

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии
имени Н.Н. Петрова»

Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России)
Отдел учебно-методической работы

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения
«Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр
специализированных видов медицинской помощи (онкологический)»
(ГБУЗ «СПб КНпЦСВМП(о)»)

Частное образовательное учреждение высшего образования
«Санкт-Петербургский медико-социальный институт»
(ЧОУВО «СПбМСИ»)

*Кафедра патологической анатомии факультета
дополнительного последипломного образования*

**Константинов А. С., Шелехова К. В.,
Рогачев М. В.**

**Морфологические предикторы оккультных
отдалённых метастазов при локализованных
формах колоректального рака**

Учебное пособие

Санкт-Петербург
2020

УДК: 616.345-06(07)

ББК: 54.133я7

Константинов А. С., Шелехова К. В., Рогачев М. В. Морфологические предикторы оккультных отдалённых метастазов при локализованных формах колоректального рака: учебное пособие для врачей и обучающихся в системе высшего и дополнительного профессионального образования. – СПб.: НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова, 2020. – 96 с.

ISBN 978-5-6045022-4-2

Рецензент: доктор медицинских наук, профессор Рыбакова М. Г., заведующая кафедрой патологической анатомии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

В учебном пособии описаны основные механизмы метастазирования злокачественных эпителиальных опухолей. Рассмотрены эквивалентные морфологические характеристики, оценка которых позволяет прогнозировать метастатический потенциал опухоли, в частности колоректальных аденокарцином. Оценка указанных неанатомических факторов обеспечит более дифференцированный, персонализированный подход к ведению пациентов со злокачественными новообразованиями.

Учебное пособие предназначено для врачей-патологоанатомов, врачей-онкологов и врачей, работающих с онкологическими больными, для научных сотрудников, участвующих в процессах изучения различных проблем рака, а также для обучающихся в системе высшего образования (аспирантура, ординатура, специалитет) и дополнительного профессионального образования (повышение квалификации, профессиональная переподготовка).

Утверждено
в качестве учебного пособия
Ученым советом ФГБУ «НМИЦ онкологии
им. Н.Н. Петрова» Минздрава России
протокол № 5 от 9 июня 2020 г.

ISBN 978-5-6045022-4-2 © Константинов А.С. Коллектив авторов, 2020

СОДЕРЖАНИЕ

Список сокращений	4
Введение	6
Глава 1. История изучения метастазирования	9
Глава 2. Основы метастазирования злокачественных опухолей	17
2.1. Гипотезы становления метастатического фенотипа	17
2.2. Этапы метастатического процесса	19
Глава 3. Паренхима	24
3.1. Эпителиально-мезенхимальный переход	24
3.2. Типы инвазии опухолевых клеток	28
Глава 4. Строма	33
4.1. Внеклеточный матрикс	34
4.2. Фибробласты	35
4.3. Иммунный инфильтрат в опухолевом микроокружении	37
4.4. Эндотелиальные клетки, перициты и ангиогенез	46
Глава 5. Методики оценки прогностических маркёров в адено- карциномах толстой кишки	53
5.1. Экстрамуральная венозная инвазия	54
5.2. Периневральная инвазия	56
5.3. Почкование	57
5.4. Строма	61
5.5. Воспалительный инфильтрат	62
5.6. Микроциркуляторное русло	67
Контрольные вопросы	71
Тестовые задания	75
Список литературы	86

Список сокращений

- ГТФ – гуанозинтрифосфат
- ММП – (ММР) – матриксная металлопротеиназа
- НМК – незрелые миелоидные клетки
- ОАМ – опухоль-ассоциированные макрофаги
- ОАФ – опухоль-ассоциированные фибробласты
- ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография
- РНК – рибонуклеиновая кислота
- ФДГ – фтордезоксиглюкоза
- ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход
- АЖСС – American Joint Committee on Cancer (Американский объединенный комитет по раку)
- ASCO – American Society of Clinical Oncology (Американская ассоциация клинической онкологии)
- EMAP – endothelial and monocytic-activating polypeptide (эндотелиальный и моноцит-активирующий полипептид)
- ESMO – European Society for Medical Oncology (Европейское общество медицинской онкологии)
- FGF – fibroblast growth factor (фактор роста фибробластов)
- GM-CSF – granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор)
- HGF – hepatocyte growth factor (гепатоцитарный фактор роста)
- IGF – insulin-like growth factor (инсулиноподобный фактор роста)
- MCP – monocyte chemotactic protein (моноцитарный хемотаксический белок)
- MDSC – myeloid-derived suppressor cell (супрессорные миелоидные клетки)
- МКР-1 – фосфатаза MAP-киназы – фосфатаза митоген-активируемой протеинкиназы (mitogen-activated protein kinase phosphatase)

MMP – matrix metalloproteinase (матриксная металлопротеиназа)

NCCN – National Comprehensive Cancer Network (Национальная всеобщая онкологическая сеть)

NK – natural killer (естественные клетки-киллеры)

PDGF – platelet-derived growth factor (тромбоцитарный фактор роста)

TGF- β – transforming growth factor beta (трансформирующий фактор роста бета)

TIL – tumor-infiltrating lymphocytes (опухоль инфильтрирующие лимфоциты)

TNF- α – tumor necrosis factor alpha (фактор некроза опухоли альфа)

TNM – Tumor / Nodus / Metastasis (система стадирования онкологических заболеваний TNM)

UICC – Union for International Cancer Control (международный союз по борьбе с раком)

VEGF – vascular endothelial growth factor (сосудистый эндотелиальный фактор роста)

Введение

В структуре смертности от онкологических заболеваний рак толстой кишки занимает второе место в мире.

Из всех новых случаев злокачественных новообразований колоректальный рак является третьим по частоте, после опухолей лёгкого и молочной железы [38].

Несмотря на внедрение новых хирургических, химиотерапевтических и таргетных методов лечения отдалённая выживаемость остается низкой, особенно у пациентов с распространённым онкологическим процессом [18, 19].

Более чем у 50% пациентов с колоректальным раком диагностируют синхронные или метакронные метастазы в печени [38].

Синхронные метастазы диагностируют у 20-25% пациентов с впервые выявленным колоректальным раком, и около 40-50% метастазов в печени возникают после резекции (метакронные метастазы) в течение последующих трёх лет послеоперационного наблюдения за пациентом [65, 68].

Средняя выживаемость пациентов с метастазами без лечения составляла около 8 месяцев с момента диагностики. Прогноз лучше, если образование одиночное, или метастазы ограничены одной долей.

Только в 20-30% случаев метастазов колоректального рака в печени потенциально резектабельны. Пятилетняя выживаемость после циторедуктивной резекции варьирует между 28% и 40%, по сравнению с 0% пятилетней выживаемостью без операции [76].

Изучение факторов, определяющих метастатический потенциал опухоли, является одним из приоритетных направлений в онкоморфологии на протяжении многих десятилетий.

В настоящее время прогноз заболевания и необходимость назначения адъювантной терапии основывается, в первую очередь, на патоморфологической оценке оперативно удаленного материала по системе AJCC/UICC-TNM, включающей определение глубины инвазии,

наличия метастазов в регионарных лимфатических узлах и отдаленных локализациях.

Концепция последовательной опухолевой прогрессии или метастатического каскада, согласно которой первичная опухоль (Т) колонизирует регионарные лимфатические узлы (N), которые, в свою очередь, становятся источником для отдалённых метастазов (M), была разработана более 150 лет назад Рудольфом Вирховым и составляет основу современной системы стадирования TNM.

В XIX веке Dukes, Astler, Collier и др. установили прочную взаимосвязь между распространением колоректального рака в лимфоузлы и развитием отдалённых метастазов, при этом риск развития этих метастазов увеличивался по мере увеличения числа пораженных лимфатических узлов.

Практическим выводом из этой последовательной модели стало распространение в хирургической практике удаления лимфоузлов с целью снижения риска развития отдаленных рецидивов. Однако по результатам проспективных рандомизированных исследований последнего десятилетия не удалось продемонстрировать статистически значимых различий общей выживаемости пациентов после резекции опухоли с лимфаденектомией и без неё [37].

Классификация TNM предоставляет лишь ограниченную информацию о прогнозе, поскольку гетерогенность выживания пациентов с одинаковой стадией, в особенности II, может достигать 30% [23, 36, 47].

У части пациентов с распространённым процессом заболевание может оставаться стабильным годами, к примеру график пятилетней выживаемости пациентов с IIIA стадией практически совпадает с таковым при I стадии [84]. В то же время выявленные на ранней стадии опухоли могут быстро прогрессировать и приводить к летальному исходу, даже после полного хирургического удаления [36].

Подобные несоответствия привели к необходимости внедрения дополнительных, неанатомических факторов, влияющих на прогноз.

Источником таких факторов может стать как клиническая информация о пациенте (пол, возраст пациента, локализации опухоли, данные лабораторных исследований и пр.), так и патоморфологические особенности строения опухоли.

Глава 1. История изучения метастазирования

Термин «метастаз» был впервые введен в употребление в 1829 году французским хирургом Жаном Клодом Рекамье (рис. 1) для описания вторичного поражения головного мозга при раке молочной железы [79].



Рис. 1. Жан Клод Рекамье (ист. [wikimedia.org](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Jean-Claude_ReCAMIER.jpg))

О роли взаимодействий клеток организма с опухолью впервые задумался английский хирург Стивен Пэджет в 1889 г. [71]. Он задался вопросом: «Что решает, какие органы страдают в случае диссеминированного рака?». Изучив записи вскрытий 735 женщин, умерших от рака молочной железы, он отметил несоответствие особенностей кровоснабжения и частоты метастазов в отдельных органах.

Так, отмечалась высокая частота метастазов в печени, яичниках и определенных ко-

стях, но низкая частота метастазов в селезенке.

Его наблюдения противоречили преобладающей в то время теории Вирхова [89] о том, что метастазирование можно объяснить просто остановкой эмболов опухолевых клеток в сосудистой сети.

На своих наблюдениях Пэджет пришел к выводу, что «органы не могут быть полностью пассивными или безразличными в отношении эмболии», и сформулировал принцип «семян и почвы», заявив: «Когда растение даёт семена, его семена разносятся во всех направлениях, но

они могут жить и расти только если падают на благоприятную почву».

Сорок лет спустя, в 1928 году, Джеймс Юинг оспорил гипотезу «семена и почвы» [26]. Он предположил, что механические силы и особенности кровообращения в первичной опухоли и место вторичного поражения объясняются специфичностью поражённых органов.

Основополагающие исследования Исаяи Фидлера и его сотрудников в конце 1970-х и начале 1980-х окончательно продемонстрировали, что, хотя опухолевые клетки проходят через сосудистую сеть всех органов, метастазы избирательно развиваются в органах с наиболее подходящими условиями [27, 43].

Исследования в конце 70-х – начале 80-х годов XX века стимулировали изучение патобиологии метастазов, что привело к обширным работам в области местного микроокружения или «ниши» первичной опухоли и метастатических очагов. Появились новые взгляды на биологическую гетерогенность, метастатический фенотип и отбор метастатических вариантов в процессе метастазирования [27].

Таким образом, исследования Пэджета остаются основой для текущих исследований и продолжают цитироваться через 120 лет после публикации.

Гипотеза «семян и почвы» сейчас широко принята, хотя «семя» теперь может быть идентифицировано как клетка-предшественник, клетка-инициатор, опухолевая стволовая клетка или метастатическая клетка, а «почва» обсуждается как фактор хозяина, строма, ниша или микроокружение органа [58].

Тем не менее, большинство исследователей в настоящее время согласны с тем, что результат метастазирования зависит от взаимодействия между опухолевыми клетками и тканью хозяина. Подобно гипотезе о семенах и почве Пэджета исследования Фидлера выдержали испытание временем, неоднократно проверены и подтверждены.

Бесспорно, по крайней мере для патологоанатома, что злокачественность не является характерной чертой, общей для всех клеток в

опухоли. Это может показаться очевидным; однако в недавней литературе встречаются рассуждения, в которых используется термин «злокачественный» как синоним слов «неопластический» или «опухолевый».

Действительно, учитывая близорукость, связанную с исторической литературой, исследователи продолжают заново открывать, часто под новыми синонимами, классические наблюдения. К сожалению, эти «новые» наблюдения не всегда включают детальное понимание биологии опухоли и экспериментальных проектов, критически важных для исследования злокачественных новообразований и метастазов.

Исследования, посвященные метастазам, требуют, как анализа *in vivo*, так и патоморфологического анализа.

Бесспорно, что концепции, касающиеся метастазирования, должны включать детальное понимание биологии опухоли и экспериментальные модели, поскольку опухоли и метастазы являются биологическими явлениями, потому могут быть описаны только на основе анализа в естественных условиях.

Резюмируя вышесказанное, основные этапы изучения процессов метастазирования представлены ниже.

Основные хронологические этапы изучения процессов метастазирования

1829 г. – Жан Клод Рекамье разработал термин «метастаз».

1858 г. – Рудольф Вирхов предположил, что диссеминация метастатической опухоли определяется механическими факторами.

1889 г. – Стивен Пэджет предложил гипотезу «семян и почвы» для объяснения избирательности поражения органов метастазами.

1915 г. – Макото Такахаши разработал первую модель метастазов на мышцах.

1929 г. – Джеймс Юинг предположил, что метастазирование определяется анатомией сосудистых и лимфатических сосудов первичной опухоли.

1944 г. – Дейл Рекс Коман определил роль клеточной адгезии в метастазировании и распространении эмболических опухолевых клеток.

1952 г. – Ирвинг Зейдман продемонстрировал транспульмональный пассаж эмболов опухолевых клеток, приводящий к метастазам в большом круге кровообращения.

1952 г. – Люк Балдуин изучал органную специфичность роста опухоли после внутривенной инъекции опухолевых клеток и сравнивал ее рост в печени и легком.

1955 г. – Ева Кляйн продемонстрировала, что клетки, адаптированные к росту в асцитической жидкости, уже существуют в родительской опухоли и имеют повышенный злокачественный фенотип.

1962 г. – Габриэль и Татьяна Гасич продемонстрировали, что ферментативные манипуляции с поверхностью клеток могут влиять на метастатический потенциал.

1965 г. – Бернад и Эдвин Фишеры использовали опухолевые клетки, меченные хромом 51, в количественных исследованиях диссеминации.

1966 г. – Бернад и Эдвин Фишеры отличили лимфогенные метастазы от гематогенных.

1970 г. – Исая Фидлер сообщил, что метастазы могут быть результатом выживания только нескольких опухолевых клеток с использованием опухолевых клеток, меченных IUdR.

1973 г. – Исая Фидлер сообщил о селекции опухолевых клеток *in vivo* для повышения их метастатического потенциала.

1973 г. – Бепино Джованелла с соавторами продемонстрировал, что опухоли человека могут метастазировать у лысых мышей с дефицитом тимуса.

1975 г. – Ирвин Бросс предложил метастатический каскад для

определения ряда последовательных событий, необходимых для диссеминации опухоли.

1975 г. – Гарт Николсон предположил, что органоспецифичность метастазов определяется клеточной адгезией.

1976 г. – Питер Новелл предложил клональную эволюцию популяции опухолевых клеток.

1976 г. – Ланц Лиотта и Джером Кляйнерман связали инвазию и метастазирование с производством протеолитических ферментов метастазирующими клетками.

1977 г. – Исая Фидлер и Маргарет Крипке показали метастатическую гетерогенность новообразований.

1980 г. – Ланц Лиотта продемонстрировал, что метастатический потенциал коррелирует с ферментативной деградацией коллагена базальной мембраны.

1980 г. – Ян Харт и Исая Фидлер продемонстрировали органную специфичность метастазирования с использованием эктопических органов.

1980 г. – Джеймс Талмэдж и сотрудники продемонстрировали регулируемую роль НК-клеток в метастазировании опухолей.

1981 г. – Джордж Пост и Исая Фидлер сообщили, что взаимодействия между клональными субпопуляциями могут стабилизировать их метастатические свойства, тогда как нестабильная клональная субпопуляция после короткого совместного культивирования приводит к появлению метастатических вариантов.

1982 г. – Карл Хеллманн разработал первое клиническое испытание препарата против метастазов (Разоксана).

1982 г. – Джеймс Талмэдж и Сандра Вулман показали, что метастазы рака являются клональными и что метастазы происходят от одной выжившей клетки.

1982 г. – Джеймс Талмэдж и Исая Фидлер предоставили прямые доказательства того, что метастатический процесс был избиратель-

ным, с использованием спонтанных метастазов из множества метастатических вариантов.

1982 г. – Джордж Пост и Ирвинг Зейдман продемонстрировали быстрое развитие метастатической гетерогенности за счет метастазов клонального происхождения.

1982 г. – Гарт Николсон и Сьюзан Кустед продемонстрировали, что метастазирование происходит не из-за адаптации к новой среде органа, а скорее из-за процесса селекции.

1984 г. – Дэвид Тарин и его коллеги сообщили о свидетельствах органоспецифичности метастазов у пациентов с карциномой яичников при лечении асцита перитонеовенозным шунтированием.

1984 г. – Джеймс Козловски и его коллеги продемонстрировали метастатическую гетерогенность опухолей человека с использованием иммунокомпетентных мышей.

1984 г. – Авраам Раз и его коллеги продемонстрировали гетерогенность опухолей по подвижности и адгезивным свойствам, а также их связь с метастазированием.

1985 г. – Исая Фидлер и его коллеги рассмотрели критическую роль макрофагов в процессе метастазирования.

1986 г. – Леонард Вайс и его коллеги определили концепцию метастатической неэффективности.

1988 г. – Патриция Стиг с сотрудниками идентифицировали первый ген-супрессор метастазов.

1990 г. – Ричард Уол и его коллеги продемонстрировали способность ФДГ обнаруживать метастазы в лимфатических узлах с помощью ПЭТ-сканирования.

1990 г. – Ллойд Калп и его сотрудники документально подтвердили полезность бактериального LacZ в качестве маркера для обнаружения микрометастазов при прогрессировании опухоли.

1991 г. – Иуда Фолкман с соавторами продемонстрировали взаимосвязь между метастазированием и ангиогенезом у пациентов с раком груди.

1992 г. – Йо Ван Дамм сообщил о роли хемокинов в опухолевых макрофагах, способствующих метастазированию.

1994 г. – Иуда Фолкман продемонстрировал, что удаление злокачественной первичной опухоли у мышей стимулирует рост метастазов.

1997 г. – Роберт Хоффман и визуализация инвазии и метастазирования опухолевых клеток с использованием экспрессии GFP.

2000 г. – Дэвид Ботштейн продемонстрировал разнообразие паттернов экспрессии генов в тканях рака груди.

2001 г. – Ирвин Вайсман и соавторы предположили роль раковых стволовых клеток в метастазировании.

2002 г. – Рене Бернарде и Роберт Вайнберг предположили, что метастатический потенциал определяется на ранней стадии канцерогенеза, объясняя метастатическую молекулярную подпись большинства клеток первичной опухоли.

2002 г. – Жан Поль Тьери и Роберт Вайнберг предположили, что ЭМП может объяснить метастатическое прогрессирование.

2002 г. – Кристофер Кляйн и его сотрудники сообщили о генетической гетерогенности одиночных диссеминированных опухолевых клеток при минимальной остаточной опухоли.

2002 г. – Лаура Ван'т Вир и ее сотрудники сообщили, что определенный профиль экспрессии генов первичного рака молочной железы был связан с развитием метастазов и плохим клиническим исходом.

2003 г. – Юибин Канг и его коллеги определили молекулярную подпись, связанную с метастазированием опухолей молочной железы в кости.

2003 г. – Майкл Кларк и Макс Вича предположили, что способность карцином молочной железы метастазировать заключается всего в нескольких «стволовых клетках», которые обладают высокой устойчивостью к химиотерапии.

