

ISSN 2225-6016

ВЕСТНИК

*Смоленской государственной
медицинской академии*

Том 18, №2

2019



УДК 616-71

ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ТОЛСТОЙ КИШКИ © Маряхина В.С.¹, Корнева Ю.С.^{2,3}, Доросевич А.Е.^{2,3}

¹Кумертауский филиал Оренбургского государственного университета, Россия, 453300, Кумертау, пер. 2-й Советский, 3б

²ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 214019, Смоленск, ул. Крупской, 28

³ОГБУЗ «Смоленский областной институт патологии», Россия, 214020, Смоленск, пр. Гагарина, 27

Резюме

Цель. Изучение спектральных характеристик доброкачественных и злокачественных новообразования молочной железы и толстой кишки на гистологических срезах для повышения точности дифференциальной диагностики опухолей.

Методика. Проведено сравнение спектров возбуждения флуоресценции неокрашенных гистологических срезов добро- и злокачественных новообразований молочной железы (86 случаев) и толстой кишки (73 случая).

Результаты. Описаны параллели между спектральными, биохимическими и морфологическими изменениями в тканях, отражающие закономерности, происходящие при злокачественной трансформации доброкачественных новообразований или на разных стадиях прогрессирования злокачественных опухолей. Основные изменения связаны с уменьшением в строме количества коллагена и увеличением концентрации НАДФ, однако в спектрах ткани новообразований молочной железы имеется дополнительный максимум, характеризующий поглощением жирных кислот.

Заключение. Полученные данные могут быть использованы для точной диагностики опухолей в сомнительных для патологоанатома случаях.

Ключевые слова: флуориметрия, колоректальный рак, рак молочной железы, предраковые заболевания, флуоресцентная диагностика

FLUORESCENT DIAGNOSTIC OF BREAST AND COLONIC TUMORS

Maryakhina V.S.¹, Korneva Yu.S.^{2,3}, Dorosevich A.E.^{2,3}

¹Kumertau branch of Orenburg State University, 3b, 2nd. Sovetski Av, 453300, Kumertau, Russia

²Smolensk State Medical University, 28, Krupskoj St., 214019, Smolensk, Russia

³Smolensk Regional Institute of Pathology, 27, Gagarina Av., 214020, Smolensk, Russia

Abstract

Objective. To investigate spectral characteristics of benign and malignant tumors of the breast and colon in histological sections to improve the accuracy of differential diagnosis of tumors.

Methods. A comparison of the fluorescence excitation spectra of unstained histological sections of benign and malignant tumors of the mammary gland (86 cases) and colon (73 cases) was carried out.

Results. Parallels are described between spectral, biochemical, and morphological changes in tissues, reflecting patterns that occur during the malignant transformation of benign neoplasms or at different stages of progression of malignant tumors. The main changes are associated with a decrease in the amount of collagen in the stroma and an increase in the concentration of NADP; however, there is an additional maximum in the spectra of the tissue of breast neoplasms, which characterizes absorption of fatty acids.

Conclusion. The results of the investigation may be helpful to clarify the diagnosis of tumors in cases that are doubtful for the pathologist.

Keywords: fluorimetry, colorectal cancer, breast cancer, precancerous lesions, fluorescent diagnostic

