933–938.
44. Bettington M.L., Walker N.I., Rosty C., Brown I.S., Clouston A.D., McKeone D.M., Pearson S.A., Klein K., Leggett B.A., Whitehall V.L. A clinicopathological and molecular analysis of 200 traditional serrated adenomas // *Modern Pathology*. 2015. № 3 (28). C. 414–427.
45. Biemer-Hüttmann A.E., Walsh M.D., McGuckin M.A., Simms L.A., Young J., Leggett B.A., Jass J.R. Mucin core protein expression in colorectal cancers with high levels of microsatellite instability indicates a novel pathway of morphogenesis // *Clinical Cancer Research*. 2000. № 5 (6). C. 1909–1916.

46. Biller L.H., Syngal S., Yurgelun M.B. Recent advances in Lynch syndrome // *Familial Cancer*. 2019. T. 18. № 2. 211–219 c.
47. Biswas S., Gogna S., Uselman J. Sessile Serrated Adenoma of the Appendix and Perforated Cecal Lymphoma in a Nonagenarian on Novel Anticoagulant Undergoing Emergent Surgery: The Challenges, Decision Making and Management of a Rare Case // *Journal of Medical Cases*. 2018. № 9 (9). C. 313–319.
48. Booth A.L., Taggart M.W., Ono Y., Gonzalez R.S. From Mixed Hyperplastic/Adenomatous Polyp to Sessile Serrated Lesion: A Long and Winding Road for Long and Winding Crypts // *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2020.
49. Borowsky J., Dumenil T., Bettington M., Pearson S.A., Bond C., Fennell L., Liu C., McKeone D., Rosty C., Brown I., Walker N., Leggett B., Whitehall V. The role of APC in WNT pathway activation in serrated neoplasia // *Modern Pathology*. 2018. № 3 (31). C. 495–504.
50. Bosman F.T., Carneiro F., Hruban R.H., и др. WHO classification of tumours of the digestive system. Pathology and genetics tumours of the digestive system // 4th ed. Lyon: IARC Press.
51. Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2018. № 6 (68). C. 394–424.
52. Bu X.D., Li N., Tian X.Q., Li L., Wang J.S., Yu X.J., Huang P.L. Altered expression of MUC2 and MUC5AC in progression of colorectal carcinoma // *World Journal of Gastroenterology*. 2010. № 32 (16). C. 4089–4094.
53. Buchner A. Chromoendoscopy for detection of proximal serrated lesions in routine screening colonoscopy // *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*. 2019. № 5 (4). 329–331 c.

54. Burgess N.G., Pellise M., Nanda K.S., Hourigan L.F., Zanati S.A., Brown G.J., Singh R., Williams S.J., Raftopoulos S.C., Ormonde D., Moss A., Byth K., P'Ng H., McLeod D., Bourke M.J. Clinical and endoscopic predictors of cytological dysplasia or cancer in a prospective multicentre study of large sessile serrated adenomas/polyps // *Gut*. 2016. № 3 (65). C. 437–446.
55. Byrd J.C., Bresalier R.S. Mucins and mucin binding proteins in colorectal cancer // *Cancer and Metastasis Reviews*. 2004. T. 23. № 1–2. 77–99 с.
56. Carballal S., Rodríguez-Alcalde D., Moreira L., и др. Colorectal cancer risk factors in patients with serrated polyposis syndrome: A large multicentre study // *Gut*. 2016. № 11 (65). C. 1829–1837.
57. Carot L., Castells A., Hernández C., Alvarez-Urturi C., Balaguer F., Lanás A., Cubiella J., Tasende J.D., Jover R., Hernandez V., Carballo F., Bujanda L., Quintero E., Andreu M., Bessa X. Detection of serrated lesions in proximal colon by simulated sigmoidoscopy vs faecal immunochemical testing in a multicentre, pragmatic, randomised controlled trial // *United European Gastroenterology Journal*. 2018. № 10 (6). C. 1527–1537.
58. Carr N.J., Mahajan H., Tan K.L., Hawkins N.J., Ward R.L. Serrated and non-serrated polyps of the colorectum: Their prevalence in an unselected case series and correlation of BRAF mutation analysis with the diagnosis of sessile serrated adenoma // *Journal of Clinical Pathology*. 2009. № 6 (62). C. 516–518.
59. Cassese G., Amendola A., Maione F., Giglio M.C., Pagano G., Milone M., Aprea G., Luglio G., De Palma G.D. Serrated lesions of the colon-rectum: A focus on new diagnostic tools and current management // *Gastroenterology Research and Practice*. 2019. 2019: 9179718.
60. Cenaj O., Gibson J., Odze R.D. Clinicopathologic and outcome study of sessile serrated adenomas/polyps with serrated versus intestinal dysplasia // *Modern Pathology*. 2018. № 4 (31). C. 633–642.

61. Chavali L.B., Hu K., Sheth A., Gao N., Xiong W., Zhang L. Colorectal sessile serrated lesion with large size or synchronous neoplasm: A prospective study // *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2020. № 2 (32). C. 199–204.
62. Chaves D.M., Brito H.P., Chaves L.T., Rodrigues R.A., Sugai B.M. Underwater endoscopic mucosal resection of serrated adenomas // *Clinics (Sao Paulo)*. 2018. e339 (73).
63. Chen Z., Hu J., Zheng Z., Wang C., Lin D., Huang Y., Lan P., He X. Location of colorectal adenomas and serrated polyps in patients under age 50 // *International Journal of Colorectal Disease*. 2019. № 12 (34). C. 2201–2204.
64. Chino A., Hiroshi K., Manabu T., Hiroyuki H., Daisuke I., Shoichi S., Masahiro I., Junko F., Satoshi N. Macroscopic and microscopic morphology and molecular profiling to distinguish heterogeneous traditional serrated adenomas of the colorectum // *Digestive Endoscopy*. 2020. № 6 (32). C. 921–931.
65. Cho H., Hashimoto T., Yoshida H., Taniguchi H., Ogawa R., Mori T., Hiraoka N., Saito Y., Sekine S. Reappraisal of the genetic heterogeneity of sessile serrated adenoma/polyp // *Histopathology*. 2018. № 4 (73). C. 672–680.
66. Davenport A., Hale R.J., Hunt C.R., Bigley G., McMahon RFT. Expression of Ki-67 and cytokeratin 20 in hyperplastic polyps of the colorectum // *Journal of Clinical Pathology*. 2003. № 3 (56). C. 200–204.
67. Dekker E., Bleijenberg A., Balaguer F., Dutch-Spanish-British Serrated Polyposis Syndrome collaboration. Update on the World Health Organization Criteria for Diagnosis of Serrated Polyposis Syndrome // *Gastroenterology*. 2020. № 6 (158). C.1520–1523.
68. Dhillon A.S., Ibraheim H., Green S., Suzuki N., Thomas-Gibson S., Wilson A. Curriculum review: Serrated lesions of the colorectum // *Frontline Gastroenterology*. 2020. № 3 (11). 243–248 c.
69. East J.E., Atkin W.S., Bateman A.C., Clark S.K., Dolwani S., Ket S.N., Leedham

S.J., Phull P.S., Rutter M.D., Shepherd N.A., Tomlinson I., Rees C.J. British Society of Gastroenterology position statement on serrated polyps in the colon and rectum // Gut. 2017. № 7 (66). 1181–1196 c.