2006 г. – Кент Хантер подчеркнул роль генетической предрасположенности к метастазам.

2007 г. – Ли Ма и Роберт Вайнберг идентифицировали первую микро-РНК, способствующую метастазированию.

2008 г. – Уильям Харбор и его коллеги продемонстрировали, что паттерны экспрессии микро-РНК могут предсказывать риск метастазирования.

2008 г. – Жоан Масаге с соавторами сообщили, что микро-РНК могут подавлять метастазы.

Глава 2.

Основы метастазирования злокачественных опухолей

2.1. Гипотезы становления метастатического фенотипа

Инвазия и метастазирование – биологические процессы, характеризующие злокачественное поведение опухолей, а также основные причины клинических проявлений и летальных исходов. Метастазирование остаётся большой клинической проблемой, поскольку предугадать начало этого процесса пока невозможно, а его развитие экспоненциально усиливает неблагоприятные последствия для пациента [10-12].

Предложено несколько теорий, объясняющих развитие метастатического фенотипа (рис. 2).

В соответствии с теорией клональной эволюции происходит накопление мутаций в генетически нестабильных опухолевых клетках и опухоль становится гетерогенной (рис. 2 А). При этом только небольшая субпопуляция клеток опухоли имеет все мутации, необходимые для метастазирования.

Следовательно, появление метастатического субклона – результат клональной эволюции, в результате которой только в отдельных клетках происходит генетическая перестройка, позволяющая преодолеть все этапы метастатического каскада. Однако результаты последних экспериментов, в которых сравнивали генетический профиль первичных опухолей и метастатических узлов, опровергают эту гипотезу. Например, во множестве случаев рака молочной железы на стадии без клинически диагностированных метастазов выявлена экспрессия генов, подобная найденной в метастазах. Складывается такое впечатление, что большинство клеток этих опухолей имеют склонность к раннему метастазированию уже на начальных стадиях канцерогенеза. Метастазирование, согласно этому представлению, не зависит от стохастического поколения метастатических субклонов.

Согласно альтернативной гипотезе, метастазирование является результатом генетических нарушений, возникающих во многих, возможно в большинстве клеток первичной опухоли на ранних стадиях ее развития (рис. 2 Б, В). При этом генетические нарушения как бы подготавливают опухолевые клетки к метастазированию, т.е. клетки несут в себе «метастатическую сигнатуру». Такая сигнатура может включать не только свойства опухолевых клеток, но и характеристики микроокружения, например, строение стромы, наличие инфильтрата из иммунных клеток, ангиогенез (рис. 2 Г). Вероятно, оба механизма действуют в агрессивных опухолях, у которых метастатический фенотип формируется на ранних стадиях канцерогенеза, причем для этого достаточно лишь нескольких случайных дополнительных мутаций.

В соответствии с третьей гипотезой для развития метастазов имеет значение предсуществующая популяционная генетическая вариабельность, обуславливающая и вариабельность в экспрессии генов. В экспериментах на мышах показано, что злокачественные опухоли, индуцированные одними и теми же онкогенными мутациями, имеют разный уровень метастазирования у мышей разных линий (т.е. имеющих генетические различия). Каждый сильный онкоген может оказаться под значительным влиянием предсуществующей генетики индивида.

Четвертая гипотеза вытекает из гипотезы опухолевой стволовой клетки, согласно которой опухоль развивается из единичной опухолевой стволовой клетки, а метастазирование является результатом ее распространения.

2.2. Этапы метастатического процесса

Каждая стадия метастатического процесса подвергается сложному многостороннему контролю, а опухолевая клетка может погибнуть на любом этапе. Распространение опухоли – сложный процесс, включающий отделение клеток от основного узла, внедрение в крове-

носные или лимфатические сосуды, образование вторичного опухолевого узла в другом органе (рис. 3).

Метастатический каскад можно разделить на три фазы:

1. Инвазия во внеклеточный матрикс.
2. Распространение клеток по сосудам.
3. Колонизация.

Инвазия

В эпителиальных опухолях инициация метастатического каскада начинается с разрушения межклеточных контактов и отделения клеток друг от друга. Межклеточные взаимодействия обеспечиваются трансмембранными белками семейства кадгеринов. E-кадгерин образует гомотипические сцепления в эпителиальных тканях, служащие для поддержания единства эпителия и передачи сигналов между клетками.

Второй необходимый элемент инвазии – деградация внеклеточного матрикса. Опухолевые клетки могут секретировать непосредственно или индуцировать стромальные клетки (например, фибробласты и клетки воспаления) к образованию протеолитических ферментов, разрушающих базальную мембрану и межклеточную соединительную ткань. Только после этого клетки могут переходить к этапу миграции – сложному, многоступенчатому процессу, в который вовлекается множество рецепторов и сигнальных белков, действующих в конечном счёте на актиновый цитоскелет клетки.

Без васкуляризации солидная опухоль не может увеличиться более чем на 1-2 мм в диаметре, несмотря на все генетические аномалии. Как и нормальным тканям, опухолям нужны кислород и питательные вещества, а также удаление продуктов обмена. Клетки злокачественной опухоли могут стимулировать неоангиогенез, характеризующийся почкованием новых сосудов от уже существующих капилляров, а в некоторых случаях – васкулогенез, при котором эндотелиальные клетки, формирующие новые сосуды, происходят из костного мозга.

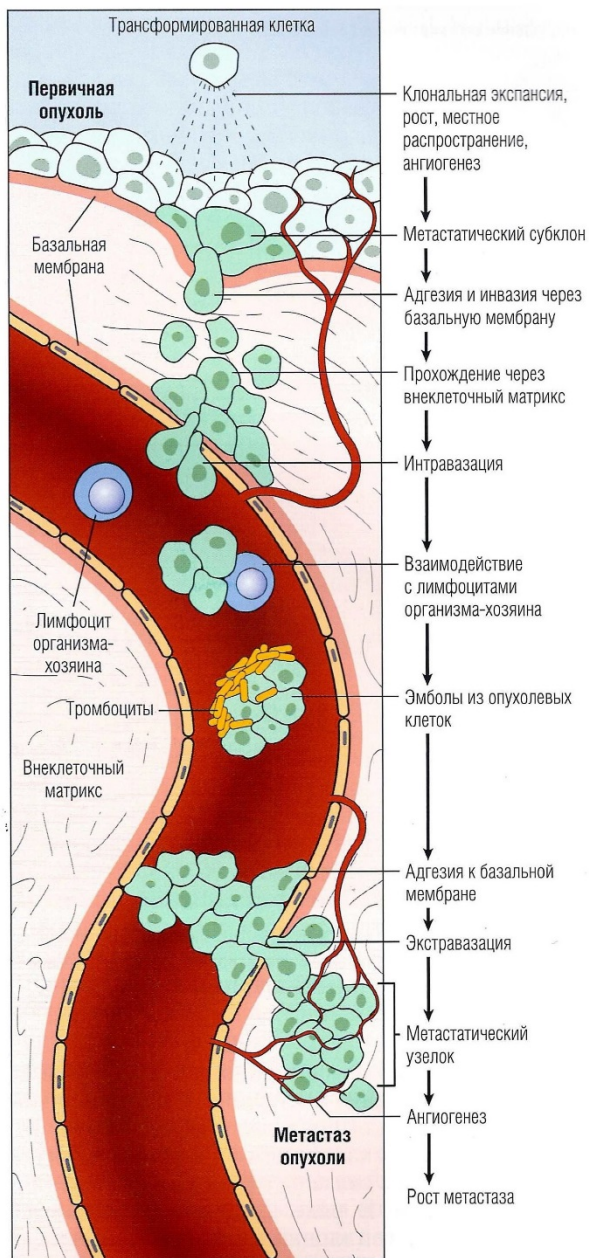


Рис. 3. Метастатический каскад (Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease, 2014).

Новообразованные сосуды в опухоли отличаются от нормальных, обладают повышенной проницаемостью, расширены и имеют неупорядоченные связи.

Ангиогенез обеспечивает не только постоянный рост опухоли, но также возможность проникать в сосудистое русло, что является основой метастазирования.

Сосудистая диссеминация

Во время циркуляции в кровотоке опухолевые клетки могут быть разрушены механически, путём активации апоптоза вследствие утраты адгезии с другими клетками (аноикос), а также факторами врождённого и приобретённого иммунитета. В кровотоке за счёт агрегации с лейкоцитами и тромбоцитами клетки опухоли получают некоторую защиту от противоопухолевых эффекторных клеток организма-хозяина.

Задержка и экстравазация опухолевых эмболов в отдалённых органах происходит за счёт адгезии к эндотелию с последующим выходом через базальную мембрану.

Колонизация

Место, где опухоль будет покидать капилляры и сформирует вторичные узлы, отчасти зависит от локализации первичного узла, т.к. большинство метастазов возникает на месте встречи циркулирующих опухолевых клеток с первым капиллярным барьером.

Так, для карцином толстой кишки таким первым фильтром будет печень, метастазы в лёгких и других органах могут появиться либо вторично, после поражения печени, либо при метастазировании через лимфатическое русло.

Некоторые ткани представляют собой не подходящую среду для роста и распространения опухолевых клеток. Например, хотя скелетные мышцы хорошо васкуляризованы, в них редко развиваются метастазы опухолей.

Опухолевые клетки после их отделения от первичной опухоли оказываются малоприспособленными для колонизации отдаленных органов. Миллионы опухолевых клеток ежедневно покидают первичный узел опухоли даже при ее малых размерах. Такие клетки выявляются в кровотоке и в виде небольших островков в костном мозге даже у тех пациентов, которые не имеют в дальнейшем макроскопически видимых метастазов.

Длительное состояние покоя метастатических клеток, т.е. длительное существование микрометастазов без их прогрессирования (латентные, или дремлющие, метастазы), описано при меланоме, раке молочной и предстательной желез.

Молекулярные механизмы процесса колонизации еще только начинают распутывать с помощью экспериментов на животных, но вполне очевиден факт взаимодействия опухолевых клеток и предсуществующих стромальных клеток в местах формирования метастазов.

Глава 3.

Паренхима

Строение опухоли всё чаще сравнивают с «чужеродным» органом, состоящим, как и все нормальные ткани, из двух структурно-функциональных компартментов: опухолевых эпителиальных клеток, составляющих его паренхиму, и четко от них отличающихся мезенхимальных клеток, формирующих опухоль-ассоциированную строму [42, 6].

По мере прогрессии опухоли, за счет постоянного обмена сигналами между компонентами микроокружения и паренхимой происходит постепенное нарастание агрессивного фенотипа, что проявляется ростом, инвазией и метастатической диссеминацией.

Такая поступательная прогрессия основана на механизмах реципрокных взаимодействий между опухолевыми клетками и клетками стромы [32].

Фенотип высокозлокачественных клеток не возникает в исключительно автономном режиме и его манифестацию невозможно понять, опираясь исключительно на геном опухолевых клеток. Способность преодолеть большинство этапов инвазивно-метастатического каскада может быть обретаема частью опухолей в результате межклеточного взаимодействия паренхиматозных опухолевых клеток с поддерживающим их стромальным компонентом, без необходимости в дополнительных мутациях, сверх необходимых для формирования первичной опухоли.

3.1. Эпителиально-мезенхимальный переход

Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) – это биологический процесс, позволяющий поляризованной эпителиальной клетке, обычно взаимодействующей с базальной мембраной через базальную

поверхность, претерпевать множественные биохимические изменения, которые позволяют ей принять фенотип мезенхимальных клеток.

Фенотип мезенхимальных клеток включает повышенную миграционную способность, подвижность, повышенную устойчивость к апоптозу и значительное увеличение продукции компонентов внеклеточного матрикса. О завершении ЭМП сигнализирует деградация подлежащей базальной мембраны и образование мезенхимальной клетки, которая может мигрировать от эпителиального слоя, в котором она возникла.

Для того, чтобы инициировать ЭМП и позволить ему достичь завершения, задействован ряд различных молекулярных процессов. К ним относятся активация факторов транскрипции, экспрессия специфических белков клеточной поверхности, реорганизация и экспрессия белков цитоскелета, выработка ферментов, разрушающих внеклеточный матрикс, и изменения в экспрессии специфических микро-РНК. Во многих случаях задействованные субъекты также используются в качестве биомаркёров для демонстрации прохождения клетки через ЭМП (рис. 4).

Этот феномен был впервые описан Elizabeth D. Nau в 1995 г., и сегодня его существование подтверждено результатами большого количества исследований в области механизмов инвазии и метастазирования злокачественных опухолей [32,44,45,52,57]. В процессе ЭМП происходят следующие основные события: злокачественные эпителиальные клетки утрачивают свою апикально-базальную полярность вследствие нарушения плотных межклеточных контактов и потери молекул межклеточной адгезии (таких, как E-кадгерин и интегрины); происходит ремоделирование цитоскелета с перераспределением актиновых волокон под поверхностью клеточной мембраны, что в дальнейшем обеспечит формирование протрузий цитоплазмы; деградация подлежащей базальной мембраны эпителия, что в конечном итоге ведёт к пенетрации в окружающий стромальный матрикс и активной миграции утративших межклеточные контакты клеток [44, 52].

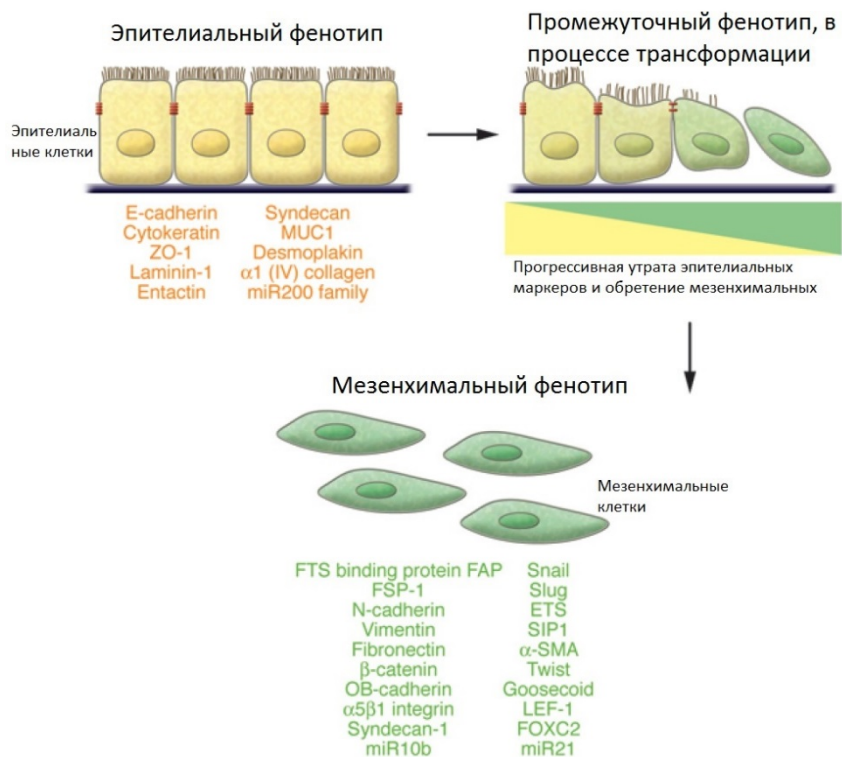


Рис. 4. Эпителиально-мезенхимальный переход (по Raghu Kalluri и Robert A. Weinberg, 2009).

ЭМП включает функциональный переход поляризованных эпителиальных клеток в мобильные мезенхимные клетки, секретирующие компоненты внеклеточного матрикса. Перечислены маркеры эпителиальных и мезенхимальных клеток, обычно используемые исследователями ЭМП.

Совместная локализация этих двух наборов различных маркеров определяет промежуточный фенотип, указывая на клетки, которые только частично прошли через ЭМП. Обнаружение клеток, экспрессирующих оба набора маркеров, делает невозможным идентификацию всех мезенхимальных клеток, которые происходят из эпителия

посредством ЭМП, поскольку многие мезенхимальные клетки, вероятно, сбрасывают все эпителиальные маркёры после завершения перехода.

В клетках, подвергшихся ЭМП, отмечается повышенная экспрессия белков эпителиально-мезенхимального перехода *Zeb1*, *TWIST*, *Snail* и *Slug*, в норме не встречающихся в эпителиальных клетках. Эти транскрипционные белки способны подавлять экспрессию гена *E-cadherin* через непосредственное соединение с его промотером, в тоже время они усиливают продукцию десмоплакина и клаудина, активируют экспрессию виментина, гладкомышечного актина и матриксных металлопротеиназ, что способствует миграции клеток [13, 57].

E-кадгерин относится к молекулам клеточной адгезии, обнаруживаемым на поверхности всех эпителиальных клеток в норме. Утрата экспрессии *E*-кадгерина ведёт к перемещению β -катенина из цитоплазмы, где он в норме секвестрируется за счёт связи с цитоплазматической порцией *E*-кадгерина, в ядро, где становится коактиватором для транскрипционных факторов генов семейства *TCF/LEF*.

Такая аккумуляция β -катенина в ядре, ассоциированная с утратой *E*-кадгерина, коррелирует с ЭМП и инвазивным фенотипом [52, 81].

Традиционно морфологическим проявлением феномена ЭМП в колоректальном раке считается появление отдельных опухолевых клеток или кластеров (комплексов до 5 клеток) в инвазивном фронте опухоли, в англоязычной литературе обозначается термином «budding», почкование [77].

В колоректальном раке почкование коррелирует с повышением частоты метастазов в лимфоузлах, отдаленными метастазами, местным рецидивированием и низкой выживаемостью [30, 95]. По этой причине Международный Противораковый Союз (UICC) отнес почкование к новым перспективным прогностическим факторам колоректального рака.

Несмотря на сильную связь почкования с прогнозом и агрессивным поведением, этот показатель еще не внедрён в рутинную практику ввиду отсутствия стандартизированной методики подсчёта и достаточной высокой воспроизводимости у предложенных в настоящее время методик [95].

Хотя механизмы, лежащие в основе эпителиально-мезенхимального перехода в карциномах изучены достаточно полно, механизмы, определяющие феномен почкования, остаются недостаточно ясными [92]. Несмотря на близкую ассоциацию между почкованием и эпителиально-мезенхимальным переходом, мало известно о молекулярных событиях, определяющих такой фенотип.

Yamada с соавт. продемонстрировали отсутствие или сохранение неполной мембранной экспрессии или изменение на aberrантную цитоплазматическую экспрессию E-кадгерина в отпочковывающихся клетках колоректального рака, что согласовывается с предыдущими исследованиями [92].

Однако экспрессии белков ЭМП (Zeb1, TWIST, Snail, Slug) в этих клетках выявлено не было. Авторы предположили, что в основе альтерации E-кадгерина в почкующихся структурах колоректального рака лежат другие молекулярные механизмы, не связанные с феноменом эпителиально-мезенхимального перехода [92]. В тоже время экспрессия этих белков была выявлена в части клеток окружающей стромы.

Эта находка может отражать тот факт, что часть клеток стромы представляет собой трансформированные опухолевые клетки.

3.2. Типы инвазии опухолевых клеток

В настоящий момент, основываясь на комплексе морфологических и молекулярно-генетических параметров, выделяют две основных модели инвазивного роста:

- коллективный (групповой тип),

– инвазия в виде одиночных клеток (индивидуальный тип) [32, 57] (рис. 5).