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) и колоректальный рак (КРР) в настоящее время являются опухолями, привлекающими к себе особое внимание в странах с так называемым западным укладом жизни, что обусловлено несколькими причинами. С одной стороны, опухоли данных локализаций лидируют по ежегодному приросту новых случаев заболеваемости, но, с другой стороны, их доступность для своевременной диагностики с использованием гистологического исследования способствовала снижению количества летальных исходов [3, 16]. Поэтому многие страны ежегодно вкладывают огромные средства в программы, связанные с ранней верификацией именно РМЖ и КРР, а также новые исследования, направленные на совершенствование уже имеющихся методов выявления опухолей. Основной целью диагностических процедур в данном случае является не только первичное выявление неопластического процесса, но также дифференциальная диагностика доброкачественных от злокачественных новообразований на самых ранних стадиях, а для молочной железы, как и толстой кишки, частота встречаемости и тех, и других довольно высока по сравнению, например, с раком легкого, что увеличивает количество спорных моментов, возникающих в процессе диагностики [22]. Биопсия является золотым стандартом и наиболее надежным методом диагностики новообразований как в молочной железе, так и в толстой кишке. Однако некоторые предраковые состояния могут вызвать сложности у патоморфолога при верификации диагноза на уровне оптической микроскопии, особенно, когда необходимо поставить диагноз по крайне малому количеству материала. Наибольшие затруднения вызывают именно доброкачественные опухоли толстой кишки – аденомы, риск злокачественной трансформации которых зависит от некоторых морфологических характеристик [17]. Для молочной железы большой интерес в плане диагностики имеет доброкачественная опухоль – фибroadенома (ФА) и состояние дисгормональной природы – фиброзно-кистозная мастопатия (ФКМП), риск малигнизации которых также различен [5]. Злокачественные и доброкачественные опухоли в любом органе отличаются друг от друга не только по своей структуре, но и по биохимическому составу, при этом изменения на молекулярном уровне предшествуют изменениям, видимым на световой микроскопии патологоанатому. Эти метаморфозы могут быть зафиксированы и оценены с помощью спектральных методов благодаря их высокой чувствительности и селективности.

В статье обобщён и систематизирован материал по спектральным исследованиям опухолей толстой кишки и молочной железы, который в деталях опубликован ранее [8, 9, 11] для повышения точности оптической диагностики новообразований в затруднительных для патоморфологов случаях.

Цель исследования – изучение спектральных характеристик доброкачественных и злокачественных новообразования молочной железы и толстой кишки на гистологических срезах для повышения точности дифференциальной диагностики опухолей.

Методика

Материалом исследования стали фрагменты тканей толстой кишки и молочной железы пациентов, проходивших лечение в ОГБУЗ «Смоленский областной онкологический диспансер» и ОГБУЗ «Клиническая больница скорой медицинской помощи» в 2016 г. Перед проведением процедуры биопсии все пациенты подписывали информированное согласие.

В исследование включены 73 пациента возрасте $64,3 \pm 10,3$ года (мужчины – 31 случай, женщины – 47 случаев) с различными патологическими процессами в толстой кишке, отражающими основные стадии развития КРР, которым была выполнена колоноскопия с биопсией. В соответствии с микроскопической картиной случаи были поделены на 3 группы: слизистая толстой кишки с минимальными воспалительными изменениями (принятая за относительную норму), доброкачественные новообразования (аденомы) были поделены с учетом степени дисплазии в эпителии и их морфологического варианта (согласно этому параметру их делят на тубулярные (ТА), тубуло-ворсинчатые (ТВА) и ворсинчатые) [12], учитывая различную склонность к злокачественной трансформации. Существует мнение [15], что гистологические варианты аденом проходят цепь событий от ТА через ТВА до ворсинчатой аденомы, трансформируясь в аденокарциному (АК). Дополнительно группа аденом, согласно тем же рекомендациям, была поделена в зависимости от степени дисплазии (high-grade и low-grade). Случаи наследственного семейного полипоза и зубчатых аденом были критериями исключения из исследования. В соответствии со степенью дифференцировки были выбраны случаи умеренно- и высокодифференцированных АК. Деление образцов на группы представлено в табл. 1.

Таблица 1. Распределение случаев по группам в исследовании во всех таблицах

Диагноз	Прямая кишка	Дистальные отделы	Проксимальные отделы
Слизистая оболочка толстой кишки с минимальными воспалительными изменениями	3	5	5
ТА	10	18	8
ТВА	4	4	4
Высокодифференцированная АК	1	3	1
Умереннодифференцированная АК	2	3	2
			Итого: 73

Примечание: АК-аденокарцинома.