70. Eizuka M., Kawasaki K., Toya Y., Akasaka R., Otsuka K., Sasaki A., Matsumoto T., Sugai T. Colorectal Adenocarcinoma with an Alternative Serrated Pathway // Case Reports in Gastroenterology. 2018. № 1 (12). C. 116–124.

71. Erlenbach-Wünsch K., Bihl M., Hartmann A., Groisman G.M., Vieth M., Agaimy A. Serrated epithelial colorectal polyps (hyperplastic polyps, sessile serrated adenomas) with perineurial stroma: Clinicopathological and molecular analysis of a new series // Annals of Diagnostic Pathology. 2018. №35. C. 48–52.

72. Fan C., Younis A., Bookhout C.E., Crockett S.D. Management of Serrated Polyps of the Colon // Current Treatment Options in Gastroenterology. 2018. № 1 (16). C. 182–202.

73. Fernando W.C., Miranda M.S., Worthley D.L., Togashi K., Watters D.J., Leggett B.A., Spring K.J. The CIMP phenotype in BRAF mutant serrated polyps from a prospective colonoscopy patient cohort // Gastroenterology Research and Practice. 2014. 2014:374926.

74. Figueroa-Rivera I.M., Santiago-Rivera L., Magno P. Sessile Serrated Adenoma of the Appendix in an Asymptomatic Patient // Clinical Gastroenterology and Hepatology. 2018. № 4 (16). C. A27.

75. Gao Q., Tsoi K.K., Hirai H.W., Wong M.C., Chan F.K., Wu J.C., Lau J.Y., Sung J.J., Ng S.C. Serrated polyps and the risk of synchronous colorectal advanced neoplasia: A systematic review and meta-analysis // American Journal of Gastroenterology. 2015. № 4 (110). 501–509 c.

76. Gibson J.A., Hahn H.P., Shahsafaei A., Odze R.D. MUC expression in hyperplastic and serrated colonic polyps: Lack of specificity of MUC6 // American Journal of Surgical Pathology. 2011. № 5 (35). C. 742–749.

77. Gill P., Wang L.M., Bailey A., East J.E., Leedham S., Chetty R. Reporting trends of right-sided hyperplastic and sessile serrated polyps in a large teaching hospital over a 4-year period (2009-2012) // *Journal of Clinical Pathology*. 2013. № 8 (66). C. 655–658.
78. Goldman, H. Nature and significance of hyperplastic polyps of the human colon // *Arch Pathol*. 1970. (89). C. 349–354.
79. Goldstein N.S. Small colonic microsatellite unstable adenocarcinomas and high-grade epithelial dysplasias in sessile serrated adenoma polypectomy specimens: a study of eight cases // *American journal of clinical pathology*. 2006. № 1 (125). C. 132–145.
80. Gonzalo D.H., Lai K.K., Shadrach B., Goldblum J.R., Bennett A.E., Downs-Kelly E., Liu X., Henricks W., Patil D.T., Carver P., Na J., Gopalan B., Rybicki L., Pai R.K. Gene expression profiling of serrated polyps identifies annexin A10 as a marker of a sessile serrated adenoma/polyp // *Journal of Pathology*. 2013. № 4 (230). C. 420–429.
81. Gui H., Husson M.A., Mannan R. Correlations of morphology and molecular alterations in traditional serrated adenoma // *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*. 2020. № 4 (11). C. 78–83.
82. Hamilton S.R. A.L.A. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. / A.L.A. (Eds. . Hamilton S.R.). 2000. 314 c.
83. Hartman D.J., Gonzalo D.H., Lai K.K., Downs-Kelly E., Goldblum J.R., Liu X., Patil D.T., Bennett A.E., Plesec T.P., Kuan S.F., Nikiforova M.N., Shadrach B., Pai R.K. Serrated lesions of the appendix frequently harbor KRAS mutations and not BRAF mutations indicating a distinctly different serrated neoplastic pathway in the appendix // *Human Pathology*. 2014. № 2 (45). C. 227–235.
84. Hashimoto T., Ogawa R., Yoshida H., Taniguchi H., Kojima M., Saito Y., Sekine

S. EIF3E–RSPO2 and PIEZO1–RSPO2 fusions in colorectal traditional serrated adenoma // *Histopathology*. 2019. № 2 (75). C. 266–273.

85. Hashimoto T., Tanaka Y., Ogawa R., Mori T., Yoshida H., Taniguchi H., Hiraoka N., Kojima M., Oono Y., Saito Y., Sekine S. Superficially serrated adenoma: a proposal for a novel subtype of colorectal serrated lesion // *Modern Pathology*. 2018. № 10 (31). C. 1588–1598.

86. Hassan C., Antonelli G., Dumonceau J.M., Regula J., Bretthauer M., Chaussade S., Dekker E., Ferlitsch M., Gimeno-Garcia A., Jover R., Kalager M., Pellisé M., Pox C., Ricciardiello L., Rutter M., Helsingen L.M., Bleijenberg A., Senore C., van Hooft J.E., Dinis-Ribeiro M., Quintero E. Post-polypectomy colonoscopy surveillance: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline // *Endoscopy*. 2013. № 10 (45). C. 842–851.

87. Hawkins N.J., Bariol C., Ward R.L. The serrated neoplasia pathway // *Pathology*. 2002. № 6 (34). C. 548–555.

88. Hayashi T., Yatani R., Apostol J., Stemmermann G.N. Pathogenesis of Hyperplastic Polyps of the Colon: A Hypothesis Based on Ultrastructure and in vitro Cell Kinetics // *Gastroenterology*. 1974. № 3 (66). C. 347–356.

89. He X., Wu K., Ogino S., Giovannucci E.L., Chan A.T., Song M. Association Between Risk Factors for Colorectal Cancer and Risk of Serrated Polyps and Conventional Adenomas // *Gastroenterology*. 2018. № 2 (155). C. 355-373.e18.