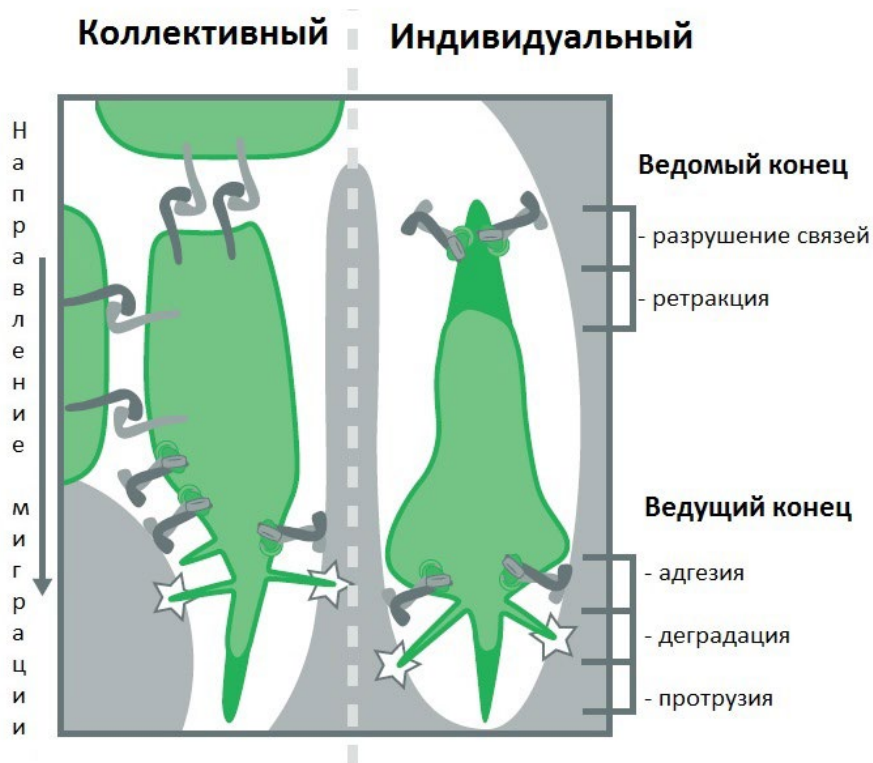


Рис. 5. Два основных типа миграции опухолевых клеток.

Последний, в свою очередь, подразделяется на «мезенхимальный» и «амёбоидный» варианты.

Коллективный тип миграции отмечается в высоко- и умеренно-дифференцированных карциномах, опухолях мягких тканей, индивидуальный тип характерен для лейкозов, лимфом и низкодифференцированных эпителиальных опухолей.

Коллективная инвазия характеризуется миграцией целой группы

клеток, взаимосвязанных молекулами адгезии и другими коммуникативными соединениями. Клетки перемещаются либо узкими линейными тяжами, либо небольшими комплексами неправильной формы. При этом отмечается распределение клеток на две зоны: в первой небольшая группа «лидирующих» клеток, генерирует протеолитические ферменты и формирует микрокоридор перед второй, более многочисленной группой мигрирующих следом «ведомых» клеток и расширяющих этот путь.

Клетки лидирующего фронта формируют протрузии цитоплазмы (псевдоподии) и с помощью интегринов создают фокальные контакты между структурами межклеточного матрикса и белками актина цитоскелета. Затем, производя протеолитическую деградацию внеклеточного матрикса, создают пространство для инвазии опухолевой массы, активно задействуя актин-миозиновый контрактильный аппарат в процессе миграции [32, 57].

При этом в клетках долгое время отмечается сохранение экспрессии белков межклеточной адгезии, в частности E-кадгерин, что проявляется сохранением способности формировать эпителиальные пласты. Такой тип инвазии отличается самой медленной скоростью (0,01-0,05 мкм/мин), что определяет их редкое метастазирование [17, 42].

При индивидуальной модели инвазии отдельные опухолевые клетки отделяются и внедряются в окружающие ткани независимо друг от друга. Следует отметить, что исследователи выделяют два вида такого типа инвазии: мезенхимальный и амёбодный, причем отмечается возможность перехода одного типа в другой в зависимости от условий микроокружения.

В основе индивидуального типа инвазии лежит механизм ЭМП, обеспечивающего приобретение локомоторного фенотипа в норме покоящимися эпителиальными клетками. Поскольку при мезенхимальном типе движения опухолевые клетки теряют свойственную эпителию полярность, а взамен полигональной приобретают вытянутую,

веретенovidную, напоминающую фибробласты форму, такой тип инвазии также иногда называют «фибробластоподобной».

В процессе мезенхимального типа инвазии выделяют пять основных этапов, до некоторой степени схожих с процессами, происходящими в клетках на «лидирующем» фронте при коллективном типе инвазии.

На первом этапе происходит формирование протрузии на одном из участков клетки, за счет сокращения актинового цитоскелета, под контролем ГТФаз Rac1 и Cdc42. Сразу вслед за этим формируются фокальные контакты клетки со структурами внеклеточного матрикса, обеспечивающиеся включением интегринов семейства $\beta 1$ и $\beta 3$; активация протеолитических ферментов (матриксные металлопротеиназы, сериновые и треониновые протеиназы, катепсины) с последующей деструкцией и ремоделированием окружающего внеклеточного матрикса; сокращение вследствие изменения полярности актинового цитоскелета под воздействием миозина II.

И на заключительном этапе происходит «подтягивание» всего тела клетки по направлению движения через сформированный дефект в структуре матрикса. Вследствие своей многоэтапности этот тип инвазии характеризуется низкой скоростью, около 0,2-0,4 мкм/мин [17, 72, 88].

При мезенхимальном типе инвазии, по сравнению с амёбoidным, клетки претерпевают незначительные изменения формы и минимальную деформацию ядер.

Амёбoidный механизм инвазивного роста считается самой примитивной, но в тоже время самой эффективной моделью миграции отдельных опухолевых клеток [57]. Назван так за схожесть с передвижением одноклеточных организмов, таких, как *Dictyostelium discoideum*.

При этом типе инвазии клетки отличаются быстрой способностью к деформации, адаптируя свою форму к существующим структурам окружающего межклеточного матрикса и просачиваясь по узким интерстициальным пространствам. Движение и перемещение

клетки возможны за счёт быстросменяющихся фаз сокращения и вытяжения с формированием пузыревидных протрузий клеточной мембраны.

Эти выпячивания позволяют клетке «нащупывать» наиболее подходящее направление для передвижения в обход различных препятствий [17, 88].

Изменение формы опухолевой клетки реализуется за счёт работы кортикальных структур цитоскелета, под контролем ГТФазы RhoA и его эффектора ROCK-киназы [32]. При этом типе миграции происходит не только изменение формы клетки, но и формы ядра, а также взаиморасположения других органелл.

Ядро, отличающееся своими размерами и плотностью, механически стабилизировано выраженной сетью структурных белков и по этой причине чаще всего не подвергается значительным изменениям формы. Однако при амёбoidalном движении клетки продвигаются сквозь узкие пространства и поры окружающего матрикса, что вызывает выраженное сдавление ядра и его деформацию [33]. Используя этот тип инвазии, клетки способны перемещаться со скоростью 0,4-5 мкм/мин [17].

Интересен тот факт, что поведение клеток в процессе индивидуального типа инвазии зависит от свойств межклеточного матрикса. Так мезенхимальный (протеолитический) тип инвазии, преобладает в плотном окружающем матриксе, а амёбoidalный, не сопровождающийся ремоделированием стромы, происходит в более рыхлом матриксе [25].

Выраженная пластичность опухолевых клеток позволяет осуществлять переключение между типами инвазии в зависимости от изменяющихся условий микроокружения. Возможны как взаимные переходы между мезенхимальным и амёбoidalными типами, так и переход от коллективного к индивидуальному механизму инвазии [57].

Глава 4.

Строма

Область исследования морфологии опухолей в большей степени была сфокусирована на опухолевой паренхиме и на изменениях в опухолевых клетках, эта концентрированность исследований дала большой объем информации.

Однако более полная картина опухоли представляет собой сложно организованную структуру, в которой мутировавшие опухолевые клетки мобилизуют и изменяют работу нормальных клеток окружения (фибробластов, эндотелиальных клеток и клетки иммунной системы), стимулируя их на активное «сотрудничество» и поддержку в реализации опухолевого потенциала.

Неопухолевые клетки могут составлять >50% массы первичной опухоли или метастаза, но существует большое количество нерешенных вопросов относительно их биологии и функций [6].

В нормальной ткани клетки в большей степени получают сигналы к делению от соседних клеток (паракринные сигналы) и через системные механизмы (эндокринная стимуляция).

Межклеточные сигналы роста занимают важное место и в опухолевом росте. Гетеротипичные сигналы между разными типами клеток в опухоли имеют такое же важное значение для поддержания роста опухоли, как и упомянутые механизмы клеточной автономии.

К примеру, считается, что большинство стимулов, запускающих пролиферацию опухолевых клеток исходит из стромального компонента опухолевой массы. Установлено, что экстрацеллюлярный матрикс может модулировать пролиферацию, дифференцировку и миграцию клеток в эмбриогенезе, при регенерации, а также при опухолевом росте.

Такое положение несколько изменяет представление об автономности опухоли: опухоль получает возможность развиваться, только если будет налажен механизм кооперации с нормальными клетками

стромы на выделение достаточного количества факторов, стимулирующих рост. Более того, клетки воспаления, привлекаемые к месту опухоли, могут способствовать росту опухолевых клеток, а не элиминировать их [48].

4.1. Внеклеточный матрикс

Внеклеточный матрикс состоит из большого количества компонентов, включающих белки, гликопротеины, протеогликаны и полисахариды с различными физическими и биохимическими особенностями. Различные клетки микроокружения обеспечивают продукцию определённых его составляющих.

Матрикс не просто обеспечивает физическую поддержку всем клеткам микроокружения, но и оказывает динамическое воздействие на эволюцию и развития опухоли, определяет поведение стромальных клеток, влияет на ангиогенез и воспалительную инфильтрацию [48, 28].

Кроме того, описаны возможности взаимодействия внеклеточного матрикса и опухолевых клеток.

Так, расщепление компонентов матрикса, например, коллагена IV типа, приводит к высвобождению ангиогенных факторов (в частности, VEGF), а ферментативная деградация ламинина-5 под действием матриксной металлопротеиназы-2 (MMP-2) сопровождается высвобождением латентного протеолитического фермента, стимулирующего миграцию опухолевых клеток [15].

Внеклеточный матрикс также накапливает факторы роста в неактивной форме, высвобождаемые при действии активных матриксных протеаз. Среди таких факторов PDGF, TGF- β и FGF-2, стимулирующие рост опухоли по паракринному механизму [28].

В процессе опухолевой прогрессии строма подвергается значительному ремоделированию.

4.2. Фибробласты

Реорганизация внеклеточного матрикса осуществляется в значительной мере функционированием фибробластов. Они составляют одну из основных популяций клеток опухолевого микроокружения, где их часто называют опухоль-ассоциированные фибробласты (ОАФ).

Под этим термином объединяют, как минимум, два типа клеток: одни имеют схожие черты с фибробластами нормальных тканей, создающих поддерживающие структуры для нормальных эпителиальных клеток и вторые – миофибробласты, чья биологическая роль в значительной мере отличается от первых.

Они редко встречаются в нормальных тканях и появляются в местах травм и хронического воспаления, где становятся причиной патологического фиброза [42]. Идентифицировать этот тип фибробластов можно по экспрессии α -гладкомышечного актина (SMA).

Миофибробласты в опухолевом микроокружении образуются из тканевых фибробластов под действием PDGF, TGF- β и FGF2, выделяемых макрофагами, также они могут происходить из клеток-предшественников костного мозга (фиброцитов), или из эндотелиальных, гладкомышечных, миоэпителиальных и мезенхимальных стволовых клеток [85].

ОАФ секретируют факторы роста, такие, как гепатоцитарный фактор роста (HGF), факторы роста фибробластов (FGF) и инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF1), которые являются митогенными для опухолевых клеток.

За счёт продукции TGF- β фибробласты индуцируют эпителиально-мезенхимальный переход опухолевых клеток и обеспечивают подавление местного иммунного ответа.

Продуцируемый хемокин CXCL12 поддерживает рост и выживание опухолевых клеток, а также является хемоаттрактантом, стимулиру-

рующим миграцию в опухолевое микроокружение других стромальных клеток и их предшественников.

Одной из важнейших функций ОАФ является создание компонентов межклеточного матрикса микроокружения и продукция ферментов, его ремоделирующих. Это определяет их ведущую роль в создании характерной для многих злокачественных опухолей десмопластической стромы [6, 42].

В экспериментах *in vitro* было показано, что изменение только плотности межклеточного матрикса может повлиять на агрессивность опухолевых клеток.

В норме строма в основном представлена волокнами коллагена-I и III типов, имеющими волнистый вид и анизотропные свойства. В процессе роста опухоли количество коллагеновых волокон значительно увеличивается, что ведёт к увеличению плотности ткани.

Волокна приобретают прямолинейный ход и становятся ориентированными перпендикулярно к границам опухоли, формируя «пути» для мигрирующих опухолевых клеток.

Указанные десмопластические изменения демонстрируют прямую корреляцию с повышением риска метастазирования [17].

Увеличение пропорции опухолевой стромы ассоциируется с худшей выживаемостью для разных типов солидных опухолей, в том числе для колоректального рака [73].

Использование полуколичественной оценки пропорции опухолевой стромы в рутинной патоморфологической практике может послужить суррогатным маркёром её активности и влияния на опухолевую прогрессию.

В своей серии исследований J. H. Park с соавт. провели оценку взаимосвязи опухоль-специфической выживаемости с пропорцией опухолевой стромы, выраженностью воспалительного инфильтрата и почкованием опухолевых клеток в аденокарциномах толстой кишки [73, 74, 87].

Была установлена независимая прямая ассоциация между исследуемыми показателями и низкой выживаемостью, что позволяет использовать их как маркёры неблагоприятного прогноза, независимо от стадии.

Однако авторы не проводили качественной оценки исследуемых характеристик микроокружения, ограничившись лишь количественными категориями.

4.3. Иммунный инфильтрат в опухолевом микроокружении

Патологи давно отметили, что некоторые опухоли густо инфильтрированы клетками как врожденной, так и приобретённой иммунной системы. Рудольф Вирхов ещё в 1800-х годах впервые описал инфильтрацию солидных опухолей лейкоцитами [89].

С появлением новых методик, позволяющих лучше идентифицировать клетки разных типов, стало очевидным, что все опухоли содержат иммунные клетки, но плотность инфильтрации может варьировать от единичных клеток, выявляемых только специфическими антителами, до макроскопически заметных проявлений. Исторически такой иммунный ответ считался отражением попытки иммунной системы избавиться от опухоли, однако всё чаще стали появляться работы, свидетельствующие о парадоксальной способности опухолево-ассоциированных иммунных клеток к стимуляции опухолевой прогрессии [42, 48].

Воспалительный инфильтрат микроокружения может стать источником большого количества биоактивных молекул, включая факторы роста, поддерживающие пролиферативные сигналы; факторы выживания, ограничивающие клеточную гибель; проангиогенные факторы, как например матрикс-модифицирующие ферменты, способствующие ангиогенезу, инвазии и метастазированию; а также ряд

факторов, способствующих эпителиально-мезенхимальному переходу [42].

Последовательность изменений, возникающих в месте возникновения опухоли по мере её прогрессии, в некоторой степени напоминает хроническое воспаление, что стало причиной появления метафоры «опухоль – это незаживающая рана» [24].

Исследования, демонстрирующие большую частоту развития опухолей в местах хронического воспаления, появились ещё в 30-е годы XX века [2]. В процессе нормально протекающего заживления раны или в месте борьбы с инфекционным агентом инфильтрация иммунными клетками носит преходящий характер и исчезает со временем, что отличает их от персистенции в зонах хронического воспаления, где их присутствие ассоциируется с разными типами патологии тканей, включая фиброз, aberrантный ангиогенез или развитие опухолей [42].

Контринтуитивное существование как борющихся с опухолью, так и содействующих опухоли иммунных клеток можно попытаться объяснить, вспомнив разные функции иммунитета: с одной стороны, с помощью приобретённого иммунитета, при поддержке врожденного, осуществляется выявление инфекционных агентов. С другой стороны, врожденный иммунитет вовлечён в процесс заживления ран и избавления от погибших клеточных элементов.

Эти специфические задачи реализуются различными субклассами воспалительных клеток, а именно, классом обычных макрофагов (M1-тип) и нейтрофилов (вовлечённых в поддержание приобретённого иммунитета) и субклассом «альтернативно активированных» макрофагов (M2-тип), нейтрофилов и миелоидных предшественников, которые вовлечены в заживление ран и поддержание чистоты внутренней среды от погибающих клеток [64].

Последний тип иммунных клеток является одним из основных источников стромальных, эпителиальных и ангиогенных факторов роста, а также матрикс-ремоделирующих ферментов, необходимых для

заживления ран, и именно этот тип клеток рекрутируется и дестабилизируется в опухолевом микроокружении для поддержки опухолевой прогрессии.

Аналогично, субклассы В- и Т-лимфоцитов могут способствовать отбору, активации и персистенции таких «ранозаживляющих» и опухолестимулирующих макрофагов и нейтрофилов [22].

Конечно, другие субклассы В- и Т-лимфоцитов и клеток врожденной иммунной системы могут сформировать значительный противоопухолевый ответ. Баланс между конфликтующими иммунными ответами в опухоли может стать инструментом прогноза или, возможно, терапевтической целью для перенаправления этих клеток на уничтожение опухоли [42].

Впервые работы, демонстрирующие связь воспалительной реакции в опухоли с более высокой выживаемостью, появились более 50-ти лет назад [82]. В настоящее время насчитывается более ста отдельных работ, демонстрирующих снижение рецидивов и повышение выживаемости в ассоциации с инфильтрацией определёнными иммунными клетками.

Несмотря на то, что много исследований посвящено роли отдельных подтипов иммунных клеток, их плотности и распределению в опухоли, отсутствие стандартизированных подходов качественной и количественной оценки не позволяют использовать этот показатель в рутинной практике.

Предложенная Klintrup и Mäkinen полуколичественная модель оценки воспалительного инфильтрата в колоректальном раке удобна для гистологической оценки и показала хорошую корреляцию с прогнозом, но не позволяет оценить индивидуальный подтип клеток воспалительного инфильтрата [54].

В 2006 г. коллектив авторов под руководством F. Pages и J. Galon провели первую работу, посвященную оценке характера клеточного иммунного инфильтрата в колоректальном раке.

Было установлено что высокая плотность CD3+ Т-лимфоцитов,

CD8+ цитотоксических Т-лимфоцитов и CD45RO+ Т-клеток памяти чётко взаимосвязана с безрецидивной и общей выживаемостью. Была предложена иммунная классификация опухолей, основанная на балльной количественной оценке двух популяций лимфоцитов (CD3/CD8 или CD3/CD45RO или CD8/CD45RO) в центре опухоли и в инвазивном крае.

Это исследование положило начало международной программе Immunoscore, целью которой является разработка стандартизированного подхода оценки местной реакции адаптивного иммунитета в опухоли [35, 36].

Однако в предложенной системе не учитывается влияние клеток неспецифического иммунитета, составляющих значительную часть и играющих определяющую роль в гетеротипической регуляции опухолевого процесса.

Миелоидные клетки составляют наибольшую популяцию в опухолевом микроокружении. Среди них можно выделить клетки следующих типов: опухоль-ассоциированные макрофаги (ОАМ), супрессорные миелоидные клетки (MDSC), миелоидные дендритные клетки, опухоль-ассоциированные нейтрофилы и тучные клетки [6, 7, 16].

За последние три десятилетия, с момента открытия альтернативных путей активации макрофагов (концепция макрофагальной дихотомии) особое внимание уделяется ОАМ [3]. ОАМ происходят из циркулирующих моноцитов и местных, тканевых макрофагов.

Мобилизация макрофагов в опухоль происходит под влиянием множества факторов микроокружения, таких, как цитокины (MCP-1 – monocyte chemotactic protein-1), компоненты внеклеточного матрикса (гиалуроновая кислота, фрагменты коллагена I-типа и эластина) и гипоксия [16].