В блок исследования, посвященный новообразованиям молочной железы, были включены фрагменты ткани с различными патологическими процессами в молочной железе от 86 женщин (средний возраст 40 ± 5 лет), проходивших лечение в ОГБУЗ «Смоленский областной онкологический диспансер» в 2016 г. Объем операции определялся предварительно выполненной трепанобиопсией. В исследуемые группы были отобраны случаи, не вызывающие сомнений в отношении диагноза (распределение случаев приведено в табл. 2). Для сравнения с РМЖ в качестве доброкачественных патологических процессов исследовали фрагменты ФА и ФКМП как патологические состояния различной природы. Стадия РМЖ была выставлена согласно имеющимся рекомендациям на основании комплексного гистологического исследования операционного материала, а также дополнительных методов исследования на основании размера опухоли и наличия/отсутствия метастазов, случаи пациентов с РМЖ на IV стадии не были включены в исследование, поскольку паллиативная терапия некурабельных больных не предусматривает выполнение оперативного вмешательства. Нормальная ткань молочной железы также не исследовалась в качестве группы сравнения, поскольку данные случаи не являются диагностически сложными для патологоанатома.

Таблица 2. Распределение исследуемых случаев в зависимости от диагноза

Диагноз	ФА	ФКМП	РМЖ		
			I стадия	II стадия	III стадия
Количество случаев	14	21	12	23	16

Примечание: ФА – фиброаденома; ФКМП – фиброзно-кистозная мастопатия; РМЖ – рак молочной железы

Гистологические срезы были подготовлены по стандартной методике приготовления парафиновых срезов с последующим окрашиванием гематоксилином и эозином и обзорной микроскопией патологоанатом, используя микроскоп «Axiostarplus» (CarlZeiss, Germany) с видеокамерой «ProgressC10 Plus» (JenoptikJena, Germany). Исследование проводилось на увеличениях $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$.

Для обеспечения чистоты флуориметрических измерений гистологические срезы депарафинировали в гексане в течение 3 мин., затем помещали на кварцевое стекло без окрашивания гематоксилином и эозином, и измеряли спектры возбуждения флуоресценции с 220 до 390 нм при длине волны регистрации 410 нм на спектрофлуориметре SOLARCM-2203. Для новообразований молочной железы дополнительно измеряли спектры аутофлуоресценции, длина волны возбуждения составила 300 нм. Свечение регистрировали с площади 1 см^2 , поэтому регистрируемый сигнал является среднестатистическим со всей поверхности образца. Количество максимумов во всех спектрах и их интенсивность определялась после разложения спектров на составляющие методом Гауссово-Лоренцевых кривых. В процессе работы принимались во внимание не только высота и ширина спектра, но и площадь под кривой каждой из составляющей спектра.

Для статистической обработки данных использовали непараметрические критерии, такие как критерий Краскела-Уолисса (статистика H) для сравнения нескольких несвязанных выборок и критерий Манн-Уитни (статистика U) для сравнения двух выборок. Обработка данных проведена в программе STATISTICA 6.0, результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Несмотря на сложный состав биологических тканей, только некоторые вещества (эндогенные флуорофоры) могут флуоресцировать. Регистрация спектров поглощения гистологических срезов

затруднительна из-за их высокой оптической плотности. В этом случае могут быть измерены спектры возбуждения флуоресценции, поскольку они являются аналогами спектров поглощения.

На рис. 1 изображены спектры возбуждения флуоресценции доброкачественных новообразований молочной железы и толстой кишки. Отчетливо заметно, что главным отличием в спектрах возбуждения флуоресценции доброкачественных опухолей молочной железы является наличие дополнительного максимума в области 235 нм, который отсутствует в спектрах аденом толстой кишки. Этот максимум характеризует поглощение жирных кислот, которые являются главным компонентом жировой ткани, составляющей значительный объем молочной железы в норме в отличие от слизистой оболочки толстой кишки, где она отсутствует, поэтому вклад жирных кислот в формирование спектров возбуждения флуоресценции ткани молочной железы более весомый.