90. Herwaarden Y.J., Koggel L.M., Simmer F., Vink-Börger E.M., Dura P., Meijer G.A., Nagengast F.M., Hoogerbrugge N., Bisseling T.M., Nagtegaal I.D. RNF43 mutation analysis in serrated polyposis, sporadic serrated polyps and Lynch syndrome polyps // *Histopathology*. 2021. № 5 (78). C. 749–758.

91. Hirai H.W., Ching J.Y.L., Wu J.C.Y., Sung J.J.Y., Chan F.K.L., Ng S.C. Risk factors for advanced colorectal neoplasms in the proximal colon in 6218 subjects undergoing complete colonoscopy // *Journal of Gastroenterology and Hepatology*

(Australia). 2019. № 1 (34). C. 113–119.

92. Hiromoto T., Murakami T., Akazawa Y., Sasahara N., Saito T., Sakamoto N., Mitomi H., Nagahara A., Yao T. Immunohistochemical and genetic characteristics of a colorectal mucin-rich variant of traditional serrated adenoma // *Histopathology*. 2018. № 3 (73). C. 444–453.

93. Hirono H., Ajioka Y., Watanabe H., Baba Y., Tozawa E., Nishikura K., Mukai G., Honma T., Aoyagi Y. Bidirectional gastric differentiation in cellular mucin phenotype (foveolar and pyloric) in serrated adenoma and hyperplastic polyp of the colorectum // *Pathology International*. 2004. № 6 (54). C. 401–407.

94. Hisamatsu K., Noguchi K., Tomita H., Muto A., Yamada N., Kobayashi K., Hirata A., Kanayama T., Niwa A., Ishida K., Nakashima T., Hatano Y., Suzui N., Miyazaki T., Hara A. Distinctive crypt shape in a sessile serrated adenoma/polyp: Distribution of Ki67-, p16INK4a-, WNT5A-positive cells and intraepithelial lymphocytes // *Oncology Reports*. 2017. № 2 (38). C. 775–784.

95. Hua X.L., Jun L.Q., Feng S.X., Jing D., Wen Z.Y. A retrospective study on pathological and clinical characteristics of 52 cases with the colorectal serrated polyp // *Pakistan Journal of Medical Sciences*. 2019. № 1 (35). C. 257–261.

96. Huang C.C., Frankel W.L., Doukides T., Zhou X.P., Zhao W., Yearsley M.M. Prolapse-related changes are a confounding factor in misdiagnosis of sessile serrated adenomas in the rectum // *Human Pathology*. 2013. № 4 (44). C. 480–486.

97. IJspeert J.E., Rana S.A., Atkinson N.S., van Herwaarden Y.J., Bastiaansen B.A., van Leerdam M.E., Sanduleanu S., Bisseling T.M., Spaander M.C., Clark S.K., Meijer G.A., van Lelyveld N., Koornstra J.J., Nagtegaal I.D., East J.E., Latchford A., Dekker E. Clinical risk factors of colorectal cancer in patients with serrated polyposis syndrome: A multicentre cohort analysis // *Gut*. 2017. № 2 (66). C. 278–284.

98. Jaravaza D.R., Rigby J.M. Hyperplastic polyp or sessile serrated lesion? The

contribution of serial sections to reclassification // *Diagnostic Pathology*. 2020. № 1 (15).

99. Jass J.R., Smith M. Sialic acid and epithelial differentiation in colorectal polyps and cancer — a morphological, mucin and lectin histochemical study // *Pathology*. 1992. № 4 (24). C. 233–242.

100. Jass J.R., Walsh M.D. Altered mucin expression in the gastrointestinal tract: A review // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2001. № 3 (5). C. 327–351.

101. Kamarádová K., Vošmiková H., Rozkošová K., Ryška A., Tachecí I., Laco J. Morphological, immunohistochemical and molecular features of inflammatory bowel disease associated colorectal carcinoma and associated mucosal lesions – Single institution experience // *Pathology Research and Practice*. 2019. № 4 (215). C. 730–737.

102. Kamat N., Khidhir M.A., Alashari M.M., Rannug U. Microsatellite instability and loss of heterozygosity detected in middle-aged patients with sporadic colon cancer: A retrospective study // *Oncology Letters*. 2013. № 5 (6). C. 1413–1420.

103. Kamboj A.K., Chen W., Krishna S.G., Stanich P.P. A Serrated Adenoma of the Appendix Presenting as a Submucosal Mass // *American Journal of Gastroenterology*. 2016. T. 111. № 12. 1677 c.

104. Kanth P., Boylan K.E., Bronner M.P., Boucher K.M., Hazel M.W., Yao R., Pop S., Bernard P.S., Delker D.A. Molecular Biomarkers of Sessile Serrated Adenoma/Polyps // *Clinical and translational gastroenterology*. 2019. № 12 (10). C. e00104.

105. Kawasaki K., Fujii M., Sugimoto S., Ishikawa K., Matano M., Ohta Y., Toshimitsu K., Takahashi S., Hosoe N., Sekine S., Kanai T., Sato T. Chromosome Engineering of Human Colon-Derived Organoids to Develop a Model of Traditional Serrated Adenoma // *Gastroenterology*. 2020. № 3 (158). C. 638-651.e8.

106. Khaidakov M., Lai K.K., Roudachevski D., Sargsyan J., Goynes H.E., Pai R.K.,

- Lamps L.W., Hagedorn C.H. Gastric proteins MUC5AC and TFF1 as potential diagnostic markers of colonic sessile serrated adenomas/polyps // *American Journal of Clinical Pathology*. 2016. № 5 (146). C. 530–537.
107. Kheirelseid E.A.H., Miller N., Chang K.H., Curran C., Hennessey E., Sheehan M., Kerin M.J. Mismatch repair protein expression in colorectal cancer // *Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2013. № 4 (4). C. 397–408.
108. Kim J.H., Kang G.H. Evolving pathologic concepts of serrated lesions of the colorectum // *Journal of Pathology and Translational Medicine*. 2020. № 4 (54). C. 276–289.
109. Kim J.H., Kim K.J., Rhee Y.Y., Bae J.M., Cho N.Y., Lee H.S., Kang G.H. Gastric-type expression signature in serrated pathway-associated colorectal tumors // *Human Pathology*. 2015. № 5 (46). C. 643–656.
110. Kim J.H., Rhee Y.Y., Kim K.J., Cho N.Y., Lee H.S., Kang G.H. Annexin A10 expression correlates with serrated pathway features in colorectal carcinoma with microsatellite instability // *APMIS*. 2014. № 12 (122). C. 1187–1195.
111. Kim K.M., Lee E.J., Ha S., Kang S.Y., Jang K.T., Park C.K., Kim J.Y., Kim Y.H., Chang D.K., Odze R.D. Molecular features of colorectal hyperplastic polyps and sessile serrated adenoma/polyps from Korea // *American Journal of Surgical Pathology*. 2011. № 9 (35). C. 1274–1286.
112. Kim K.M., Lee E.J., Kim Y.H., Chang D.K., Odze R.D. KRAS mutations in traditional serrated adenomas from Korea herald an aggressive phenotype // *American Journal of Surgical Pathology*. 2010. № 5 (34). C. 667–675.
113. Kim S.Y., Kim T. I. Serrated neoplasia pathway as an alternative route of colorectal cancer carcinogenesis // *Intestinal Research*. 2018. № 3 (16). C. 358–365.
114. Kimoto Y., Suzuki Y., Sakai E., Ohata K. A simple and cost-effective method: piecemeal cold snare polypectomy without injection for a large sessile serrated lesion ≥ 20 mm // *VideoGIE*. 2020. № 7 (5). C. 278–280.