Одной из особенностей распределения ОАМ является склонность к аккумуляции в гипоксических и/или некротических областях опухоли.

Считается, что такое привлечение ОАМ в эти зоны связано с выделением индуцированных гипоксией хемоаттрактантов, таких, как VEGF-A, эндотелин-2, а также эндотелиальный и моноцит-активирующий полипептид II (EMAP2) и направлено на устранение ишемии в опухоли [6].

С другой стороны, гипоксия способствует задержке макрофагов, снижая их подвижность посредством накопления фермента МКР-1 (mitogen-activated protein kinase phosphatase), блокирующего действие хемоаттрактантов за счёт инактивации ERK1/2 и p38 MAP-киназного пути [16].

Оказавшись в месте назначения, клетки-предшественники подвергаются дифференцировке в зрелые макрофаги и подразделяются на два подтипа: M1, также называемые классически-активированными макрофагами, и M2 – альтернативно-активированные.

Специфический фенотип ОАМ зависит от стадии опухолевой прогрессии.

На ранних этапах развития или в стадии регресса опухоли ОАМ имеют M1-фенотип, и наоборот, сменяются на M2-тип в прогрессирующих опухолях с усиленным ангиогенезом.

Поляризация макрофагов по направлению к проангиогенному фенотипу регулируется гипоксией и различными сигналами от опухолевых и стромальных клеток [16].

Концепция двух различных типов активации макрофагов возникла в конце XX века [39, 40]. Макрофаги первого типа характеризуются экспрессией бактерицидных молекул и рецепторов (FcγR-типов I, II и III) [40].

M1-фенотип макрофаги приобретают в ответ на эндогенные воспалительные стимулы, такие, как Th1-ассоциированные цитокины IFN-γ и TNF-α или экзогенные воспалительные стимулы, например, липополисахариды и другие бактериальные продукты.

M1 стимулируют воспалительные реакции, противоопухолевый

иммунитет и цитотоксические реакции посредством секреции провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-12, IL-23, TNF- α) [16].

ОАМ-M2 впервые были описаны в 1992 г. М. Stein и соавт. как альтернативно активированные. Авторы продемонстрировали активацию макрофагов с помощью интерлейкина 4 (IL-4), в качестве маркера данного типа активации предложен CD206 (маннозный рецептор) [83].

Последующие исследования способствовали накоплению данных о маркерах M2 и факторах, вовлеченных в их дифференцировку. Была выявлена экспрессия специфичных рецепторов, например, CD163 и hMARCO, а также установлено, что активация M2-фенотипа регулируется экспрессией Th2-ассоциированных цитокинов, например, антагониста рецептора IL-1 (IL-1RA), IL-4, IL-13, а также иммуносупрессивными цитокинами IL-10 и TGF- β [22].

Основными функциями, которые выполняют клетки M2-типа в канцерогенезе, являются:

- иммуносупрессия за счёт продукции IL-10, подавляющего синтез IL-2 и IFN- γ клетками Th1, а также продукции PD-L1, приводящего к дисфункции Т-лимфоцитов, проявляющейся в снижении опухолевой цитотоксичности и пролиферации Т-клеток, и переключение макрофагов с M1- на M2-фенотип за счёт IL-10 и TGF- β ;

- ремоделирование внеклеточного матрикса за счёт продукции ферментов для его перестройки [фибронектин, тенасцин С, матриксная металлопротеиназа 12 (ММП-12)] и стимуляция ангиогенеза, достигающаяся экспрессией ангиогенных факторов, таких, как цитокины (VEGF, FGF-2 и PDGF) и ММП;

- стимуляция пролиферации и поддержание выживания опухолевых клеток за счёт секреции эпидермального фактора роста (EGF) [16, 22].

Вышеуказанные особенности позволяют считать ОАМ M2-типа

облигатными партнёрами для инвазии, миграции и метастазирования опухолевых клеток [20].

Супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC) – гетерогенная популяция незрелых миелоидных клеток, обладающих супрессорной активностью в отношении иммунных клеток, таких, как Т-клетки, дендритные клетки и естественные клетки-киллеры (NK).

У здоровых лиц незрелые миелоидные предшественники обнаружены преимущественно в костном мозге и в небольшом количестве в циркуляции. Отсутствуют сведения о распределении этих клеток в тканях человека.

В физиологических условиях незрелые миелоидные клетки (НМК) покидают костный мозг и мигрируют в периферические лимфоидные органы, где дифференцируются в макрофаги, дендритные клетки и гранулоциты [34].

В патологических условиях, при опухолевом росте, инфекциях, аутоиммунных заболеваниях, воспалении НМК репрограммируются и приобретают иммуносупрессорные свойства.

Каким образом эти клетки конвертируют в иммуносупрессорные MDSC, выяснено не полностью. Вместе с тем известно, что повышение уровня факторов роста (GM-CSF и VEGF), хемокинов и цитокинов (TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6 и TGF- β) ускоряет экспансию MDSC в костном мозге и приводит к накоплению этих клеток на периферии [65, 94]. Находясь в опухоли, MDSC могут способствовать васкуляризации опухолевой стромы и нарушать основные механизмы иммунного надзора путем препятствия антигенной презентации дендритными клетками, нарушения активации Т-клеток и цитотоксичности естественных клеток-киллеров [48].

Дендритные клетки, мигрирующие в строму опухоли из костного мозга, участвуют в индуцировании и поддержании противоопухолевого иммунитета, однако их антигенпрезентирующая функция может быть утрачена или неэффективна в определённом опухолевом микроокружении (например, под воздействием MDSC, как указывалось

выше) [80].

Опухоль-ассоциированные дендритные клетки имеют фенотип незрелых дендритных клеток: у них хорошо выражены молекулы CD1a и нет молекул МНС II класса – DR, а также CD25 и молекул адгезии (CD11b, CD11c и CD54); недостаточно выражены костимулирующие молекулы CD80, CD86, CD40.

Опухолевые клетки синтезируют ряд цитокинов, подавляющих созревание и активность дендритных клеток (VEGF, IL-6, IL-10, моноцитарный колониестимулирующий фактор) [1].

Опухоль-ассоциированные нейтрофилы играют двоякую роль в росте и метастазировании опухолей. Способность нейтрофилов поддерживать рост первичной опухоли была продемонстрирована на ряде моделей опухолей мышей, в частности, за счёт стимуляции ангиогенеза, усиления деградации внеклеточного матрикса и иммунной супрессии.

В то же время установлена способность нейтрофилов активно элиминировать диссеминирующие опухолевые клетки, в том числе непрямым путём за счёт ингибирования TGF-β [6].

Тучные клетки также рекрутируются опухолью, где они высвобождают факторы, усиливающие пролиферацию эндотелиальных клеток и таким образом способствующие ангиогенезу [48, 78].

Среди лимфоидных клеток различные популяции Т-лимфоцитов обнаруживаются в опухолевом микроокружении, особенно на её инвазивном фронте и могут составлять до 10% от всех клеток опухоли.

К ним относятся: CD8+ цитотоксические Т-лимфоциты (CD8+ ЦТЛ) и CD4+ Т-хелперы 1 типа (Th1), это Т-клетки, функционирующие как основные противоопухолевые эффекторные клетки.

Среди многих факторов, секретируемых Th1, наиболее значимы: цитокин интерферон-гамма (IFN-γ), фактор некроза опухолей альфа (TNF-α), IL-2 и IL-12, обладающие провоспалительной активностью и подавляющие развитие опухолей.

Исследования показали, что присутствие большого количества

этих иммунных клеток в микроокружении коррелирует с хорошим прогнозом многих типов солидных опухолей [31].

Однако не все CD4+Т-лимфоциты обладают противоопухолевой активностью. В ряде моделей на животных и клинических исследованиях CD4+Th2 и Th17 за счёт секреции IL-4, -5, -6, -10, и -13 угнетали адаптивный иммунитет, индуцируя анергию Т-лимфоцитов и ингибируя Т-клеточную цитотоксичность, а также способствовали пролиферации и угнетению апоптоза опухолевых клеток.

CD4+CD25+Treg-лимфоциты (синоним Foxp3+ Т-лимфоциты) подавляют противоопухолевую активность CD8+ ЦТЛ, НК и дендритных клеток [9, 22, 30, 31].

В-лимфоциты иногда обнаруживаются в инвазивном крае некоторых опухолей, но чаще встречаются в дренирующих лимфатических узлах и лимфоидных структурах, прилежащих к опухолевому микроокружению.

В некоторых опухолях человека инфильтрация В-клетками ассоциирована с хорошим прогнозом (например, молочная железа, яичники). Однако на некоторых экспериментальных моделях опухолей у мышей было обнаружено накопление иммуноглобулинов и популяции регуляторных В-лимфоцитов – Breg (синоним B10), секретирующих иммуносупрессивный IL-10, что способствовало прогрессированию заболевания [6, 30].

В эксперименте показано, что опосредованное В-лимфоцитами поддержание хронического воспаления также может стать пусковым механизмом развития некоторых опухолей. В то же время ни один из эффектов непосредственно не связан с инфильтрацией микроокружения Breg-клетками, является опосредованным через эффекты этих иммунных клеток на окружающие лимфоидные структуры и дренирующие лимфатические узлы, а также модулирующему воздействию на миелоидные клетки [6].

Роль В-лимфоцитов в опухолевом иммунитете стала активно изучаться в последнее десятилетие и требует дальнейших исследований.

Естественные NK и естественные Т-клетки-киллеры также могут быть обнаружены в строме и их появление связано с хорошим прогнозом для многих опухолей [6].

Однако противоопухолевый потенциал этих клеток может быть подавлен секрецией опухолевыми клетками деактивирующего TGF- β [21].

Дебаты относительно инфильтрирующих опухоль иммунных клеток идут не одно десятилетие. В настоящее время признана их двоякая роль, с одной стороны, установлена их способность элиминировать, с другой стороны, способствовать развитию опухоли, в зависимости от сложившихся особенностей межклеточных взаимодействий в микроокружении [94].

4.4. Эндотелиальные клетки, перициты и ангиогенез

В опухолевом микроокружении присутствует большое количество растворимых факторов роста и хемокинов, стимулирующих эндотелиальные клетки и ассоциированные с ними перициты на неоваскуляризацию, что является необходимым условием роста опухоли.

Без васкуляризации опухоль не может увеличиться более чем на 100-200 мкм в диаметре, несмотря на все генетические аномалии, это зона максимального расстояния диффузии кислорода, необходимого для жизнедеятельности любой животной клетки.

Ангиогенез обеспечивает не только постоянный рост опухоли, но также возможность проникать в сосудистое русло, что является основой метастазирования, одного из биологических проявлений злокачественности [66].

В эмбриогенезе образование сосудов осуществляется механизмом васкулогенеза – формирования сосудистых структур *de novo* из предшественников эндотелиальных клеток (ангиобластов); ангиогенеза, когда новые сосуды происходят путём почкования и ответвления от уже существующих капилляров или посредством врастания тяжей

мезенхимальных клеток в предсуществующие сосуды с последующим образованием в них просвета [42, 66].

В зрелом возрасте эндотелиальные клетки находятся в покое, и новообразование сосудов включается лишь в условиях необходимости, например, при заживлении ран или обновлении эндометрия после десквамации.

Опухоли отличаются практически перманентной активацией ангиогенеза, молекулярный базис для его запуска заключается в преобладании воздействия ангиогенных факторов и/или потере ингибиторов ангиогенеза.

К таким известным стимуляторам эндотелиального роста относятся: метаболический стресс (например, низкий pO_2 , низкий pH или гипогликемия), механический стресс (например, давление от пролиферирующих клеток), иммунный воспалительный ответ или генетические мутации, активирующие продукцию проангиогенных факторов (например, сосудистый эндотелиальный фактор роста-A – VEGF-A), ангиопоэтины (Ang) [66].

Как про-, так и антиангиогенные факторы регулируются многими другими генами.

В нормальных клетках p53 может стимулировать экспрессию антиангиогенного фактора TSP-1 и подавлять экспрессию VEGF, в опухоли утрата p53 приводит не только к потере точек контроля клеточного цикла, но и обеспечивает подходящее микроокружение для ангиогенеза.

Транскрипция VEGF также регулируется сигнальным путём RAS/MAPK, а мутации RAS или MYC стимулируют продукцию VEGF.

Ген VEGF-A кодирует лиганд, который вовлечён в регуляцию роста сосудов в эмбриогенезе и постнатальном развитии, обеспечивает поддержание гомеостаза эндотелиальных клеток в физиологических и патологических условиях.

Свои функциональные задачи VEGF осуществляет через три типа

тирозинкиназных рецепторов (VEGFR-1-3). Экспрессия гена VEGF усиливается при гипоксии и под воздействие различных онкогенных сигналов [14, 63].

Лиганды VEGF могут быть секвестрированы во внеклеточный матрикс в латентной форме, а в дальнейшем высвобождены и активированы протеазами, разрушающими внеклеточный матрикс (например, MMP-9).

Ряд других проангиогенных факторов, к примеру, семейство FGF, также участвуют в процессе поддержания новообразования сосудистого русла в опухолях.

Ключевым антагонистом проангиогенных стимулов считается TSP-1, связываясь с трансмембранным рецептором на эндотелиальных клетках, он обладает подавляющим воздействием.

Новообразованные сосуды опухоли характеризуются структурными и функциональными aberrациями: отличаются неравномерным распределением, избыточным ветвлением и извитостью, имеют неравномерные просветы, что сопровождается нарушением ламинарного тока крови, могут утрачивать периваскулярные клетки (перипиты) и иметь неравномерную эндотелиальную выстилку, прерывающуюся базальную мембрану, что сопровождается повышенной проницаемостью. Последнее приводит к повышению интерстициального давления, сдавлению самих сосудов и, как следствие, снижению оксигенации ткани.

В ответ на гипоксию клетки микроокружения, в частности клетки воспалительного инфильтрата (например, макрофаги M2-типа) и клетки опухоли продуцируют множество проангиогенных цитокинов (VEGF и FGF-2) через активацию HIF-1 α , фактора транскрипции, чувствительного к кислороду.

Эти факторы создают так называемый ангиогенный градиент, стимулируя пролиферацию эндотелия и направляя рост новых сосудов к опухоли.

Для успешного ангиогенеза необходимо ремоделирование и деградация внеклеточного матрикса, что осуществляется с помощью ММП. Семейство ММП состоит более чем из 20 ферментов, способных разрушать различные компоненты внеклеточного матрикса [15].

ММП принимают участие не только в процессах, связанных с метастазированием опухолей, но и в норме, например, при заживлении ран, физиологическом ангиогенезе или миграции нормальных клеток.

Стоит отметить, что в случае опухолевой инвазии основными продуцентами ММП служат стромальные клетки, а непосредственно опухолевые клетки только стимулируют данный процесс посредством экспрессии различных факторов роста (PGDF, FGF) и цитокинов (IL-1, TNF).

ММП способны не только к деградации внеклеточного матрикса, но и к активации некоторых закрепленных на нем ростовых и ангиогенных факторов. В частности, показано, что ММП-2 и ММП-9 принимают участие в протеолитической активации TGF- β . Аналогичным образом могут быть активированы некоторые ангиогенные (VEGF-A) и антиангиогенные (ангиостатин, тромбоспондин-1) факторы, как упоминалось выше.

В большинстве типов опухолей повышенная экспрессия ММП коррелирует с повышенной инвазивностью и неблагоприятным прогнозом заболевания [15].

Периваскулярные стромальные клетки, также известные как перicytes, известны давно (впервые описаны Eberth в 1871 г.). Они обнаруживаются в норме на наружной стороне кровеносных (не лимфатических) капилляров, где обеспечивают механическую и физиологическую паракринную поддержку покоящихся эндотелиальных клеток [5].

Они представляют собой вид специализированных мезенхимальных клеток (в настоящий момент считаются онтогенетически связанными с сосудистыми гладкомышечными клетками), погруженных в базальную мембрану кровеносных сосудов, с большим числом пер-

вичных и вторичных отростков, муфтообразно оборачивающихся вокруг сосудистой эндотелиальной трубки (рис. 6).

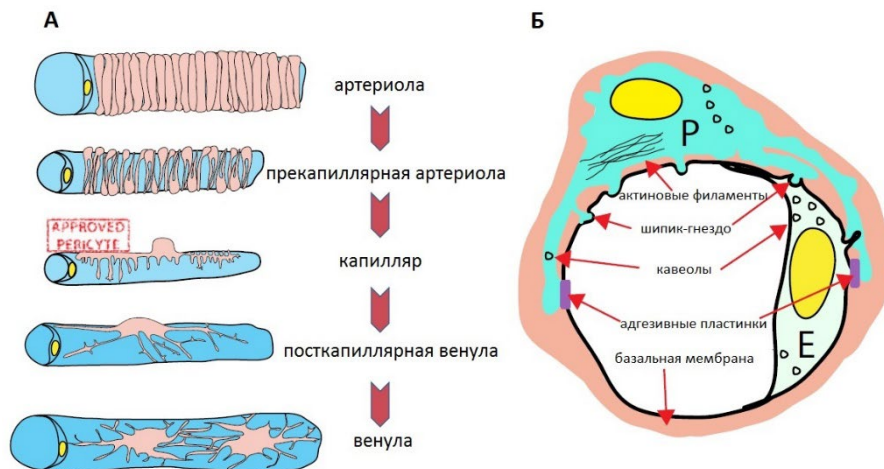


Рис. 6. Периваскулярные стромальные клетки (пероциты) (по А. Armulik, G. Genové и С. Betsholtz, 2011).

На рис. 6 А представлен континуум цитоархитектуры пероцитов от артериол к венуле. Единый слой гладкомышечных клеток вокруг артериол и прекапиллярных артериол окружает всю аблюминальную сторону эндотелия. Гладкомышечные клетки вокруг артериол имеют уплощенную, веретенообразную форму с небольшим количеством цитоплазматических отростков, тогда как вокруг прекапиллярных артериол тела клеток отчетливо проявляются, разделяясь на отростки, окружающие эндотелий. Пероциты, формирующие капилляры, имеют почти округлое тело, разделяющееся на несколько основных отростков, расстилающихся по эндотелию вдоль капилляра. Первичные отростки порождают вторичные перпендикулярно идущие отростки. Концы вторичных отростков прочно прикрепляются к эндотелию. На посткапиллярных венулах тело пероцитов уплощается и дает начало множеству тонких ветвящихся отростков.

Гладкомышечные клетки, покрывающие венулы, имеют относительно большое тело звездчатой формы с множеством ветвящихся отростков, которые, в отличие от артериоллярных гладкомышечных клеток, не наматываются циркулярно вокруг эндотелия.

На рис. 6 Б представлены ультраструктурные характеристики перицитов и перицит-эндотелиальных взаимодействий. При трансмиссионной электронной микроскопии перициты довольно анонимны. Перицит зрелого капилляра (Р) имеет дискообразное ядро, окруженное небольшим количеством цитоплазмы, содержащей митохондрии и органеллы. Микротрубочки тянутся вдоль первичных и вторичных цитоплазматических отростков. Промежуточные волокна, состоящие из десмина и виментина, в основном сконцентрированы внутри первичных отростков. Плотные полосы микрофиламентов, содержащих актин, миозин и тропомиозин, концентрируются под плазматической мембраной, в частности, внутренней поверхности мембраны, обращенной к эндотелию. На внешней аблюминальной поверхности перицита часто видны многочисленные кавеолы. Несмотря на разделение общей базальной мембраной, перициты и эндотелиальные клетки (Е) образуют многочисленные прямые контакты разного типа: схематически изображены контакты типа шипик-гнездо и адгезивные пластинки. Соотношение эндотелиальных клеток к перицитам варьирует в разных органах от 1:1 в головном мозге до 10:1 в скелетных мышцах, в среднем перициты покрывают от 70% до 10% аблюминальной поверхности эндотелия [5].