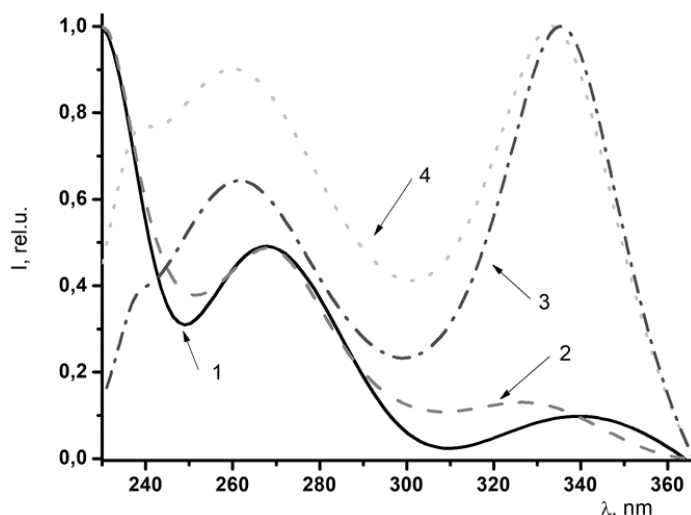


Рис. 1. Типичные спектры возбуждения флуоресценции гистологических срезов с 1 – ТА, 2 – ТВА, 3 – ФА, 4 – ФКМП. Длина волны регистрации 410 нм. ТА – тубулярная аденома толстой кишки; ТВА – тубуло-ворсинчатая аденома толстой кишки; ФА – фиброаденома молочной железы; ФКМП – фиброзно-кистозная мастопатия.

Несмотря на существенную разницу в структуре выбранных тканей все спектры имеют общие максимумы в области 260 и 335 нм с незначительным смещением, однако интенсивность этих максимумов и соотношений между ними существенно различается. Максимум на спектрах в области 260 нм характеризует накопление триптофан-содержащих белков [18], в то время как максимум спектров возбуждения флуоресценции на 335 нм связан с поглощением коллагена, содержащегося как в здоровых тканях, так и в строме опухоли, а также НАДФ, концентрация которого связана с митотической активностью клеток [20, 23]. Для сравнения соотношения максимумов в спектрах был применен критерий Краскела-Уоллиса, его значение составило $H=18,52$ при $df=5$, $N=73$, $p=0,0010$, что свидетельствует о наличии значимых различий для данного показателя во всех исследуемых спектрах. Интересно, что для аденом толстой кишки максимум на 340 нм гораздо менее выражен, чем для доброкачественных новообразований молочной железы. Такая особенность может быть связана с преобладанием стромального компонента в ФА и ФКМП, в связи с чем вклад в спектры возбуждения флуоресценции коллагена, содержащегося в строме в большом количестве, значительно выше в ФА и ФКМП, чем в аденомах толстой кишки. Данная особенность подтверждается и микроскопическим исследованием.

Из рис. 1 видно, что спектры ТА и ТВА схожи и имеют значительно меньший второй максимум в сравнении с первым (соотношение между ними равно 3,7). В случае развития злокачественной опухоли количество стромы значительно уменьшается за счет избыточной пролиферации паренхиматозного компонента. Также известно [14], что клетки злокачественных опухолей продуцируют фермент коллагеназу, которая разрушает коллаген стромы, обеспечивая инвазивный рост опухоли. Также высокая митотическая активность связана с увеличением концентрации НАДФ (рис. 2 кривые 4 и 5), что и приводит к резкому увеличению второго максимума в области 360 нм. Все это отражается на результатах спектральных измерений (рис. 2): АК толстой кишки характеризуются незначительным увеличением первого максимума спектра при выраженном увеличении второго, соотношение между которыми для АК становится равным 2,0.