115. Kinzler K.W., Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer // *Cell*. 1996. № 2 (87). C. 159–170.
116. Konishi K., Yamochi T., Makino R., Kaneko K., Yamamoto T., Nozawa H., Katagiri A., Ito H., Nakayama K., Ota H., Mitamura K., Imawari M. Molecular Differences between Sporadic Serrated and Conventional Colorectal Adenomas // *Clinical Cancer Research*. 2004. № 9 (10). C. 3082–3090.
117. Kudo S.E., Tamura S., Nakajima T., Yamano H., Kusaka H., Watanabe H. Diagnosis of colorectal tumorous lesions by magnifying endoscopy // *Gastrointestinal Endoscopy*. 1996. № 1 (44). C. 8–14.
118. Landau M.S., Kuan S.F., Chiosea S., Pai R.K. BRAF-mutated microsatellite stable colorectal carcinoma: An aggressive adenocarcinoma with reduced CDX2 and increased cytokeratin 7 immunohistochemical expression // *Human Pathology*. 2014. № 8 (45). C. 1704–1712.
119. Lash R.H., Genta R.M., Schuler C.M. Sessile serrated adenomas: Prevalence of dysplasia and carcinoma in 2139 patients // *Journal of Clinical Pathology*. 2010. № 8 (63). C. 681–686.
120. Lee J.A., Park H.E., Yoo S.Y., Jeong S., Cho N.Y., Kang G.H., Kim J.H. CpG island methylation in sessile serrated adenoma/polyp of the colorectum: Implications for Differential Diagnosis of Molecularly High-Risk Lesions among Non-dysplastic Sessile Serrated Adenomas/Polyps // *Journal of Pathology and Translational Medicine*. 2019. № 4 (53). C. 225–235.
121. Lee M.S., Menter D.G., Kopetz S. Right versus left colon cancer biology: Integrating the consensus molecular subtypes // *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2017. № 3 (15). C. 411–419.
122. Leggett B., Whitehall V. Role of the Serrated Pathway in Colorectal Cancer Pathogenesis // *Gastroenterology*. 2010. № 6 (138). C. 2088–2100.
123. Levine D.S., Haggitt R.C. Normal Histology of the Colon // *The American*

Journal of Surgical Pathology. 1989. № 11 (13). C. 966–984.

124. Liu C., Bettington M.L., Walker N.I., Jeong S., Cho N.Y., Kang G.H., Kim J.H. CpG Island Methylation in Sessile Serrated Adenomas Increases With Age, Indicating Lower Risk of Malignancy in Young Patients // Gastroenterology. 2018. № 5 (155). C. 1362-1365.e2.

125. Liu C., Fennell L.J., Bettington M.L., Walker N., Dwine J., Leggett B., Whitehall V. DNA methylation changes that precede onset of dysplasia in advanced sessile serrated adenomas // Clinical Epigenetics. 2019. № 1 (11).

126. Liu C., Walker N.I., Leggett B.A., Whitehall V.L., Bettington M.L., Rosty C. Sessile serrated adenomas with dysplasia: Morphological patterns and correlations with MLH1 immunohistochemistry // Modern Pathology. 2017. № 12 (30). C. 1728–1738.

127. Liu T.Y., Jin D.C., Khan S., Chen X., Shi T., Dong W.X., Qi Y.R., Guo Z.X., Wang B.M., Cao H.L. Clinicopathological features of advanced colorectal serrated lesions: A single-center study in China // Journal of Digestive Diseases. 2018. № 4 (19). C. 235–241.

128. Lochhead P., Kuchiba A., Imamura Y., Liao X., Yamauchi M., Nishihara R., Qian Z.R., Morikawa T., Shen J., Meyerhardt J.A., Fuchs C.S., Ogino S. Microsatellite instability and braf mutation testing in colorectal cancer prognostication // Journal of the National Cancer Institute. 2013. № 15 (105). C. 1151–1156.

129. Longacre T.A., Fenoglio-Preiser C.M. Mixed Hyperplastic Adenomatous Polyps/Serrated Adenomas // The American Journal of Surgical Pathology. 1990. № 6 (14). C. 524–537.

130. Losi L., Scarselli A., Benatti P., Ponz de Leon M., Roncucci L., Pedroni M., Borghi F., Lamberti I., Rossi G., Marino M., Ponti G., Zangardi G., Menigatti M., Di Gregorio C. Relationship between MUC5AC and altered expression of MLH1

protein in mucinous and non-mucinous colorectal carcinomas // Pathology Research and Practice. 2004. № 5 (200). C. 371–377.

131. Luchini C., Bibeau F., Ligtenberg M.J.L., Singh N., Nottegar A., Bosse T., Miller R., Riaz N., Douillard J.Y., Andre F., Scarpa A. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: A systematic review-based approach // Annals of Oncology. 2019. № 8 (30). C. 1232–1243.

132. Macaron C., Vu H.T., Lopez R., Pai R.K., Burke C.A. Risk of metachronous polyps in individuals with serrated polyps // Diseases of the Colon and Rectum. 2015. № 8 (58). C. 762–768.

133. Mäkinen M.J., George S.M.C., Jernvall P., Mäkelä J., Vihko P., Karttunen T.J. Colorectal carcinoma associated with serrated adenoma - Prevalence, histological features, and prognosis // Journal of Pathology. 2001. № 3 (193). C. 286–294.

134. McCarthy A.J., O'reilly S.M., Shanley J., Geraghty R., Ryan E.J., Cullen G., Sheahan K. Colorectal Serrated Neoplasia: An Institutional 12-Year Review Highlights the Impact of a Screening Programme // Gastroenterology research and practice. 2019:1592306.

135. Mikhaleva L.M., Vandysheva R.A., Midiber K.Yu., Vasyukova O.A., Pechnikova V.V., Patsap O.I., Beylerli O., Somasundaram S.G., Kirkland C.E., Aliev G. Colorectal Serrated Lesions: a Current View on Clinical, Morphological, Molecular, and Genetic Diagnostic Criteria // Current Medicinal Chemistry. 2021. (e-pub). DOI:10.2174/0929867328666210715125428.