Установлена секреция перицитами антипролиферативных факторов, к примеру ангиопоэтина-1 (Ang-1), который через рецептор Tie2 на эндотелиальных клетках обеспечивает их стабилизацию. Некоторые перициты могут продуцировать небольшое количество VEGF для обеспечения трофической функции в гомеостазе эндотелия [42].

Перициты, наряду с эндотелиальными клетками, участвуют в синтезе базальной мембраны сосудов, обеспечивающей сопротивле-

ние гидростатическому давлению кровотока. Опухоль-ассоциированные сосуды, в отличие от нормальных, отличаются неравномерностью распределения этих необходимых элементов сосудистой стенки. Одной из возможных причин этого является негативное воздействие VEGF-A на функционирование перицитов и созревание сосудов [5]. В ряде исследований карцином мочевого пузыря, поджелудочной железы и толстой кишки было показано, что слабое развитие слоя перицитов в опухолевых сосудах коррелирует с плохим прогнозом и повышает частоту метастазов [69, 93].

Недавнее исследование частично помогает в понимании этой закономерности. Сооке с соавт. на моделях опухолей мышей с генетическим и фармакологически индуцированным дефицитом перицитов было установлено угнетение роста первичных опухолей, но последнее ассоциировалось с гипоксией, что проводило к активации эпителиально-мезенхимального перехода опухолевых клеток за счёт активации с-Met-рецепторов (рецепторов к гепатоцитарному фактору роста HGF) на мембранах эпителиальных клеток [21]. В эксперименте была установлена повышенная частота развития метастазов.

Результаты клинических наблюдений пациенток с карциномами молочной железы, в которых отмечался низкий процент сосудов, покрытых перицитами, также показали прямую связь с развитием метастазов и более короткую общую выживаемость [21].

В экспериментах на трансплантатах сарком у мышей с помощью лимфангиографии было установлено отсутствие функционирующих лимфатических сосудов в опухоли и увеличение их количества по периферии [60]. Этот феномен можно объяснить значительной механической компрессией, создаваемой делящимися клетками, что ведёт к запустеванию лимфатических каналов в самом опухолевом узле, в тоже время на периферии избыточное количество секретируемого VEGF-C становится причиной их разрастания [51]. Это обеспечивает дренирование интерстициальной жидкости и возможность метастазирования «проскальзывающих» в эту область опухолевых клеток.

Глава 5.

Методики оценки прогностических маркёров в аденокарциномах толстой кишки

По результатам исследования рабочей группы AJCC на 2008 год было обнаружено 176 прогностических инструментов в виде различных формул, баллов риска, калькуляторов, номограмм и пр., целью которых является установление дополнительных независимых прогностических маркёров, позволяющих компенсировать недостатки существующей системы стратификации рисков неблагоприятных исходов. Для прогнозирования выживаемости пациентов с колоректальным раком было предложено 29 таких моделей.

Большинство таких моделей комбинируют информацию от большого количества пациентов по определённым характеристикам опухоли (предикторов) для выявления вероятностной оценки возникновения определённого события, чаще всего исхода, на определённом отрезке времени [84].

Дополнительная персонификация прогноза неблагоприятных исходов особенно необходима в группах пациентов без поражения регионарных лимфатических узлов (I и II стадии), среди которых частота выявления отдалённых метастазов, после радикальной операции, по данным разных авторов, может достигать 10%. Согласно рекомендациям American Society of Clinical Oncology (ASCO), National Comprehensive Cancer Network (NCCN) и European Society for Medical Oncology (ESMO) для аденокарцином толстой кишки к таким доказанным дополнительным неблагоприятным прогностическим факторам относят неадекватную лимфодиссекцию, сосудистую/лимфатическую инвазию, перинеуральную инвазию, низкую степень дифференцировки, обструкцию и перфорацию кишки.

До настоящего момента моделей, прогнозирующих развитие отдалённых метастазов у пациентов с колоректальным раком, не разрабатывалось. Для создания модели, позволяющей наиболее достоверно

оценить риск развития отдалённых метастазов, из спектра прогностических факторов колоректального рака, встречающихся в литературе, нами были отобраны морфологические маркёры вышеописанных ключевых механизмов метастазирования опухолей.

5.1. Экстрамуральная венозная инвазия

Экстрамуральная венозная инвазия относится к независимым прогностическим факторам по результатам множества мультивариабельных исследований и считается прямым фактором риска развития метастазов в печени [8]. Значение интрамуральной венозной инвазии в настоящее время установлено менее четко.

Экстрамуральная венозная инвазия определялась по следующим признакам: «одинокая» артерия (рис. 7) – очерченный узел опухоли, прилежащий к артерии в месте предполагаемой вены, и признак «клина» (рис. 8) – вдающийся в клетчатку, за границы мышечной оболочки, клин опухоли по ходу вены.

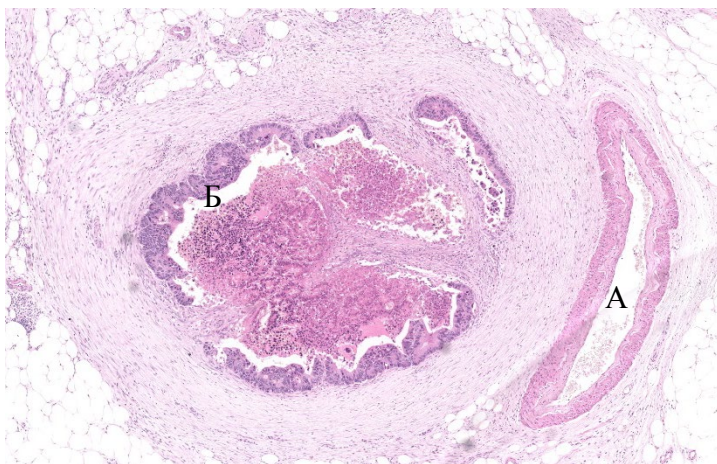


Рис. 7. «Одинокая артерия» (А), вена, просвет которой полностью занимает опухолевая ткань, стенка её фибризирована (Б), окклюзирующий тип. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 5$.

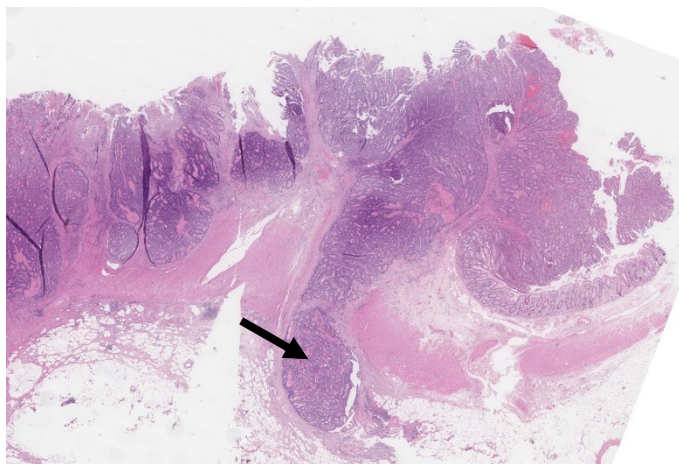


Рис. 8. Распространяющийся по ходу вены за границы мышечной оболочки стенки кишки опухолевый «клин» (стрелка), заполняющий тип. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 5$.

В соответствии с гистологическими особенностями, коррелирующими с рисками метастазирования, экстрамуральную венозную инвазию подразделяют на три варианта: флотирующую, заполняющую и окклюзирующую.

При первом варианте опухолевые структуры свободно располагаются в просвете сосуда, сохраняется просвет между опухолью и эндотелием.

В случае полного заполнения просвета вены с замещением эндотелиальной выстилки опухолью венозную инвазию относят к заполняющему типу.

При окклюзирующем типе инвазии просвет вены также полностью выполнен опухолевыми структурами, но стенка вены значительно повреждена разрастаниями фиброзной ткани и воспалительной инфильтрацией. Вследствие стёртости венозной стенки и полного отсутствия просвета такой тип инвазии часто остаётся невыявленным на рутинных окрасках гематоксилином и эозином.

Убедиться в наличии экстрамуральной венозной инвазии помогают гистохимические методики выявляющие эластические волокна, сохраняющиеся в сосудистой стенке (рис. 9).

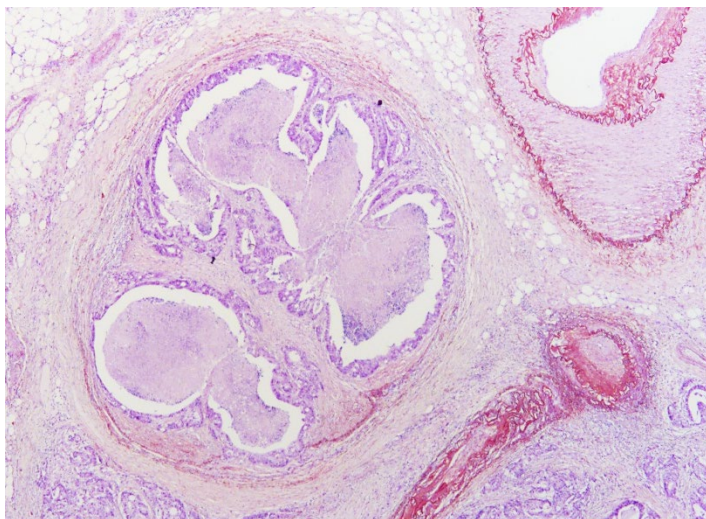


Рис. 9. Гистохимическое выявление эластического каркаса стенки разрушенной вены помогает установить экстрамуральную венозную инвазию. Окраска орсеином, $\times 5$.

5.2. Периневральная инвазия

Периневральная инвазия считается одним из независимых факторов неблагоприятного прогноза [41, 61, 86]. Однако разные работы демонстрируют противоречивые результаты исследований влияния этого фактора в группе пациентов со II стадией [70, 75].

Также считается, что экстрамуральная периневральная инвазия оказывает больший неблагоприятный эффект на прогноз. Тем не менее различия между интрамуральной и экстрамуральной периневральной инвазией изучены недостаточно [86].

Периневральная инвазия определяется по наличию охвата опухолевыми клетками как минимум $1/3$ окружности нерва (рис. 10).

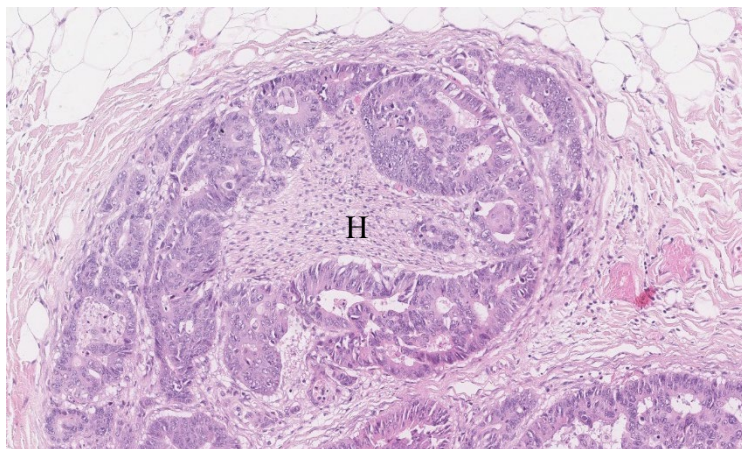


Рис. 10. Нервный пучок (Н) со всех сторон охвачен опухолевыми железами. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 10$.

5.3. Почкование

Большое количество работ посвящено исследованию влияния феномена почкования опухолевых клеток на прогноз колоректального рака. Почкование определяется как одиночные клетки или кластеры до 4-х клеток в инвазивном фронте опухоли, в пределах 1,0 мм от линии инвазии.

Предполагается, что почкование отражает отделение опухолевых клеток на раннем этапе метастатического процесса. По результатам большинства исследований почкование, особенно если оно выраженное, относят к числу факторов высокого риска у пациентов со II стадией, имеющим даже большее прогностическое значение по сравнению со степенью дифференцировки опухоли [76].

Для стандартизации оценки почкования в колоректальных аденокарциномах в 2016 г. состоялся международный консенсус, определивший критерии оценки этого показателя [62].

На первом этапе нужно выбрать препарат с участком опухоли, содержащий наибольшее число отпочковывающихся комплексов. Затем

на среднем увеличении ($\times 10$) определить «горячие точки» в инвазивном фронте (рис. 11).

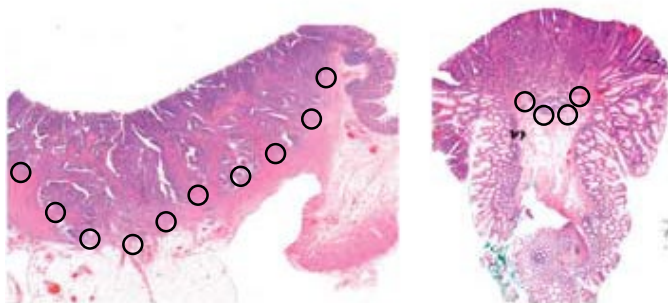


Рис. 11. Оценка не менее 10 полей зрения инвазивного фронта опухоли для выявления участков, содержащих наибольшее число отпочковывающихся опухолевых комплексов. На материале эндоскопических резекций нужно исследовать весь инвазивный фронт (по ИТВСС, 2016).

В выбранной зоне, содержащей наиболее число отпочковывающихся опухолевых комплексов, производится их подсчёт на увеличении $\times 20$ (рис. 12).

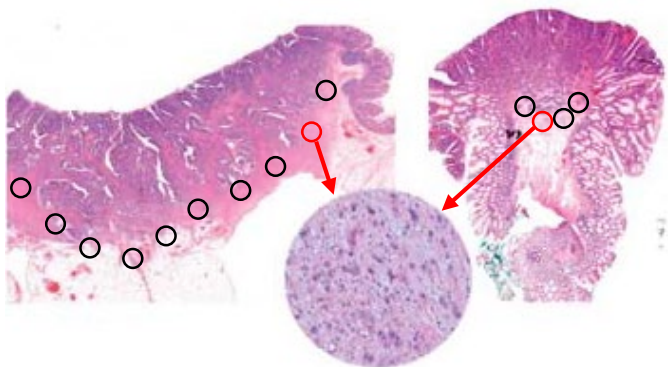


Рис. 12. Подсчет опухолевых комплексов в выбранной «горячей точке» (отмечена красным) (по ИТВСС, 2016).

Для получения результата, стандартизированного на площадь

поля зрения $0,785 \text{ мм}^2$, необходимо разделить полученное при подсчёте число отпочковывающихся опухолевых комплексов на нормализующий фактор для объектива $\times 20$ своего микроскопа, в соответствии с таблицей (табл. 1).

Таблица 1

$$\begin{aligned} & \text{Опухолевые комплексы на } 0,785 \text{ мм}^2 = \\ & = \frac{\text{Число почек на увеличении } \times 20}{\text{Нормализующий фактор}} \end{aligned}$$

Objective magnification: 20		
Eyepiece FN Diameter (mm)	Specimen Area (mm ²)	Normalization Factor
18	0.636	0.810
19	0.709	0.903
20	0.785	1.000
21	0.866	1.103
22	0.950	1.210
23	1.039	1.323
24	1.131	1.440
25	1.227	1.563
26	1.327	1.690

Выбрать категорию почкования по трехбалльной шкале, где к низкой степени выраженности почкования (*low-grade*) относится 0-4 почки на $0,785 \text{ мм}^2$, к средней степени (*intermediate grade*) – 5-9 на $0,785 \text{ мм}^2$, и к высокой степени выраженности почкования (*high-grade*) ≥ 10 на $0,785 \text{ мм}^2$.

Определения типа миграции клеток в опухоли, коллективного или индивидуального (см. выше), предлагается по оценке экспрессии в отпочковывающихся клетках и комплексах белка межклеточной адгезии E-кадгерина и связанного с его цитоплазматической частью β -

катенина, участвующего в сигнальном пути APC / β -катенин.

В нормальных, неизменённых клетках, E-кадгерин и β -катенин иммуногистохимическим методом выявляется на мембранах эпителиальных клеток (рис. 13).

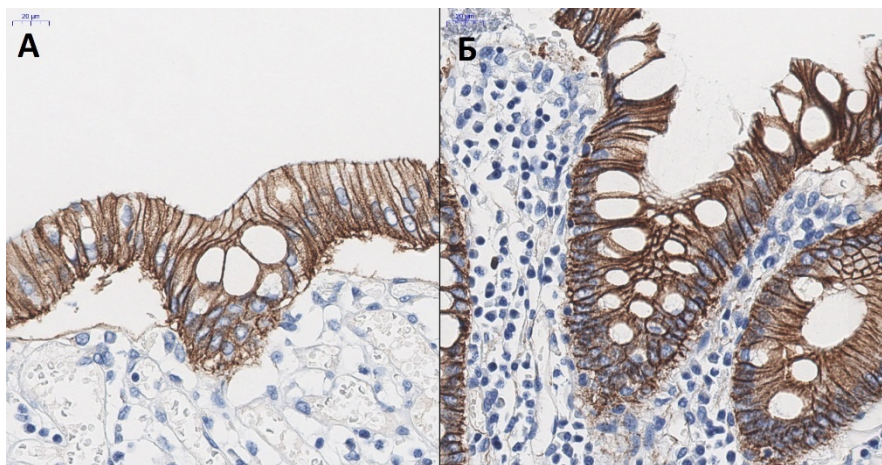


Рис. 13. Эпителий нормальной слизистой оболочки толстой кишки демонстрирует мембранную экспрессию E-кадгерина (А) и β -катенина (Б). Иммуногистохимическое окрашивание, $\times 40$.

Утрата межклеточных контактов приводит к разобщению β -катенина и E-кадгерина, что позволяет β -катенину мигрировать в ядро и стимулировать пролиферацию клеток. Сохранение мембранной экспрессии обоих маркёров в клетках инвазивного фронта свидетельствует о сохранении межклеточных контактов и, следовательно, коллективном типе миграции (рис. 14). Полное отсутствие мембранной экспрессии E-кадгерина, даже при сохранении цитоплазматической окраски, при сочетании с ядерным и/или цитоплазматическим окрашиванием на β -катенин позволяет выявлять индивидуальный тип миграции (рис. 15). Последний тип миграции, как было сказано выше, считается более склонным давать отдалённые метастазы.

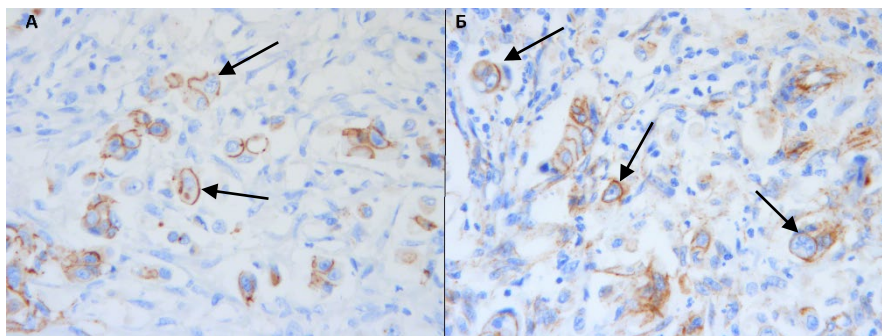


Рис. 14. При коллективном типе миграции в отпочковывающихся клетках опухоли сохраняется мембранная экспрессия E-кадгерина (А) и β -катенина (Б). Иммуногистохимическое окрашивание, $\times 40$.