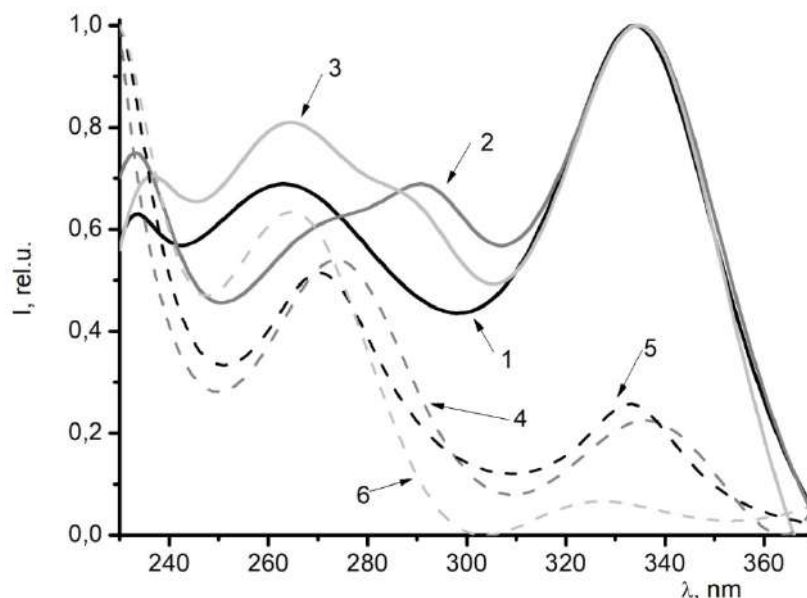


Рис. 2. Типичные спектры возбуждения флуоресценции РМЖ I стадии (1), РМЖ II стадии (2), РМЖ III стадии (3), низкодифференцированной АК толстой кишки (4), высокодифференцированной АК толстой кишки (5) и образца с подозрением на высокодифференцированную АК с большим количеством стромы и малым количеством опухолевых клеток (6). Длина волны регистрации 410 нм. РМЖ – рак молочной железы; АК – аденокарцинома

Спектры высоко- и умеренно дифференцированной АК также несколько различаются между собой шириной второго максимума в области 335 нм – он шире для высокодифференцированной АК, что связано с определением еще одного флуорофора. Помимо вышеупомянутого НАДФ им может быть витамин В6. Его накопление в ткани опухоли можно объяснить интенсивными метаболическими процессами, но его значение для опухолевого роста пока однозначно не уточнено [4, 21].

У пациентов с опухолями, значимо суживающими просвет кишки, могут возникнуть технические трудности при взятии биопсии, в связи с чем не всегда материал может быть достаточный для однозначной верификации патологического процесса, поскольку фрагмент забранной ткани может быть представлен большим количеством стромы с малым количеством опухолевых клеток. Спектр такого фрагмента приведен на рисунке 2 (кривая 6). Можно увидеть резкое уменьшение второго максимума. Описанные закономерности в спектрах возбуждения флуоресценции могут служить дополнительным инструментом для уточнения гистологического диагноза в спорных случаях, когда исследования гистологических срезов оптической микроскопией недостаточно информативны, что позволит избежать повторного проведения неприятной для пациента процедуры.

Спектры возбуждения флуоресценции РМЖ тоже претерпевают значительные изменения по сравнению с таковыми для доброкачественных опухолей. Так, например, образцы РМЖ на II и III стадии имеют дополнительную особенность – максимум на 290 нм, связанный с наличием билирубина (продукта распада гемоглобина) в тканях [1]. Его накопление в ткани РМЖ на поздних стадиях заболевания может быть связано с гемолизом эритроцитов из-за изменения строения их мембраны и снижением их осмотической устойчивости [2]. Также это можно объяснить усилением апоптоза эндотелиоцитов капилляров с последующей утратой целостности стенки капилляра и повышением их проницаемости, необходимых для метастазирования опухоли [7].

Прогрессирование РМЖ от первой стадии до третьей приводит к уменьшению вклада в общий спектр возбуждения флуоресценции максимума в области 230 нм, что является следствием снижения концентрации в ткани жирных кислот из-за замещения жировой ткани на соединительную за счет десмоплазии, а также распад жирных кислот усиливается за счет ускорения метаболизма опухолевых клеток [6].

Спектры аутофлуоресценции гистологических срезов новообразований молочной железы были дополнительно измерены для идентификации флуорофоров ткани. Рис. 3 отражает их постепенные

их изменения по мере опухолевой прогрессии с наличием 2 четко выраженных максимумов в области 335 и 420 нм.