136. Missiaglia E., Jacobs B., D'Ario G., Di Narzo A.F., Soneson C., Budinska E., Popovici V., Vecchione L., Gerster S., Yan P., Roth A.D., Klingbiel D., Bosman F.T., Delorenzi M., Tejpar S. Distal and proximal colon cancers differ in terms of molecular, pathological, and clinical features // Annals of Oncology. 2014. № 10 (25). C. 1995–2001.

137. Miyakura Y., Tahara M., Lefor A.T., Yasuda Y., Sugano K. Haplotype defined by the MLH1-93G/A polymorphism is associated with MLH1 promoter hypermethylation in sporadic colorectal cancers // BMC Research Notes. 2014. № 7 (835).
138. Moretto R., Cremolini C., Rossini D., Pietrantonio F., Battaglin F., Mennitto A., Bergamo F., Loupakis F., Marmorino F., Berenato R., Marsico V.A., Caporale M., Antoniotti C., Masi G., Salvatore L., Borelli B., Fontanini G., Lonardi S., De Braud F., Falcone A. Location of Primary Tumor and Benefit From Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibodies in Patients With RAS and BRAF Wild-Type Metastatic Colorectal Cancer // The Oncologist. 2016. № 8 (21). C. 988–994.
139. Moriichi K., Tanabe H., Ono Y., Kobayashi Y., Murakami Y., Iwama T., Kunogi T., Sasaki T., Takahashi K., Ando K., Ueno N., Kashima S., Takei H., Mizukami Y., Fujiya M., Okumura T. Serrated adenomas with a BRAF mutation in a young patient with familial adenomatous polyposis // International Journal of Colorectal Disease. 2020. № 10 (35). C. 1967–1972.
140. Moussata D., Boschetti G., Chauvenet M., Stroeymeyt K., Nancey S., Berger F., Lecomte T., Flourié B. Endoscopic and histologic characteristics of serrated lesions // World Journal of Gastroenterology. 2015. № 10 (21). C. 2896–2904.
141. Murakami T., Sakamoto N., Fukushima H., Shibuya T., Yao T., Nagahara A. Usefulness of the Japan narrow-band imaging expert team classification system for the diagnosis of sessile serrated lesion with dysplasia/carcinoma // Surgical Endoscopy. 2020. № 8 (35). C. 4528-4538.
142. Murakami T., Sakamoto N., Nagahara A. Clinicopathological features, diagnosis, and treatment of sessile serrated adenoma/polyp with dysplasia/carcinoma // Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia). 2019. № 10 (34). 1685–1695 c.
143. N Kalimuthu S., Serra S., Hafezi-Bakhtiari S., Colling R., Wang L.M., Chetty

R. Mucin-rich variant of traditional serrated adenoma: a distinct morphological variant // *Histopathology*. 2017. № 2 (71). C. 208–216.

144. Nagata S., Mitsuyama K., Kawano H., Noda T., Maeyama Y., Mukasa M., Takedatsu H., Yoshioka S., Kuwaki K., Akiba J., Tsuruta O., Torimura T. Endoscopic analysis of colorectal serrated lesions with cancer // *Oncology Letters*. 2018. № 6 (15). C. 8655–8662.

145. Nagtegaal I.D., Odze R.D., Klimstra D., Paradis V., Rugge M., Schirmacher P., Washington K.M., Carneiro F., Cree I.A. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system // *Histopathology*. 2020. № 2 (76). C. 182–188.

146. Neary P.M., Schwartzberg D.M., Cengiz T.B., Kalady M.F., Church J.M. Aspects of the natural history of sessile serrated adenomas/polyps: Risk indicators for carcinogenesis in the colorectal mucosa? // *Dis Colon Rectum*. 2018. № 12 (61). C. 1380-1385

147. Ng S.C., Ching J.Y.L., Chan V.C.W., Wong M.C., Tang R., Wong S., Luk A.K., Lam T.Y., Gao Q., Chan A.W., Wu J.C., Chan F.K., Lau J.Y., Sung J.J. Association between serrated polyps and the risk of synchronous advanced colorectal neoplasia in average-risk individuals // *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2015. № 1 (41). C. 108–115.

148. Nishikawa G., Sekine S., Ogawa R., Matsubara A., Mori T., Taniguchi H., Kushima R., Hiraoka N., Tsuta K., Tsuda H., Kanai Y. Frequent GNAS mutations in low-grade appendiceal mucinous neoplasms // *British Journal of Cancer*. 2013. № 4 (108). C. 951–958.

149. Noguchi R., Yano H., Gohda Y., Suda R., Igari T., Ohta Y., Yamashita N., Yamaguchi K., Terakado Y., Ikenoue T., Furukawa Y. Molecular profiles of high-grade and low-grade pseudomyxoma peritonei // *Cancer Medicine*. 2015. № 12 (4). C. 1809–1816.

150. Nourbakhsh M., Minoo P. Annexin A10 and HES-1 Immunohistochemistry in Right-sided Traditional Serrated Adenomas Suggests an Origin from Sessile Serrated Adenoma // *Applied Immunohistochemistry and Molecular Morphology*. 2020. № 4 (28). C. 296–302.
151. Nummela P., Saarinen L., Thiel A., Järvinen P., Lehtonen R., Lepistö A., Järvinen H., Aaltonen L.A., Hautaniemi S., Ristimäki A. Genomic profile of pseudomyxoma peritonei analyzed using next-generation sequencing and immunohistochemistry // *International Journal of Cancer*. 2015. № 5 (136). C. E282–E289.
152. O'Brien M.J., Yang S., Mack C., Xu H., Huang C.S., Mulcahy E., Amorosino M., Farrar F.A. Comparison of microsatellite instability, CpG island methylation phenotype, BRAF and KRAS status in serrated polyps and traditional adenomas indicates separate pathways to distinct colorectal carcinoma end points // *American Journal of Surgical Pathology*. 2006. № 12 (30). C. 1491–1501.
153. O'Brien M. J., Zhao Q., Yang S. Colorectal serrated pathway cancers and precursors // *Histopathology*. 2015. T. 66. № 1. C. 49–65.
154. O'Connell B., Hafiz N., Crockett S. The Serrated Polyp Pathway: Is It Time to Alter Surveillance Guidelines? // *Current Gastroenterology Reports*. 2017. T. 19. № 10.
155. Ogino S., Kawasaki T., Kirkner G.J., Loda M., Fuchs C.S. CpG island methylator phenotype-low (CIMP-low) in colorectal cancer: Possible associations with male sex and KRAS mutations // *Journal of Molecular Diagnostics*. 2006. № 5 (8). C. 582–588.
156. Ogino S., Nosho K., Kirkner G.J., Kawasaki T., Meyerhardt J.A., Loda M., Giovannucci E.L., Fuchs C.S. CpG island methylator phenotype, microsatellite instability, BRAF mutation and clinical outcome in colon cancer // *Gut*. 2009. № 1 (58). C. 90–96.