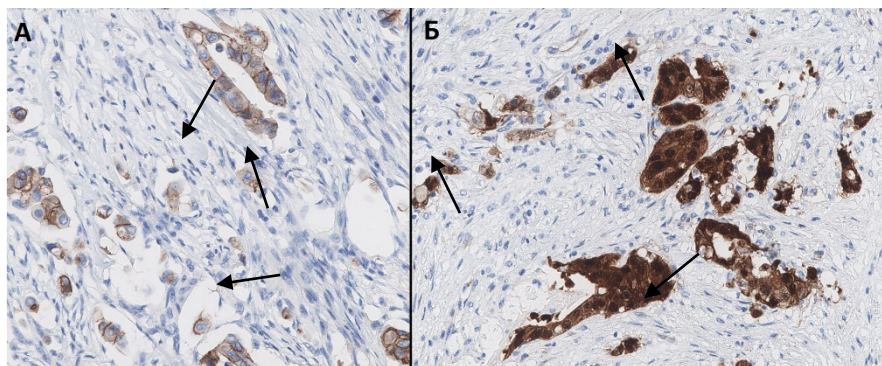


Рис. 15. Индивидуальный тип миграции отличается утратой белка межклеточной адгезии E-кадгерина (А) и ядерной миграцией ассоциированного с ним β -катенина (Б). Иммуногистохимическое окрашивание, $\times 20$.

5.4. Строма

Для оценки соотношения стромы и паренхимы в опухоли наиболее проста и воспроизводима в практическом применении система по критериям Park с соавт [73].

Наиболее инвазивная область опухоли выбирается на обзорном увеличении объектива $\times 5$, при последующем приближении $\times 10$ вы-

бирается поле зрения с наличием паренхимы и стромы, причем опухолевые клетки должны присутствовать на 12-ти, 3-х, 6-ти и 9-ти часах условного циферблата. Проводится полуколичественная оценка процента стромы в выбранном поле зрения. Результаты распределяются по двум группам: с высоким процентом стромы $>50\%$ и низким процентом стромы $\leq 50\%$ (рис. 16).

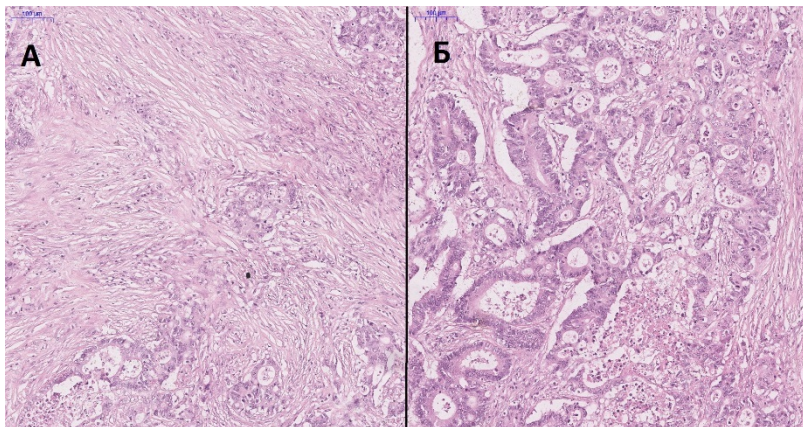


Рис. 16. Оценка процента стромы.

А. Инвазивный фронт опухоли с высоким процентом стромы (90%).

Б. Опухоль с низким процентом стромы (10%). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 10$.

Опухоли, имеющие больший процент стромы, отличаются менее благоприятным прогнозом. Большое содержание стромы способствует ЭМП, что выражается выраженным почкованием, инвазией в лимфатические и кровеносные сосуды.

5.5. Воспалительный инфильтрат

Оценку воспалительного инфильтрата в опухоли можно проводить количественными и качественными методиками.

Для полуколичественной оценки плотности воспалительного инфильтрата зарекомендовала себя модифицированная схема Klintrup-Mäkinen, предложенная в 2005 г. [54].

Воспалительная реакция, включающая все типы лимфоидных клеток, оценивается на периферии опухоли с использованием трёх-балльной шкалы (рис. 17).

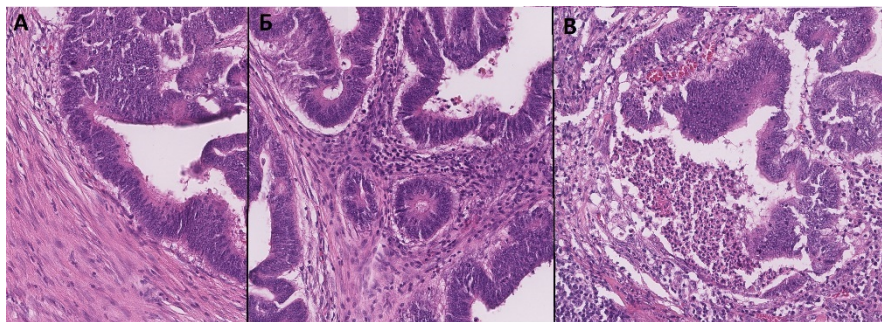


Рис. 17. Спектр воспалительной клеточной реакции в инвазивном фронте.

А. Отсутствие воспалительной инфильтрации, единичные лимфоциты в строме.

Б. Умеренная воспалительная инфильтрация стромы.

В. Выраженная инфильтрация стромы воспалительными клетками, преимущественно нейтрофилами, разрушающая инвазивные островки опухоли. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 20$.

Отсутствие воспалительной реакции расценивается как 0 баллов (рис. 17 А).

Слабовыраженная и очаговая воспалительная инфильтрация (*low-grade*) без деструкции желёз опухоли оценивается на 1 балл (рис. 17 Б).

Выраженная воспалительная инфильтрация (*high-grade*) с деструкцией желёз – 2 балла соответственно (рис. 17 В).

Международная рабочая группа по биомаркерам в иммуноонко-

логии под руководством Roberto Salgado предложила свою стандартизованную схему оценки иммунного инфильтрата в опухолевой строме [45, 46].

Изначально эта модель разрабатывалась для аденокарцином молочной железы, однако в дальнейшем нашла своё применение и в других солидных опухолях.

Опухоль инфильтрирующие лимфоциты – ТИЛ (от англ. Tumor-infiltrating Lymphocytes) оцениваются в строме инвазивного края опухоли, который определяется как участок шириной в 1 миллиметр, отделяющий окружающие ткани от опухолевых клеток. Интраэпителиальные лимфоциты и лимфоидные агрегаты не учитываются (рис. 18).

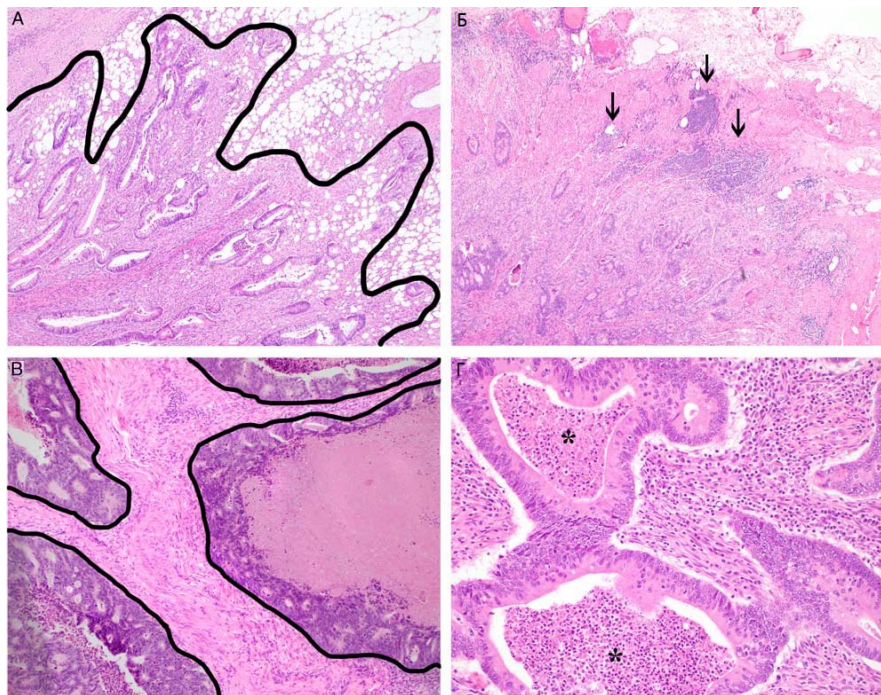


Рис. 18. Оценка ТИЛ в колоректальном раке с использованием стандартной методики.

А. Оцениваются только ТИЛ в границах инвазивной опухоли (обведены).

Б. Иммунный инфильтрат за пределами опухоли, включая лимфоидные агрегаты (стрелки), исключены.

В. Оцениваются только стромальные лимфоциты. Лимфоциты в эпителиальном компоненте опухоли (заштрихованы), не включаются в оценку.

Г. Учитываются только стромальные мононуклеарные воспалительные клетки (лимфоциты и плазматические клетки). Нейтрофилы как в зонах «грязных некрозов» (отмечены*), характерных для колоректального рака, так и в других областях, включая перитуморальные абсцессы, не включаются. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 10$.

Производится оценка среднего процента иммунного инфильтрата в строме визуально, на глаз, без сосредоточения на «горячих точках». Для калибровки предлагаются стандартизированные схемы (рис. 19). Установлено, что опухоли с высоким процентом инфильтрации (более 40%) имеют более благоприятный прогноз.

Оценка качественного состава иммунного инфильтрата опухолевого микроокружения, а именно Т-лимфоцитов, как компонентов клеточного иммунитета, имеющего наибольшее влияние в сдерживании опухолевого роста, разработано Franck Pagès и Jérôme Galon и нашло своё отражение в системе Immunoscore [96].

Для этого проводится оценка плотности CD3+ и CD8+ Т-лимфоцитов на 1 мм² в центре и на периферии опухоли (рис. 20) с последующим выставлением баллов от 0 (I0) – если в опухоли отмечается низкая плотность иммунных клеток, до 4 (I4) – если плотность Т-лимфоцитов высокая во всех областях.

Установлено, что рецидивы опухоли отмечаются только у 4,8% пациентов с высоким индексом (I4).

Напротив, с низким баллом (I0 и I1) наблюдается рецидив опухоли у 72% пациентов [35].

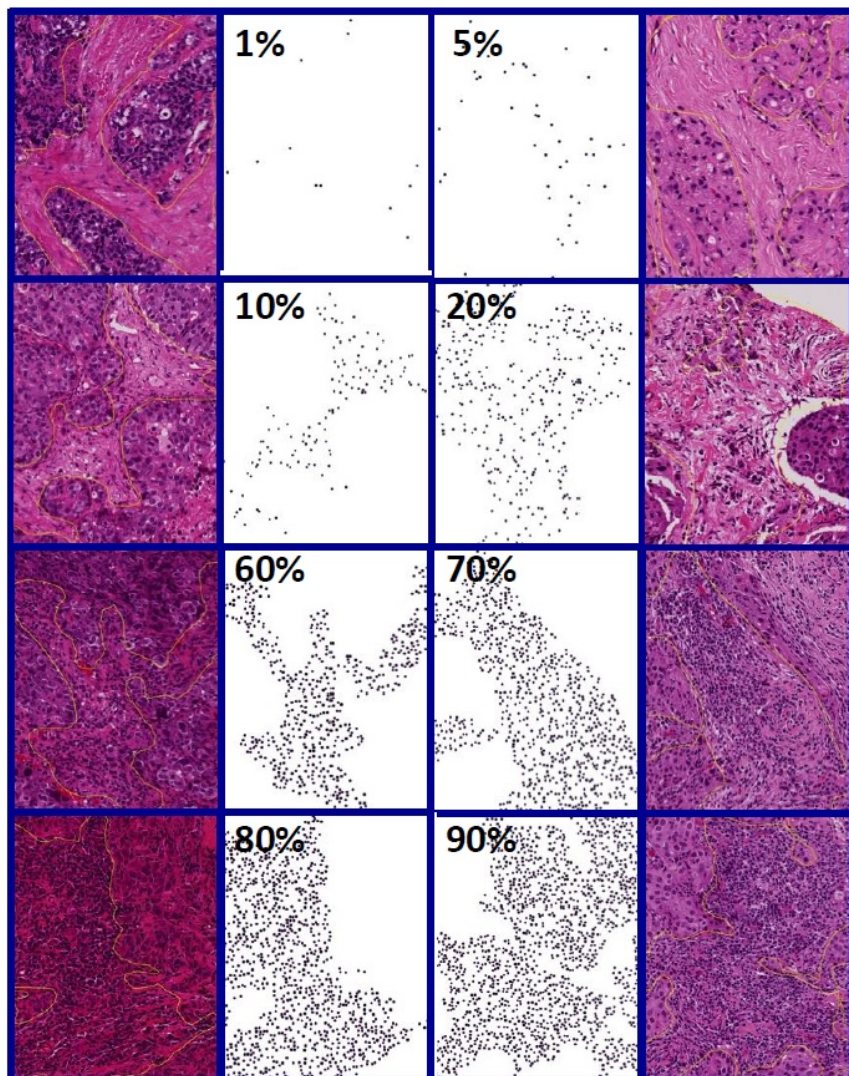


Рис. 19. Визуально-аналоговая таблица, позволяющая оценить процент воспалительной инфильтрации в опухолевой строме (по Roberto Salgado, 2014).

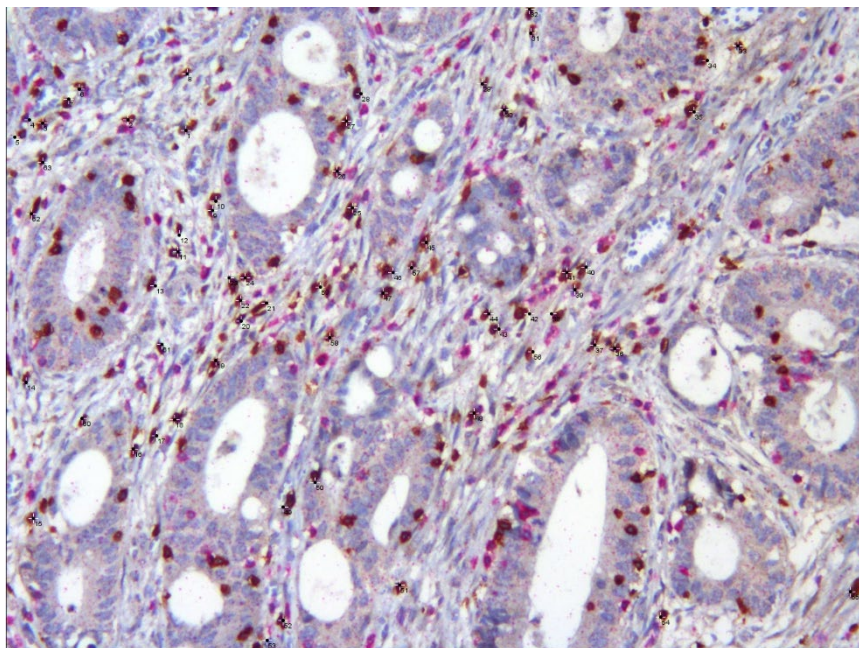


Рис. 20. Подсчёт цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+, меченных коричневым хромогеном с помощью программы ImageJ. Общий Т-лимфоцитарный маркёр CD3 окрашен красной меткой на том же срезе. Иммуногистохимическое окрашивание, $\times 20$.

5.6. Микроциркуляторное русло

В микрососудистом русле опухоли оценивается доля капилляров с неполноценной стенкой, лишенных перicyтарного окружения, к общему числу кровеносных микрососудов. С помощью тройной иммуногистохимической окраски с антителами к ERG – антигену ядер эндотелиальных клеток как кровеносных, так и лимфатических сосудов; SMA – антигену, выявляющему гладкомышечный актин в цитоплазме перicyтов; и Podoplanin (D2-40) – антигену, специфичному к эндотелию лимфатических сосудов (рис. 21).

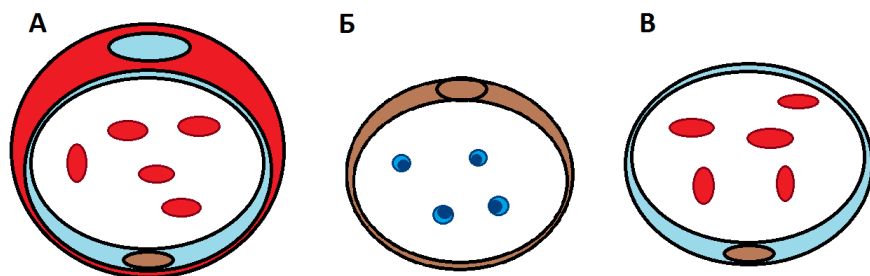


Рис. 21. Схематичное изображение нормальных капилляров (А), лимфатических сосудов (Б) и неполноценных новообразованных опухолевых капилляров (В), выявляемых с использованием тройной иммуногистохимической окраски.

Ядра эндотелиальных клеток сосудов всех типов окрашены в коричневый цвет анти-ERG-антителом.

Перициты капилляров выявляются анти-SMA-антителом, отмеченным красной меткой.

Цитоплазма лимфатических эндотелиоцитов окрашивается в коричневый цвет анти-Podoplanin-антителом.

На первом этапе необходимо оценить правильность проведенного окрашивания. Для этого выбирают участок нормальной ткани на удалении от опухоли.

При увеличении объектива $\times 40$ находят сосуды капиллярного типа и лимфатические сосуды (рис. 22).

Кровеносные сосуды определяются по наличию в их просвете эритроцитов, просветы лимфатических сосудов могут содержать лимфоциты или быть пустыми.

Дифференцированная окраска лимфатических капилляров необходима для их исключения из подсчета. Если окраска прошла правильно, то кровеносные капилляры отличаются красным контуром в отличие от коричневого контура лимфатических сосудов.

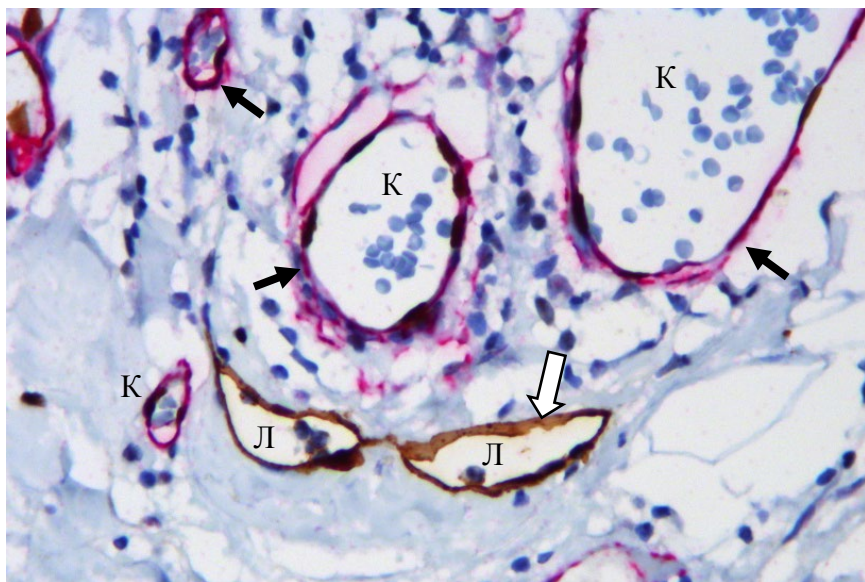


Рис. 22. «Тройная окраска» в нормальной ткани.

Ядра эндотелиальных клеток кровеносных (К) и лимфатических (Л) капилляров окрашены в коричневый цвет.

Контур из окрашенных в красный цвет перicyтов выявляются вокруг кровеносных сосудов (черная стрелка).

Окрашенная в коричневый цвет цитоплазма эндотелиальных клеток определяется коричневым контуром лимфатических сосудов (белая стрелка). Иммуногистохимическое окрашивание, $\times 40$.

Перемещаясь вдоль инвазивного фронта опухоли, находят участки с наиболее выраженным микроциркуляторным руслом. Новообразованные сосуды в опухоли будут легко отличимы от щелевидных ретракционных артефактов стромы не только по наличию в их просвете эритроцитов, но и по ядрам эндотелиальных клеток, выстилающих первые (рис. 23).