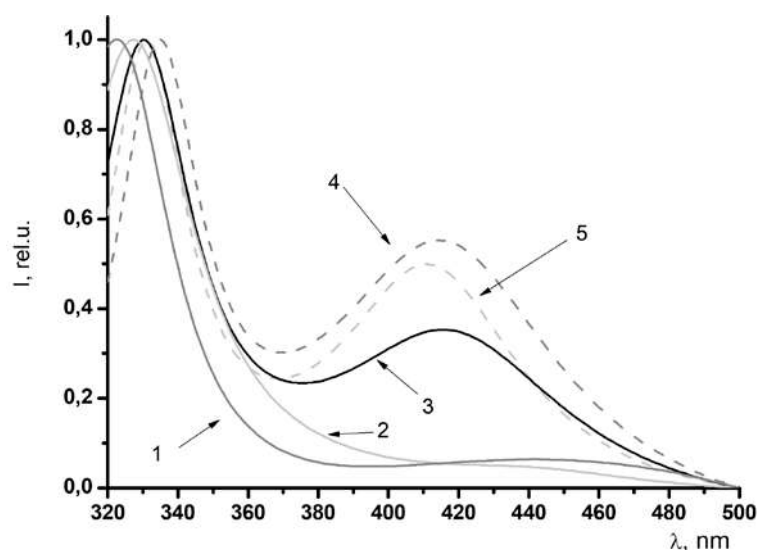


Рис. 3. Типичные спектры аутофлуоресценции гистологических срезов опухолей молочной железы. 1 – ФА, 2 – ФКМП, 3 – стадия I РМЖ, 4 – стадия II РМЖ, 5 – стадия III РМЖ. Длина волны возбуждения 300 нм. ФА – фиброаденома молочной железы; ФКМП – фиброзно-кистозная мастопатия; РМЖ – рак молочной железы

Флуоресценцию на 420 нм можно объяснить наличием двух флуорофоров: НАДФ и витамина В₆ [18]. Поскольку спектры аутофлуоресценции и поглощения биологических веществ широкие, можно частично увидеть флуоресценцию коллагена, возбуждаемую на границе его спектра поглощения. Таким образом, на I стадии РМЖ определяется суммарная флуоресценция коллагена, витамина В₆ и НАДФ. На II стадии РМЖ вклад витамина В₆ и НАДФ более значимый ввиду повышения пролиферативной активности клеток. На III стадии РМЖ количество коллагена в строме уменьшается под влиянием коллагеназ, выделяемых опухолевыми клетками, необходимыми для инвазивного роста и метастазирования [19], а витамин В₆ постепенно исчезает из опухолевой ткани [13]. Низкий уровень витамина В₆ был обнаружен в других исследованиях у пациентов с РМЖ на поздних стадиях [10]. Пик на 335 нм определяется триптофан- и тирозин-содержащими белками. Стоит отметить слабое свечение ФА и ФКМП молочной железы на 420 нм (рис. 3 – спектры 1 и 2) в отличие от свечения РМЖ, что может позволить повысить точность диагностики.

Заключение

Исследование спектральных особенностей доброкачественных и злокачественных опухолей молочной железы и толстой кишки позволило не только установить закономерности между спектральными и биохимическими изменениями в тканях, происходящими на разных стадиях канцерогенеза, но и выявить новые возможности использования флуориметрии для верификации диагноза, особенно в сомнительных для патологоанатома случаях. Полученные результаты могут быть полезны также для совершенствования оптических методов, применяемых при работе с биологическими тканями, а также дальнейшего уточнения механизмов канцерогенеза.

Литература (references)

1. Anderson R.R., Parrish J.A. Optical properties of human skin. – Springer; Amsterdam, 1982. – P. 147-194.
2. Delicostantinou G., Villiotou V., Stavrides J.C. et al. Nitric oxide and peroxynitrite production by human erythrocytes: a causative factor of toxic anemia in breast cancer patients // *Anticancer Research*. – 1995.– V.15. – P. 1435-1446.
3. DeSantis C.E., Ma J., Goding S.A., Newman L.A., Jemal A. Breast cancer statistics, 2017, racial disparity in mortality by state // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 2017.– V.67, N6. – P. 439-448.