157. Okamura T., Hashimoto T., Naka T., Yoshida T., Tanabe N., Ogawa R., Yamada M., Saito Y., Yatabe Y., Sekine S. Clinicopathologic and molecular characteristics of familial adenomatous polyposis-associated traditional serrated adenoma // *American Journal of Surgical Pathology*. 2020. № 9 (44). C. 1282–1289.
158. Oliveira P.S.P., Carvalho R.B., Magro D.O., Camargo M.G., Martinez C.A.R., Coy C.S.R. A retrospective analysis of colorectal serrated lesions from 2005 to 2014 in a single center: Importance of the establishment of diagnostic patterns // *Gastroenterology Research and Practice*. 2018. (2018).
159. Pai R.K., Bettington M., Srivastava A., Rosty C. An update on the morphology and molecular pathology of serrated colorectal polyps and associated carcinomas // *Modern Pathology*. 2019. № 10 (32). C. 1390–1415.
160. Palma F.D.E. De, D'argenio V., Pol J., Kroemer G., Maiuri M.C., Salvatore F. The molecular hallmarks of the serrated pathway in colorectal cancer // *Cancers*. 2019. № 7 (11).
161. Park S.J., Yoon H., Jung I.S., Shin C.M., Park Y.S., Kim N.Y., Lee D.H. Clinical outcomes of surveillance colonoscopy for patients with sessile serrated adenoma // *Intestinal Research*. 2018. № 1 (16). C. 134–141.
162. Parra-Pérez V.F., Watanabe Yamamoto J., Nago-Nago A., Astete-Benavides M., Rodríguez-Ulloa C., Valladares-Álvarez G., Núñez-Calixto N., Yoza-Yoshidaira M.A., Gargurevich-Sánchez T.M., Pinto-Sánchez J.F., Niebuhr-Kakiuchi J.C., Uehara-Miyagusuku G.A., Rodríguez-Grandez J.I., Komazona-Sugajara R., Limas-Cline P., Hernández-García H., Kishimoto-Tsukazan G. Correlation between proximal serrated polyp detection and clinically significant serrated polyps: inter-endoscopist variability // *Revista de Gastroenterología de Mexico*. 2020. S0375-0906(20)30096-3.
163. Patil D.T., Shadrach B.L., Rybicki L.A., Leach B.H., Pai R. Proximal colon cancers and the serrated pathway: A systematic analysis of precursor histology and BRAF mutation status // *Modern Pathology*. 2012. № 10 (25). C. 1423–1431.

164. Pietrantonio F., Perrone F., Mennitto A., Gleeson E.M., Milione M., Tamborini E., Busico A., Settanni G., Berenato R., Caporale M., Morano F., Bossi I., Pellegrinelli A., Di Bartolomeo M., de Braud F., Baratti D., Bowne W.B., Kusamura S., Deraco M. Toward the molecular dissection of peritoneal pseudomyxoma // *Annals of Oncology*. 2016. № 11 (27). C. 2097–2103.
165. Pino M. S., Chung D. C. The Chromosomal Instability Pathway in Colon Cancer // *Gastroenterology*. 2010. № 6 (138). C. 2059–2072.
166. Rex D.K., Ahnen D.J., Baron J.A., Batts K.P., Burke C.A., Burt R.W., Goldblum J.R., Guillem J.G., Kahi C.J., Kalady M.F., O'Brien M.J., Odze R.D., Ogino S., Parry S., Snover D.C., Torlakovic E.E., Wise P.E., Young J., Church J. Serrated lesions of the colorectum: Review and recommendations from an expert panel // *American Journal of Gastroenterology*. 2012. № 9 (107). C. 1315–1329.
167. Rosty C., Williamson E.J., Clendenning M., Walters R. J., Walsh M.D., Win A.K., Jenkins M.A., Hopper J.L., Winship I., Southey M.C., Giles G.G., English D.R., Buchanan D.D. Re: Microsatellite instability and BRAF mutation testing in colorectal cancer prognostication // *Journal of the National Cancer Institute*. 2014. № 8 (106).
168. Rubio C.A. Serrated neoplasias and de novo carcinomas in ulcerative colitis: A histological study in colectomy specimens // *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*. 2007. № 7 (22). C. 1024–1031.
169. Rubio C. A. Three pathways of colonic carcinogenesis in rats // *Anticancer Research*. 2017. № 1 (37). C. 15–20.
170. Ruby J.A., Pusceddu L., Plumb A.A., Park S.H., Kim D.H., Regge D., Gangi A., Stephenson J., Kim S.H., Pickhardt P.J. Traditional serrated adenomas on CT colonography: International multicenter experience with this rare colorectal neoplasm // *American Journal of Roentgenology*. 2020. № 2 (214). C. 355–361.
171. Ruby J.A., Pusceddu L., Plumb A.A., Park S.H., Kim D.H., Regge D., Gangi

- A., Stephenson J., Kim S.H., Pickhardt P.J. Traditional serrated adenomas on CT colonography: International multicenter experience with this rare colorectal neoplasm // *American Journal of Roentgenology*. 2020. № 2 (214). C. 355–361.
172. Sandmeier D., Benhattar J., Martin P., Bouzourene H. Serrated polyps of the large intestine: A molecular study comparing sessile serrated adenomas and hyperplastic polyps // *Histopathology*. 2009. № 2 (55). C. 206–213.
173. Sano W., Hirata D., Teramoto A., Iwatate M., Hattori S., Fujita M., Sano Y. Serrated polyps of the colon and rectum: Remove or not? // *World Journal of Gastroenterology*. 2020. T. 26. № 19. 2276–2285 c.
174. Sato K., Banshodani M., Nishihara M., Nambu J., Kawaguchi Y., Shimamoto F., Dohi K., Sugino K., Ohdan H. Sessile serrated adenoma/polyp leading to acute appendicitis with multiple pyogenic liver abscesses: A case report // *International Journal of Surgery Case Reports*. 2018. №42. C. 38–43.
175. Satorres C., García-Campos M., Bustamante-Balén M. Molecular Features of the Serrated Pathway to Colorectal Cancer: Current Knowledge and Future Directions // *Gut and Liver*. 2021. № 1 (15). C. 31–43.
176. Schreiner M. A., Weiss D. G., Lieberman D. A. Proximal and large hyperplastic and nondysplastic serrated polyps detected by colonoscopy are associated with neoplasia // *Gastroenterology*. 2010. № 5 (139). C. 1497–1502.
177. Sebolt-Leopold J. S., Herrera R. Targeting the mitogen-activated protein kinase cascade to treat cancer // *Nature Reviews Cancer*. 2004. № 12 (4). C. 937–947.
178. Sekine S. [и др.]. Frequent PTPRK-RSPO3 fusions and RNF43 mutations in colorectal traditional serrated adenoma // *Journal of Pathology*. 2016. № 2 (239). C. 133–138.
179. Sekine S., Yamashita S., Tanabe T., Hashimoto T., Yoshida H., Taniguchi H., Kojima M., Shinmura K., Saito Y., Hiraoka N., Ushijima T., Ochiai A. Frequent PTPRK-RSPO3 fusions and RNF43 mutations in colorectal traditional serrated

adenoma // *Journal of Pathology*. 2016. № 2 (239). C. 133–138.