Производят подсчёт общего числа микрососудов, исключая лимфатические, на площади в 1 мм^2 . Определяют, какое количество из них приходится на сосуды без перicyтов. В ряде исследований отмечалась

прямая связь низкого процента сосудов, покрытых перицитами, с развитием метастазов.

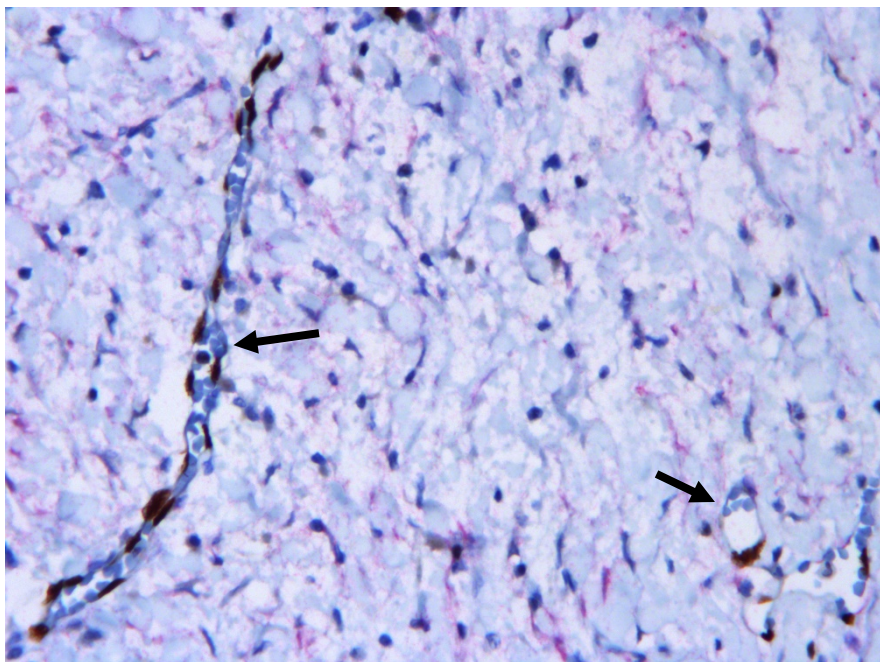


Рис. 23. Новообразованные кровеносные сосуды в опухолевой строме лишены перицитарной выстилки и сохраняют только контур их эндотелиальных клеток, выявляемых по ядрам, окрашенным в коричневый цвет анти-ERG. Иммуногистохимическое окрашивание, $\times 40$.

Контрольные вопросы:

- 1 Канцерогенез. Основные типы канцерогенов.
- 2 Современные представления о гетеротипической клеточной биологии опухолей.
- 3 Признаки злокачественности опухоли.
- 4 Метастазирование опухолей. Основные виды метастазирования.
- 5 Гипотезы становления метастатического фенотипа.
- 6 Этапы метастатического каскада.
- 7 Синхронные и метакронные метастазы.
- 8 Миграция опухолевых клеток, виды и механизмы.
- 9 Сосудистая диссеминация. Механизмы защиты опухолевых клеток от разрушения.
- 10 Этап колонизации в метастазировании опухоли.
- 11 Теория «семян и почвы» Стивена Пэджета, основные положения.
- 12 Опухолевое микроокружение. Понятие, составляющие.
- 13 Экстрацеллюлярный матрикс в опухоли. Особенности, отличия от нормальных тканей организма.
- 14 Фибробласты. Роль в канцерогенезе.
- 15 Ангиогенез в норме и патологии. Особенности ангиогенеза в опухолях.
- 16 Эпителиально-мезенхимальный переход. Понятие. Основные этапы.
- 17 Мезенхимально-эпителиальный переход.
- 18 Межклеточная адгезия. Механизмы, биологическое значение.
- 19 Современные представления о работе иммунной системы. Виды иммунитета.
- 20 Клетки иммунной системы, обеспечивающие врожденный иммунитет.

21 Клетки иммунной системы, обеспечивающие приобретённый иммунитет. Принципы распознавания чужеродных агентов клетками приобретенного звена иммунитета.

22 Противоопухолевый иммунитет.

23 Механизмы ускользания опухоли от иммунологического надзора.

24 Фагоцитоз. Клеточные и молекулярные механизмы фагоцитоза. Роль фагоцитоза в иммунной защите.

25 Роль супрессорных клеток миелоидного происхождения в противоопухолевом иммунитете.

26 Особенности распознавания антигенов рецепторами В- и Т-клеток.

27 Роль нейтрофильных гранулоцитов в противоопухолевом иммунитете.

28 Роль различных популяций Т-лимфоцитов (CD4+, CD8+, Treg) в противоопухолевом иммунитете.

29 Иммунологическая память.

30 Роль гуморального иммунного ответа в борьбе с опухолью.

31 Цитотоксический тип клеточного иммунного ответа.

32 Развитие цитотоксических Т-лимфоцитов, их маркёры.

33 Т-лимфоциты хелперы и их роль в поддержании иммунного гомеостаза. Маркёры Т-лимфоцитов-хелперов.

34 Клеточные компоненты врожденного и приобретенного противоопухолевого иммунного ответа.

35 Антигены, ассоциированные с опухолью.

36 Оценка противоопухолевого иммунного ответа морфологическими методами.

37 Стволовые клетки. Классификация. Теории об «Опухолевых стволовых клетках».

38 Нарушение механизмов апоптоза в опухолевых клетках.

39 Клеточный цикл. Контрольные точки клеточного цикла и канцерогенез.

- 40 Перициты, определение, структура, функция.
- 41 Особенности строения сосудов микроциркуляторного русла в норме и в опухолях.
- 42 Лимфатическое русло. Особенности организации в опухолях.
- 43 Макрофаги. Типы макрофагов в зависимости от дифференцировки. Роль макрофагов 1 и 2 типов в регенерации и отличие от канцерогенеза.
- 44 Феномен почкования в опухоли. Критерии, значение для прогноза.
- 45 Особенности иммуногистохимических реакций (Е-кадгерин, β -катенин, Ki67) в отпочковывающихся структурах колоректального рака.
- 46 Сосудистая инвазия опухоли. Типы сосудистой инвазии.
- 47 Экстрамуральная венозная инвазия. Определение. Варианты, роль в прогнозе.
- 48 Перинеуральная инвазия. Определение, критерии, прогностическое значение.
- 49 Соотношение стромы и паренхимы в опухоли. Влияние на прогноз. Методики оценки.
- 50 Количественные методы оценки воспалительного инфильтрата в опухоли.
- 51 Качественные методики оценки воспалительного инфильтрата в опухоли.
- 52 Стадирование опухолей по системе TNM. Основные принципы.
- 53 Оценка степени гистологической злокачественности в колоректальных карциномах.
- 54 Гистологическая классификация опухолей толстой кишки.
- 55 Наследственные формы аденокарциномы толстой кишки.
- 56 Микросателлитная нестабильность. Определение, значение для прогноза колоректальных карцином. Морфологические признаки

микросателлитной нестабильности.

57 Гистологическое строение стенки толстой кишки. Особенности анатомии отделов толстой кишки. Влияние локализации опухоли на прогноз колоректального рака.

58 Эпидемиология колоректальных карцином.

59 Морфологические (в т. ч. иммуногистохимические) признаки метастазов колоректального рака.

60 Отличия строения кровеносных и лимфатических капилляров. Иммуногистохимическая характеристика.

Тестовые задания:

Инструкция: выберите один или несколько правильных ответов

1. Кто впервые ввёл в употребление термин «Метастаз»

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	Жан Клод Рекамье	+
б	Джеймс Пэджет	
в	Стивен Пэджет	
г	Рудольф Вирхов	
д	Карл Фаберже	

2. Кем предложена гипотеза «семян и почвы» для объяснения избирательности поражения органов метастазами

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	Рудольф Вирхов	
б	Стивен Пэджет	+
в	Джеймс Пэджет	
г	Джеймс Юинг	
д	Жан Клод Рекамье	

3. Биологические маркёры злокачественной опухоли

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	инвазия	+
б	периневральный рост	
в	метастазирование	+
г	уклонение от иммунитета	

4. Оценку дифференцировки зрелых дендритных клеток производят по уровню экспрессии следующих иммунофенотипических маркёров

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD56	
б	CD86	+
в	CD83	+
г	CD80	+
д	CD3	
е	CD14	

5. К основным свойствам опухолевых клеток относятся все, кроме

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	автономность роста	
б	нечувствительность к сигналам, ингибирующим рост	
в	уклонение от апоптоза	
г	безграничный потенциал репликации	
д	стимуляция аутоиммунных процессов	+
е	способность к инвазии и метастазированию	
ж	нарушение восстановления ДНК	
з	постоянно поддерживаемый ангиогенез	

6. Этапы метастатического каскада

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	инвазия	+
б	сосудистая диссеминация	+
в	уклонение от иммунитета	
г	колонизация	+
д	пролиферация	

7. Основные пути метастазирования опухолей

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	гематогенный	+
б	лимфогенный	+
в	трансплацентарный	
г	трансцеломический	+
д	периневральный	

8. Основная функция дендритных клеток в организме человека

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	активация комплемента по альтернативному пути	
б	формирование иммунологической памяти	
в	презентация антигенов Т-лимфоцитам	+
г	непосредственное уничтожение опухолевых клеток	

9. Гены, контролирующие деление клеток, делятся на

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	онкогены	+
б	гены-супрессоры опухоли	+
в	гены медиаторы	
г	транслирующие гены	

10. К белкам межклеточной адгезии эпителия относится

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	галектин	
б	Е-кадгерин	+
в	виментин	
г	В-катенин	

11. К процессам инвазии относятся все, кроме

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	нарушение межклеточных соединений	
б	деградация внеклеточного матрикса	
в	миграция опухолевых клеток	
г	экстравазация	+

12. Какой тип коллагена составляет эпителиальную и сосудистую базальную мембрану

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	коллаген I	
б	коллаген II	
в	коллаген III	
г	коллаген IV	+

13. Какие типы миграции опухолевых клеток выделяют

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	коллективный	+
б	индивидуальный	+
в	сцепленный	
г	рассеивающий	

14. Какие выделяют виды индивидуальной миграции

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	амёбoidalный	+
б	ламинарный	
в	мезенхимальный	+
г	сократительный	

15. Какой тип миграции опухолевых клеток не сопровождается ремоделированием межклеточного матрикса

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	коллективный	
б	амёбoidalный	+
в	мезенхимальный	
г	индивидуальный	

16. Как называют длительное состояние покоя метастатических клеток

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	латентные метастазы	+
б	микрометастазы	
в	инертные метастазы	
г	супрессированные метастазы	

17. Какие из генов-супрессоров снижают экспрессию E-кадгерина

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	SNAIL	+
б	P53	
в	TWIST	+
г	MDM2	
л	Rb	

18. К белкам репарации ДНК относятся все, кроме

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	MLH1	
б	MLH2	+
в	MSH6	
г	MSH2	
д	PMS2	

19. Незрелые дендритные клетки экспрессируют

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD56	
б	CD14	
в	CD1a	+
г	CD86	+
д	CD3	

20. Функциональные подтипы дендритных клеток

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	регуляторные	
б	миелоидные	+
в	цитотоксические	
г	плазмоцитоидные	+
д	фолликулярные	+

21. Основные клетки-эффекторы противоопухолевого иммунитета

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	макрофаги	+
б	NK-клетки	+
в	эозинофилы	
г	CD8+ Т-лимфоциты	+
д	тучные клетки	

22. Выявление популяции лимфоцитов проводится по экспрессии

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD14	
б	CD45	+
в	CD16	
г	CD56	

23. Где располагается перичит по отношению к базальной мембране сосуда

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	снаружи от базальной мембраны	
б	внутри базальной мембраны	+
в	под базальной мембраной	

24. Анализ основных популяций Т-лимфоцитов проводится на основании оценки экспрессии

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD19/CD20/CD22	
б	CD45/CD14	
в	CD3/CD4/CD8	+
г	CD16/CD56	

25. Миофибробласты отличаются наличием этого компонента цитоскелета

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	гладкомышечный актин	+
б	виментин	
в	цитокератин	
г	десмин	

26. Какой иммуногистохимический маркер помогает выявить миофибробласты

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	Vimentin	
б	SMA	+
в	Cytokeratin	
г	Desmin	

27. Основной белок, стимулирующий ангиогенез

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	TGF	
б	VEGF	+
в	IGF	
г	HGF	

28. Каким иммуногистохимическим маркером специфически выявляются эндотелиальные клетки лимфатических сосудов

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	ERG	
б	Podoplanin	+
в	CD31	
г	CD34	

29. Цитотоксические Т-лимфоциты характеризуются следующим иммунофенотипом

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD3+CD4+	
б	CD16+CD56+	
в	CD3+CD8+	+
г	CD14+CD45+	

30. Каким ядерным иммуногистохимическим маркером красятся эндотелиальные клетки всех типов сосудов

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	CD34	
б	ERG	+
в	CD31	
г	Vimentin	
д	WT1	

31. С помощью какого иммуногистохимического маркера можно выявить перипциты

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	Vimentin	
б	SMA	+
в	ERG	
г	D2-40	

32. К ключевым признакам экстрамуральной венозной инвазии относят

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	феномен «одинокой артерии»	+
б	десмопластическую реакцию	
в	феномен «клина»	+
г	метастазы в лимфатических узлах	

33. Минимальным достоверным признаком периневральной инвазии считается

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	охват не менее 1/3 окружности нерва	+
б	охват не менее 1/2 окружности нерва	
в	только охват всей окружности нерва	

34. Какие выделяют типы экстрамуральной венозной инвазии

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	флотирующий	+
б	клиновидный	
в	заполняющий	+
г	окклюзирующий	+

35. Почкование определяют, как

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	одиночные клетки	+
б	кластеры до 4-х клеток	+
в	комплексы более 5 клеток	
г	микропапиллы без стромы на поверхности ворсинок	

36. Феномен почкования в колоректальных карциномах оценивается

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	на поверхности опухоли, ближе к просвету кишки	
б	в центре опухоли	
в	в инвазивном фронте опухоли	+
г	на границе с нормальной слизистой оболочкой	

37. Подсчёт отпочковывающихся комплексов производят на этом увеличении объектива

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	× 5	
б	× 10	
в	× 20	+
г	× 40	

38. К опухоль инфильтрирующим лимфоцитам (TIL) относят

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	клетки вокруг некрозов	
б	интраэпителиальные лимфоциты	
в	лимфоциты в строме опухоли	+
г	лимфоциты в окружающей опухоль ткани	

39. Эпителиально-мезенхимальный переход в колоректальных карциномах отождествляют с этим признаком

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	феномен почкования	+
б	перинеуральная инвазия	
в	лимфоваскулярная инвазия	
г	экстрамуральная венозная инвазия	

40. Индивидуальный тип миграции в опухоли отличается следующим сочетанием экспрессии Е-кадгерина и β -катенина

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	Е-кадгерин мембранный / β -катенин мембранный	
б	Е-кадгерин мембранный / β -катенин ядерный	
в	Е-кадгерин отсутствует / β -катенин ядерный	+
г	Е-кадгерин ядерный / β -катенин мембранный	

41. Типы клеток, относящиеся к опухоли инфильтрирующим лимфоцитам (TIL)

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	лимфоциты	+
б	плазмоциты	+
в	гранулоциты	
г	макрофаги	

42. Воспалительный инфильтрат в опухоли оценивают с помощью

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	качественных методик	+
б	логарифмических методик	
в	количественных методик	+
г	протоцитометрических методик	

43. Какой паттерн экспрессии имеет β -катенин в нормальном эпителии

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	ядерный	
б	цитоплазматический	
в	мембранный	+
г	нет экспрессии	

44. В кровеносных сосудах микроциркуляторного русла опухоли нет этого типа клеток

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	эндотелиальная	
б	гладкомышечная	+
в	перидит	+
г	фибробласт	+

45. Какой паттерн экспрессии имеет E-кадгерин в нормальном эпителии

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	ядерный	
б	цитоплазматический	
в	мембранный	+
г	нет экспрессии	

46. Какие маркёры характеризуют эпителиальный фенотип клетки

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	E-кадгерин	+
б	N-кадгерин	
в	цитокератин	+
г	виментин	

47. Какие маркёры характеризуют мезенхимальный фенотип клетки

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	E-кадгерин	
б	N-кадгерин	+
в	цитокератин	
г	виментин	+

48. Во время миграции на «лидирующем» конце клетки происходит

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	ретракция	
б	разрушение связей с матриксом	
в	адгезия внеклеточного матрикса	+
г	деградация матрикса	+
д	протрузия цитоплазмы	+

49. Вид апоптоза вследствие утраты адгезии с другими клетками

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	некроз	
б	аноикос	+
в	осмос	
г	деградация	

50. Какой тип макрофагов обладает проопухоловой активностью

Поле для выбора ответа	Варианты ответов	Поле для отметки правильного ответа (+)
а	M1, классически-активированные	
б	M2, альтернативно-активированные	+
в	гистиоцитарные	
г	гигантские многоядерные	

Список литературы

1. Воробьев А. А., Быков А. С., Караулова А. В. Иммунология и аллергология: цветной атлас. М.: Практическая медицина, 2006. – 288 с.
2. Гаршин В. Г. Воспалительные разрастания эпителия, их биологическое значение и отношение к проблеме рака. – М.: Медгиз, 1939. – 129 с.
3. Ковалева О. В., Ефремов Г. Д., Михайленко Д. С., Алексеев Б. Я., Грачев А. Н. Роль макрофагов, ассоциированных с опухолью, в патогенезе почечноклеточного рака // Онкоурология. – 2013. – Т. 13. – С. 20-26.
4. Archetti M., Pienta K. J. Cooperation among cancer cells: applying game theory to cancer // Nature Reviews Cancer. – 2019. – Vol. 19. – P. 110-117.
5. Armulik A., Genove G., Betsholtz C. Pericytes: Developmental, Physiological, and Pathological Perspectives, Problems, and Promises // Developmental Cell. – 2011. – Vol. 21. – P. 193-215.
6. Balkwill F. R., Capasso M., Hagemann T. The tumor microenvironment at a glance // J. Cell Sci. – 2012. – Vol. 125. – P. 5591-5596.
7. Bergfeld S. A., DeClerck Y. A. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells and the tumor microenvironment // Cancer Metastasis Rev. – 2010. – Vol. 29, №2. – P. 249-261.
8. Betge J., Pollheimer M. J., Lindtner R. A. et al. Intramural and extramural vascular invasion in colorectal cancer: prognostic significance and quality of pathology reporting // Cancer. – 2012. – Vol. 118, № 3. – P. 628-638.
9. Boehmer von H., Daniel C. Therapeutic opportunities for manipulating T(Reg) cells in autoimmunity and cancer // Nat. Rev. Drug Discov. – 2013. – Vol. 12. – P. 51-63.

10. Broders A. C. Milestones in a Medical Career [unpublished memoir] // Available at: History of Medicine Library, Mayo Foundation, Rochester, MN (MHU No. 0670). – 1960. – P. 74.
11. Broders A. C. Squamous cell cancer of the lip: a study of five hundred and thirty-seven cases // JAMA. – 1920. – Vol. 74. – P. 656-664.
12. Broders A. C., Buie L. A., Laird D. R. Prognosis in carcinoma of the rectum: a comparison of the Broders and Dukes methods of classification // JAMA. – 1940. – Vol. 115. – P. 1066-1071.
13. Bronsert P., Enderle-Ammour K., Bader M., Timme S., Kuehs M., Csanadi A., Kayser G., Kohler I., Bausch D., Hoepfner J., Hopt U. T., Keck T., Stickeler E., Passlick B., Schilling O., Reiss C. P., Vashist Y., Brabletz T., Berger J., Lotz J., Olesch J., Werner M., Wellner U. F. Cancer cell invasion and EMT marker expression: a three-dimensional study of the human cancer-host interface // J. Pathol. – 2014. – Vol. 234, №3. – P. 410-422.
14. Carmeliet P., Jain R. K. Angiogenesis in cancer and other diseases // Nature. – 2000. – Vol. 407, № 6801. – P. 249-257.
15. Chang C., Werb Z. The many faces of metalloproteases: cell growth, invasion, angiogenesis and metastasis // Trends Cell Biol. – 2001. – Vol. 11, № 11. – P. 37-43.
16. Chanmee T., Ontong P., Konno K., Itano N. Tumor-Associated Macrophages as Major Players in the Tumor Microenvironment // Cancers. – 2014. – Vol. 6. – P. 1670-1690.
17. Clark A. G., Vignjevic D. M. Modes of cancer cell invasion and the role of the microenvironment // Current Opinion in Cell Biology. – 2015. – Vol. 36. – P. 13-22.
18. Colon Cancer. Version 1 // Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN). – 2018.
19. Colon Cancer. Version 1 // Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN). – 2020.

20. Condeelis J. Pollard J. W. Macrophages: obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis // *Cell*. – 2006. – Vol. 124. – P. 263-266.

21. Cooke V. G., LeBleu V. S., Keskin D., Khan Z., O'Connell J. T., Teng Y., Duncan M. B., Xie L., Maeda G., Vong S. et al. Pericyte depletion results in hypoxia-associated epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis mediated by met signaling pathway // *Cancer Cell*. – 2012. – Vol. 21. – P. 66-81.

22. DeNardo D. G., Andreu P., Coussens L. M. Interactions between lymphocytes and myeloid cells regulate pro- versus anti-tumor immunity // *Cancer Metastasis Rev.* – 2010. – Vol, 29, № 2. – P. 309-316.

23. Dukes C. Histological grading of rectal cancer // *Proc. Royal Soc. Med.* – 1936. – Vol. 30. – P. 371-376.

24. Dvorak H. F. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between tumor stroma generation and wound healing // *N. Engl. J. Med.* – 1986. – Vol. 315, № 26. – P. 1650-1659.

25. Ehrbar M., Sala A., Lienemann P., Ranga A., Mosiewicz K., Bittermann A., Rizzi S. C., Weber F. E., Lutolf M. P. Elucidating the role of matrix stiffness in 3D cell migration and remodeling // *Biophys J.* – 2011. – Vol. 100, № 2. – P. 284-293.

26. Ewing J. *Neoplastic Diseases: A Treatise on Tumors*. 3rd ed. // WB Saunders; Philadelphia. – 1928.

27. Fidler I. J., Kripke M. L. Metastasis results from preexisting variant cells within a malignant tumor // *Science*. – 1977. – Vol. 197. – P. 893-895.

28. Frantz C., Stewart K. M., Weaver V. M. The extracellular matrix at a glance // *J. Cell Sci.* – 2010. – Vol. 123. – P. 4195-4200.

29. Freeman M. R., Li Q., Chung L. W. K. Can stroma reaction predict cancer lethality? // *Clin. Cancer Res.* – 2013. – Vol. 19, № 18. – P. 4905-4907.

30. Frey D. M., Droeser R. A., Viehl C. T., Zlobec I., Lugli A., Zingg U. et al. High frequency of tumor-infiltrating FOXP3(+) regulatory T cells

predicts improved survival in mismatch repair-proficient colorectal cancer patients // *Int. J. Cancer.* – 2010. – Vol. 126. – P. 2635-2643.

31. Fridman W. H., Page's F., Saute's-Fridman C., Galon, J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome // *Nat. Rev. Cancer.* – 2012. – Vol. 12, № 4. – P. 298-306.

32. Friedl P., Stephanie A. S. Cancer Invasion and the Microenvironment: Plasticity and Reciprocity // *Cell.* – 2011. – Vol. 147, № 23. – P. 992-1009.

33. Friedl P., Wolf K., Lammerding J. Nuclear mechanics during cell migration // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 2011. – Vol. 23, №1. – P. 55-64.

34. Gabrilovich D. I. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system // *Rev. Immunol.* – 2009. – Vol. 9, № 3. – P. 162-174.

35. Galon J., Mlecnik B., Bindea G., Angell H. K., Berger A. et al. Towards the introduction of the 'Immunoscore' in the classification of malignant tumours // *J. Pathol.* – 2014. – Vol. 232. – P. 199-209.

36. Galon J., Pages F., Marincola F. M., Thurin M., Trinchieri G., Fox B. A., Gajewski T. F., Ascierto P. A. The Immune Score as a New Possible Approach for the Classification of Cancer // *J. Transl. Med.* – 2012. – Vol. 10, № 1 [Epub ahead of print].

37. Gervasoni J. E. Jr., Sbayi S., Cady B. Role of lymphadenectomy in surgical treatment of solid tumors: an update on the clinical data // *Ann. Surg. Oncol.* – 2007. – Vol. 14, № 9. – P. 2443-2462.

38. Global Cancer Observatory Globocan // IARC. <https://gco.iarc.fr/>

39. Goerdt S., Orfanos C.E. Other functions, other genes: alternative activation of antigenpresenting cells // *Immunity.* – 1999. – Vol. 10, № 2. – P. 137-142.

40. Goerdt S., Politz O., Schledzewski K. et al. Alternative versus classical activation of macrophages // *Pathobiology.* – 1999. – Vol. 67, № 5-6. – P. 222-226.

41. Gomez D., Zaitoun A. M., De Rosa A. et al. Critical review of the prognostic significance of pathological variables in patients undergoing resection for colorectal liver metastases // *HPB, Oxford*. – 2014. – Vol. 16, № 9. – P. 836-844.

42. Hanahan D., Weinberg R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation // *Cell*. – 2011. – Vol. 144, № 4. – P. 646-674.

43. Hart I. R., Fidler I. J. Role of organ selectivity in the determination of metastatic patterns of B16 melanoma // *Cancer Res*. – 1980. – Vol. 40. – P. 2281-2287.

44. Hay E. D. An overview of epithelio-mesenchymal transformation // *Acta Anat. (Basel)*. – 1995. – Vol. 154, № 1. – P. 8-20.

45. Hendry S., Salgado R., Gevaert T., Russell P. A., Tom J. et al. Assessing tumor infiltrating lymphocytes in solid tumors: a practical review for pathologists and proposal for a standardized method from the International Immuno-Oncology Biomarkers Working Group: Part 2: TILs in melanoma, gastrointestinal tract carcinomas, non-small cell lung carcinoma and mesothelioma, endometrial and ovarian carcinomas, squamous cell carcinoma of the head and neck, genitourinary carcinomas, and primary brain tumors // *Adv. Anat. Pathol*. – 2017. – Vol. 24, № 6. – P. 311-335.

46. Hendry S., Salgado R., Gevaert T., Russell P. A., Tom J. et al. Assessing Tumor-infiltrating Lymphocytes in Solid Tumors: A Practical Review for Pathologists and Proposal for a Standardized Method From the International Immunooncology Biomarkers Working Group: Part 1: Assessing the Host Immune Response, TILs in Invasive Breast Carcinoma and Ductal Carcinoma In Situ, Metastatic Tumor Deposits and Areas for Further Research // *Adv. Anat. Pathol*. – 2017. – Vol. 24, № 5. – P. 235-251.

47. Horgan P. G., McMillan D. C. Surgeons and selection of adjuvant therapy for node-negative colonic cancer // *Br . J. Surg*. – 2010. – Vol. 97. – P. 1459-1460.

48. Hui L., Chen Y. Tumor microenvironment: Sanctuary of the devil // *Cancer Lett*. – 2015. – Vol. 368, № 1. – P. 7-13.

49. Imamura H., Matsuyama Y., Shimada R., Kubota M., Nakayama A., Kobayashi A., Kitamura H., Ikegami T., Miyagawa S. I., Kawasaki S. A Study of Factors Influencing Prognosis After Resection of Hepatic Metastases From Colorectal and Gastric Carcinoma // *Am. J. Gastroenterol.* – 2001. – Vol. 96, № 11. – P. 3178-3184.

50. Jeltsch M. et al. Hyperplasia of lymphatic vessels in VEGF-C transgenic mice // *Science.* – 1997. – Vol. 276. – P. 1423-1425.

51. Jessup J. M., Goldberg R. M., Asare E. A., et al. Colon and Rectum. In: *AJCC Cancer Staging Manual*, 8th ed, Amin M.B. (Ed) // *AJCC.* – 2017.

52. Kalluri R., Weinberg R.A. The basics of epithelial-mesenchymal transition // *Clin. Invest.* – 2009. – Vol. 119. – P. 1420-1428.

53. Kawai H., Tsujigiwa H., Siar C.H., Nakano K. Characterization and potential roles of bone marrow-derived stromal cells in cancer development and metastasis // *Int. J. Med. Sci.* – 2018. – Vol. 15, № 12. – P. 1406-1414.

54. Klintrup K., Makinen J. M., Kauppila S., Vare P. O., Melkko J., Tuominen H., Karoliina T., Jyrki M., Karttunen T. J., Makinen M. J. Inflammation and prognosis in colorectal cancer // *European Journal of Cancer.* – 2005. – Vol. 41. – P. 2645-2654.

55. Konishi T., Shimada Y., Lee L. H., Cavalcanti M. S., Hsu M., Smith J. J., Nash G. M., Temple L. K. et al. Poorly Differentiated Clusters Predict Colon Cancer Recurrence: An In-Depth Comparative Analysis of Invasive-Front Prognostic Markers // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2018. – Vol. 42, №6 – P. 705-714.

56. Konopke R., Kersting S., Distler M., Dietrich J., Gastmeier J., Heller A., Kulisch E., Saeger H.-D. Prognostic Factors and Evaluation of a Clinical Score for Predicting Survival After Resection of Colorectal Liver Metastases // *Liver Int.* – 2009. – Vol. 29, № 1. – P. 89-102.

57. Krakhmal N. V., Zavyalova M. V., Denisov E. V., Vtorushin S. V., Perelmuter V. M. Cancer Invasion: Patterns and Mechanisms // *ACTA NATURAE.* – 2015. – Vol. 7, № 2. – P. 17-28.

58. Langley R. R., Fidler I. J. Tumor cell-organ microenvironment interactions in the pathogenesis of cancer metastasis // *Endocr. Rev.* – 2007. – Vol. 28. – P. 297-321.

59. Le Voyer T. E., Sigurdson E. R., Hanlon A. L., Mayer R. J., Macdonald J. S., Catalano P. J., Haller D. G. Colon Cancer Survival Is Associated With Increasing Number of Lymph Nodes Analyzed: A Secondary Survey of Intergroup Trial INT-0089 // *J. Clin. Oncol.* – 2003. – Vol. 21, № 15. – P. 2912-2919.

60. Leu A. J., Berk D. A., Lymboussaki A., Alitalo K., Jain R. K. Absence of functional lymphatics within a murine sarcoma: a molecular and functional evaluation // *Cancer Res.* – 2000. – Vol. 60. – P. 4324-4327.

61. Liebig C., Ayala G., Wilks J. et al. Perineural invasion is an independent predictor of outcome in colorectal cancer // *J. Clin. Oncol.* – 2009. – Vol. 27, № 31. – P. 5131-5137.

62. Lugli A., Kirsch R., Ajioka Y., Bosman F., Cathomas G. et al. Recommendations for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016 // *Modern Pathology.* – 2017. – Vol. 30. – P. 1299-1311.

63. Mac Gabhann F., Popel A. S. Systems biology of vascular endothelial growth factors // *Microcirculation.* – 2008. – Vol. 15, № 8. – P. 715-738.

64. Mantovani A. Molecular pathways linking inflammation and cancer // *Curr. Mol. Med.* – 2010. – Vol. 10, № 4. – P. 369-373.

65. Meirow Y., Kanterman J., Baniyash M. Paving the Road to Tumor Development and Spreading: Myeloid-Derived Suppressor Cells are Ruling the Fate // *Front. Immunol.* – 2015. – Vol. 6. – P. 523.

66. Nagy J. A., Dvorak A. M., Dvorak H. F. VEGF-A and the induction of pathological angiogenesis // *Ann. Rev. Pathol.* – 2007. – Vol. 2. – P. 251-275.

67. Naxerova K., Reiter J. G., Brachtel E., Lennerz J. K., van de Wetering M., Rowan A., Cai T., Clevers H., Swanton C., Nowak M. A.,

Elledge S. J., Jain R. K. Origins of lymphatic and distant metastases in human colorectal cancer // *Science*. – 2017. – Vol. 357. – P. 55-60.

68. Nordlinger B., Guiguet M., Vaillant J. C., Balladur P., Boudjema K., Bachellier P., Jaeck D. Surgical Resection of Colorectal Carcinoma Metastases to the Liver. A Prognostic Scoring System to Improve Case Selection, Based on 1568 Patients. *Association Française De Chirurgie // Cancer*. – 1996. – Vol. 77, № 7. – P. 1254-1262.

69. O’Keeffe M. B., Devlin A. H., Burns A. J., Gardiner T. A., Logan I. D., Hirst D. G., McKeown S. R. Investigation of pericytes, hypoxia, and vascularity in bladder tumors: association with clinical outcomes // *Oncol. Res*. – 2008. – Vol. 17. – P. 93-101.

70. Ozturk M. A., Dane F., Karagoz S. et al. Is perineural invasion (PN) a determinant of disease-free survival in early stage colorectal cancer? // *Hepatogastroenterology*. – 2015. – Vol. 62, № 137. – P. 59-64.

71. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast // *Lancet*. – 1889. – Vol. 1. – P. 571-843.

72. Paňková K., Rösel D., Novotný M., Brábek J. The molecular mechanisms of transition between mesenchymal and amoeboid invasiveness in tumor cells // *Cell Mol. Life Sci*. – 2010. – Vol. 67, № 1. – P. 63-71.

73. Park J. H., Richards C. H., McMillan D. C., Horgan P. G., Roxburgh C. S. D. The relationship between tumour stroma percentage, the tumour microenvironment and survival in patients with primary operable colorectal cancer // *Annals of Oncology*. – 2014. – Vol. 25. – P. 644-651.

74. Park J. H., van Wyk H., Roxburgh C. S. D., Horgan P. G., Edwards J., McMillan D. C. Tumour invasiveness, the local and systemic environment and the basis of staging systems in colorectal cancer // *British Journal of Cancer*. – 2017. – Vol. 116. – P. 1444-1450.

75. Peng S. L., Thomas M., Ruzskiewicz A., Hunter A., Lawrence M., Moore J. Conventional adverse features do not predict response to adjuvant chemotherapy in stage II colon cancer // *ANZ J. Surg*. – 2014. – Vol. 84, № 11. – P. 837-841.

76. Petrelli F., Pezzica E., Cabiddu M. et al. Tumour Budding and Survival in Stage II Colorectal Cancer: a Systematic Review and Pooled Analysis // *J. Gastrointest. Cancer.* – 2015. – Vol. 46, № 3. – P. 212-218.
77. Prall F. Tumour budding in colorectal carcinoma // *Histopathology.* – 2007. – Vol. 50. – P. 151-162.
78. Quail D. F., Joyce J. A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis // *Nat. Med.* – 2013. – Vol. 19. – P. 1423-1437.
79. Recamier J. C. Recherches sur la Traitment du Cancer sur la Compression Methodique Simple ou Combinee et sure l'Histoire Generale de la Meme Maladie. – 2 ed. – 1829 p.
80. Seton-Rogers S. Tumour immunology: dendritic cell switch // *Nat. Rev. Cancer.* – 2012. – Vol. 12. – P. 230-231.
81. Shang S., Hua F., Hu Z.-W. The regulation of β -catenin activity and function in cancer: therapeutic opportunities // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, № 20. – P. 33972-33989.
82. Spratt J. S., Spjut H. J. Prevalence and prognosis of individual clinical and pathologic variables associated with colorectal carcinoma // *Cancer.* – 1967. – Vol. 20, № 11. – P. 1976-1985.
83. Stein M., Keshav S., Harris N., Gordon S. Interleukin-4 potently enhances murine macrophage mannose receptor activity: a marker of alternative immunologic macrophage activation // *J. Exp. Med.* – 1992. – Vol. 176, № 1. – P. 287-292.
84. Steyerberg E. W., Moons K. G. M, van der Windt D. A. et all. Prognosis Research Strategy (PROGRESS) 3: Prognostic Model Research // *PLoS Med.* – 2013. – Vol. 10, № 2. – P. e1001381.
85. Tomasek J. J., Gabbiani G., Hinz B., Chaponnier C., Brown R. A. Myofibroblasts and mechanoregulation of connective tissue remodelling // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2002. – Vol. 3. – P. 349-363.
86. Ueno H., Shirouzu K., Eishi Y. et al. Study Group for Perineural Invasion projected by the Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR). Characterization of perineural invasion as a component

of colorectal cancer staging // *Am. J. Surg. Pathol.* – 2013. – Vol. 37, № 10. – P. 1542-1549.

87. Van Wyk H. C., Park J. H., Edwards J., Horgan P. G., McMillan D. C., Going J. J. The relationship between tumour budding, the tumour microenvironment and survival in patients with primary operable colorectal cancer // *British Journal of Cancer.* – 2016. – Vol. 115. – P. 156-163.

88. Van Zijl F., Krupitza G., Mikulitsa W. Initial steps of metastasis: Cell invasion and endothelial transmigration // *Mutat. Res.* – 2011. – Vol. 728, № 1-2. – P. 23-34.

89. Virchow R. Cellular pathologie, 1858 // *Nutr. Rev.* – 1989. – Vol. 47. – P. 23-25.

90. Wang Y. C., He F., Feng F., Liu X. W., Dong G. Y., Qin H. Y. et al. Notch signaling determines the M1 versus M2 polarization of macrophages in antitumor immune responses // *Cancer Res.* – 2010. – Vol. 70. – P. 4840-4849.

91. Wright J. R. Jr. Relationship of surgical oncology and pathology in early 20th century America. In: Kawakita Y, Sakai S, Otsuka Y, eds. *History of Ideas in Surgery: Proceedings of the 17th International Symposium on the Comparative History of Medicine – East and West.* Tokyo, Japan // Ishiyaku EuroAmerica Publishers. – 1997. – P. 241-266

92. Yamada N., Sugai T., Eizuka M., Tsuchida K., Sugimoto R., Mue Y., Suzuki M., Osakabe M., Uesugi N., Ishida K., Otsuka K., Matsumoto T. Tumor budding at the invasive front of colorectal cancer may not be associated with the epithelial-mesenchymal transition // *Hum. Pathol.* – 2017. – Vol. 60. – P. 151-159.

93. Yonenaga Y., Mori A., Onodera H., Yasuda S., Oe H., Fujimoto A., Tachibana T., Imamura M. Absence of smooth muscle actin-positive pericyte coverage of tumor vessels correlates with hematogenous metastasis and prognosis of colorectal cancer patients // *Oncology.* – 2005. – Vol. 69. – P. 159-166.

94. Zamarron B. F., Chen W., Dual roles of immune cells and their factors in cancer development and progression // Int. J. Biol. Sci. – 2011. – Vol. 7. – P. 651-658.

95. Zlobec I., Lugli A. Epithelial mesenchymal transition and tumor budding in aggressive colorectal cancer: Tumor budding as oncotarget // Oncotarget. – 2010. – Vol. 1, № 7. – P. 651-661.

Отпечатано в ООО «АРТЕК»,
СПб, Университетская наб., д. 19
E-mail: artek-1@mail.ru, т. 323-32-01
Подписано в печать 03.11.20
Формат 60х90/16. Печ. л. 6.
Тираж 50 экз.

ISBN 978-5-6045022-4-2