180. Sethi A., Hanson J.A. A morphologic reappraisal of endoscopically but not histologically apparent polyps and the emergence of the overlooked goblet cell - Rich hyperplastic polyp W.B. Saunders, 2015. C.1147–1152.

181. Sheridan T.B., Fenton H., Lewin M.R., Burkart A.L., Iacobuzio-Donahue C.A., Frankel W.L., Montgomery E. Sessile serrated adenomas with low- and high-grade dysplasia and early carcinomas: An immunohistochemical study of serrated lesions «caught in the act» // *American Journal of Clinical Pathology*. 2006. № 4 (126). C. 564–571.

182. Shia J., Tang L.H., Vakiani E., Guillem J.G., Stadler Z.K., Soslow R.A., Katabi N., Weiser M.R., Paty P.B., Temple L.K., Nash G.M., Wong W.D., Offit K., Klimstra D.S. Immunohistochemistry as first-line screening for detecting colorectal cancer patients at risk for hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: A 2-antibody panel may be as predictive as a 4-antibody panel // *American Journal of Surgical Pathology*. 2009. № 11 (33). C. 1639–1645.

183. Singhi A.D., Davison J.M., Choudry H.A., Pingpank J.F., Ahrendt S.A., Holtzman M.P., Zureikat A.H., Zeh H.J., Ramalingam L., Mantha G., Nikiforova M., Bartlett D.L., Pai R.K. GNAS is frequently mutated in both low-grade and high-grade disseminated appendiceal mucinous neoplasms but does not affect survival // *Human Pathology*. 2014. № 8 (45). C. 1737–1743.

184. Snover D, Ahnen DJ, Burt RW с соавторами Serrated polyps of the colon and rectum and serrated (“hyperplastic”) polyposis. In: WHO classification of tumours. Pathology and genetics. Tumours of the digestive system / Bozman FT, Carneiro F, Hruban RH, с соавторами Editor. 2010. Lyon.

185. Spring K.J., Zhao Z.Z., Karamatic R., Walsh M.D., Whitehall V.L., Pike T., Simms L.A., Young J., James M., Montgomery G.W., Appleyard M., Hewett D., Togashi K., Jass J.R., Leggett B.A. High Prevalence of Sessile Serrated Adenomas With BRAF Mutations: A Prospective Study of Patients Undergoing Colonoscopy

// Gastroenterology. 2006. № 5 (131). C. 1400–1407.

186. Stefanius K., Ylitalo L., Tuomisto A., Kuivila R., Kantola T., Sirniö P., Karttunen T.J., Mäkinen M.J. Frequent mutations of KRAS in addition to BRAF in colorectal serrated adenocarcinoma // Histopathology. 2011. № 5 (58). C. 679–692.

187. Sugai T., Eizuka M., Fujita Y., Kawasaki K., Yamamoto E., Ishida K., Yamano H., Suzuki H., Matsumoto T. Molecular Profiling Based on KRAS/BRAF Mutation, Methylation, and Microsatellite Statuses in Serrated Lesions // Digestive Diseases and Sciences. 2018. № 10 (63). C. 2626–2638.

188. Szyłberg Ł., Janiczek M., Popiel A., Marszałek A. Serrated polyps and their alternative pathway to the colorectal cancer: A systematic review // Gastroenterology Research and Practice. 2015. (2015).

189. Takashima K., Oono Y., Kojima M., Ikematsu H., Akimoto T., Yano T. Clinicopathological features and endoscopic characteristics of inverted sessile serrated adenomas/polyps // Endoscopy International Open. 2019. № 03 (07). C. E330–E336.

190. Tao E.W., Wang Y.F., Zou T.H., Cui Y., Chen Y.X., Gao Q.Y. Relationship between serrated polyps and synchronous and metachronous advanced neoplasia: A retrospective study // Journal of Digestive Diseases. 2020. № 10 (21). C. 558–565.

191. Tatsumi N., Mukaisho K.I., Mitsufuji S., Tatsumi Y., Sugihara H., Okanoue T., Hattori T. Expression of cytokeratins 7 and 20 in serrated adenoma and related diseases // Digestive Diseases and Sciences. 2005. № 9 (50). C. 1741–1746.

192. Torlakovic E., Skovlund E., Snover D.C., Torlakovic G., Nesland J.M. Morphologic reappraisal of serrated colorectal polyps // American Journal of Surgical Pathology. 2003. № 1 (27). C. 65–81.

193. Torlakovic E.E., Gomez J.D., Driman D.K., Parfitt J.R., Wang C., Benerjee T., Snover D.C. Sessile serrated adenoma (SSA) vs. traditional serrated adenoma (TSA) // American Journal of Surgical Pathology. 2008. № 1 (32). C. 21–29.

194. Torlakovic E., Snover D. C. Serrated adenomatous polyposis in humans // *Gastroenterology*. 1996. № 3 (110). C. 748–755.
195. Tsai J.H., Liao J.Y., Lin Y.L., Lin L.I., Cheng Y.C., Cheng M.L., Jeng Y.M. Traditional serrated adenoma has two pathways of neoplastic progression that are distinct from the sessile serrated pathway of colorectal carcinogenesis // *Modern Pathology*. 2014. № 10 (27). C. 1375–1385.
196. Tsai J.H., Lin Y.L., Cheng Y.C., Chen C.C., Lin L.I., Tseng L.H., Cheng M.L., Liao J.Y., Jeng Y.M. Aberrant expression of annexin A10 is closely related to gastric phenotype in serrated pathway to colorectal carcinoma // *Modern Pathology*. 2015. № 2 (28). C. 268–278.
197. Tsai J.H., Liao J.Y., Yuan C.T., Lin Y.L., Tseng L.H., Cheng M.L., Jeng Y.M. RNF43 is an early and specific mutated gene in the serrated pathway, with increased frequency in traditional serrated adenoma and its associated malignancy // *American Journal of Surgical Pathology*. 2016. № 10 (40). C. 1352–1359.
198. Uhlén M., Fagerberg L., Hallström B.M., Lindskog C., Oksvold P., Mardinoglu A., Sivertsson Å., Kampf C., Sjöstedt E., Asplund A., Olsson I., Edlund K., Lundberg E., Navani S., Szigartyo C.A., Odeberg J., Djureinovic D., Takanen J.O., Hober S., Alm T., Edqvist P.H., Berling H., Tegel H., Mulder J., Rockberg J., Nilsson P., Schwenk J.M., Hamsten M., von Feilitzen K., Forsberg M., Persson L., Johansson F., Zwahlen M., von Heijne G., Nielsen J., Pontén F. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome // *Science*. 2015. № 6220 (347).
199. Urbanski S.J., Kossakowska A.E., Marcon N., Bruce W.R. Mixed hyperplastic adenomatous polyps - An underdiagnosed entity: Report of a case of adenocarcinoma arising within a mixed hyperplastic adenomatous polyp // *American Journal of Surgical Pathology*. 1984. № 7 (8). C. 551–556.
200. Villanacci V., Baronchelli C., Manenti S., Bassotti G., Salviato T. Serrated lesions of the colon A window on a more clear classification // *Annals of Diagnostic Pathology*. 2019. №41. C. 8–13.

201. Walsh M.D., Clendenning M., Williamson E., Pearson S.A., Walters R.J., Nagler B., Packenas D., Win A.K., Hopper J.L., Jenkins M.A., Haydon A.M., Rosty C., English D.R., Giles G.G., McGuckin M.A., Young J.P., Buchanan D.D. Expression of MUC2, MUC5AC, MUC5B, and MUC6 mucins in colorectal cancers and their association with the CpG island methylator phenotype // *Modern Pathology*. 2013. № 12 (26). C. 1642–1656.
202. Wang H., Jin S., Lu H., Mi S., Shao W., Zuo X., Yin H., Zeng S., Shimamoto F., Qi G. Expression of survivin, MUC2 and MUC5 in colorectal cancer and their association with clinicopathological characteristics // *Oncology Letters*. 2017. № 1 (14). C. 1011–1016.
203. Warusavitarne J., Schnitzler M. The role of chemotherapy in microsatellite unstable (MSI-H) colorectal cancer // *International Journal of Colorectal Disease*. 2007. № 7 (22). C. 739–748.
204. Weisenberger D.J., Levine A.J., Long T.I., Buchanan D.D., Walters R., Clendenning M., Rosty C., Joshi A.D., Stern M.C., LeMarchand L., Lindor N.M., Daftary D., Gallinger S., Selander T., Bapat B., Newcomb P.A., Campbell P.T., Casey G., Ahnen D.J., Baron J.A., Haile R.W., Hopper J.L., Young J.P., Laird P.W., Siegmund K.D. Association of the colorectal CpG island methylator phenotype with molecular features, risk factors, and family history // *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*. 2015. № 3 (24). C. 512–519.
205. Wiland H.O., Shadrach B., Allende D., Carver P., Goldblum J.R., Liu X., Patil D.T., Rybicki L.A., Pai R.K. Morphologic and molecular characterization of traditional serrated adenomas of the distal colon and rectum // *American Journal of Surgical Pathology*. 2014. № 9 (38). C. 1290–1297.
206. Yamada N., Eizuka M., Sugimoto R., Tanaka Y., Yanagawa N., Yamano H., Suzuki H., Matsumoto T., Sugai T. Immunohistochemical Examination is Highly Sensitive and Specific for Detection of the V600E BRAF Mutation in Colorectal Serrated Lesions // *Applied Immunohistochemistry and Molecular Morphology*.

2020.

207. Yamane L., Scapulatempo-Neto C., Reis R.M., Guimaraes D.P. Serrated pathway in colorectal carcinogenesis // *World Journal of Gastroenterology*. 2014. № 10 (20). 2634–2640 c.

208. Yang J.F., Tang S.J., Lash R.H., Wu R., Yang Q. Anatomic distribution of sessile serrated adenoma/polyp with and without cytologic dysplasia // *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 2015. № 3 (139). C. 388–393.

209. Yang S., Farraye F.A., Mack C., Posnik O., O'Brien M.J. BRAF and KRAS mutations in hyperplastic polyps and serrated adenomas of the colorectum: Relationship to histology and CpG island methylation status // *American Journal of Surgical Pathology*. 2004. № 11 (28). C. 1452–1459.

210. Yao T., Kouzuki T., Kajiwarra M., Matsui N., Oya M., Tsuneyoshi M. «Serrated» adenoma of the colorectum, with reference to its gastric differentiation and its malignant potential // *Journal of Pathology*. 1999. № 5 (187). C. 511–517.

211. Yong H.K., Kakar S., Cun L., Deng G., Kim Y.S. Distinct CpG island methylation profiles and BRAF mutation status in serrated and adenomatous colorectal polyps // *International Journal of Cancer*. 2008. № 11 (123). C. 2587–2593.

212. Zaanen A., Meunier K., Sangar F., Flejou J.F., Praz F. Microsatellite instability in colorectal cancer: From molecular oncogenic mechanisms to clinical implications // *Cellular Oncology*. 2011. № 3 (34). C.155–176.

213. Zauber P., Berman E., Marotta S., Sabbath-Solitare M., Bishop T. Ki-ras gene mutations are invariably present in low-grade mucinous tumors of the vermiform appendix // *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 2011. № 7–8 (46). C. 869–874.

214. Zhao S., Wang S., Pan P., Xia T., Chang X., Yang X., Guo L., Meng Q., Yang F., Qian W., Xu Z., Wang Y., Wang Z., Gu L., Wang R., Jia F., Yao J., Li Z., Bai

Y. Magnitude, Risk Factors, and Factors Associated With Adenoma Miss Rate of Tandem Colonoscopy: A Systematic Review and Meta-analysis // Gastroenterology. 2019. № 6 (156). C. 1661-1674.e11.

215. Zhou M.J., Lebwohl B., Krigel A. Patient and Physician Factors Associated with Adenoma and Sessile Serrated Lesion Detection Rates // Digestive Diseases and Sciences. 2020. № 11 (65). C. 3123–3131.

216. The Paris endoscopic classification of superficial neoplastic lesions: Esophagus, stomach, and colon. November 30 to December 1, 2002. Participants in the Paris Workshop. Gastrointestinal endoscopy. 2003. №6 (58).

217. Digestive System Tumours WHO Classification of Tumours, 5th Edition WHO Press-e., 2019. 635 c.