4. Galluzzi L., Vacchelli E., Michels J., Garcia P. et al. Effects of vitamin B6 metabolism on oncogenesis, tumor progression and therapeutic responses // *Oncogene*. – 2013. – V.32, N42. – P. 4995-5004.
5. Hartmann L. C., Sellers T. A., Frost M. H., et al. Benign breast disease and the risk of breast cancer // *The New England Journal of Medicine*. – 2003. – V.353, N3. – P. 229-237.
6. Hasebe T. Tumor-stromal interactions in breast tumor progression--significance of histological heterogeneity of tumor-stromal fibroblasts. // *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. – 2013. – V.7. – P. 449-460.
7. Kebers F., Lewalle J. M., Desreux J. et al. Induction of endothelial cell apoptosis by solid tumor cells // *Experimental Cell Research*. – 1998. – V.240. – P. 197-205.
8. Korneva Y.S., Dorosevich A.E., Maryakhina V.S. Fluorescent diagnostics of epithelial neoplasms of different colon parts // *Lasers in surgery and medicine*. – 2017. – V.49, N8. – P. 763-766.
9. Korneva Y.S., Dorosevich A.E., Maryakhina V.S. Investigation of malignant transformation of sporadic adenomas of colon by fluorimetry // *Lasers in medical science*. – 2017. – V.32, N2. – P. 363-367.
10. Lurie G., Wilkens L. R., Shvetsov Y. B. et al. Prediagnostic plasma pyridoxal 5'-phosphate (vitamin b6) levels and invasive breast carcinoma risk: the multiethnic cohort. // *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. – 2012. – V.21. – P. 1942-1948.
11. Maryakhina V.S. Korneva Y.S., Chekurov I.V., Shisterova O.A. Fluorescent diagnostics of benign breast diseases and breast cancer // *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*. – 2017. – V.3, N.4. – P. 040306.
12. Molaei M., Yadollahzadeh M., Almasi S. et al. Sporadic colorectal polyps and mismatch repair proteins // *The Indian Journal of Pathology and Microbiology*. – 2011. – V.54, N4. – P. 725-729.
13. Potera C., Rose D.P., Brown R.R. Vitamin B6 deficiency in cancer patients // *American Journal Of Clinical Nutrition*. – 1977. – V.30. – P. 1677-1679.
14. Pyke C., Ralfkiaer E., Tryggvason K., Dano K. Messenger RNA for two type IV collagenases is located in stromal cells in human colon cancer // *The American journal of Pathology*. – 1993. – V.142, N2. – P. 359-365.
15. Short M.W., Layton M.C., Teer B.N., Domagalski J.E. Colorectal cancer screening and surveillance // *American Family Physician*. – 2015. – V.91, N2. – P. 93-100.
16. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer Statistics, 2017 // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 2017. – V.67, N1. – P. 7-30.
17. Tischoff I., Tannapfel A. Precancerous colorectal tumors. // *Internist (Berl.)*. – 2013. – V.54, N6. – P. 691-698.
18. Udenfriend S., Horecker B., Kaplan N.O., Marmur J. Vitamins, coenzymes, and their metabolites // *Fluorescence assay in biology and medicine*. – Academic Press: New York, 1969. – P. 219-334.
19. Vinothini G., Aravindraja C., Chitrathara K., Nagini S. Correlation of matrix metalloproteinases and their inhibitors with hypoxia and angiogenesis in premenopausal patients with adenocarcinoma of the breast // *Clinical Biochemistry*. – 2011. – V.44. – P. 969-974.
20. Vyas S., Zaganjor E., Haigis M.C. Mitochondria and Cancer // *Cell*. – 2016. – V.166, N.3. – P. 555-566.
21. Wei E.K., Giovannucci E., Selhub J. et al. Plasma vitamin B6 and the risk of colorectal cancer and adenoma in women // *Journal of the National Cancer Institute*. – 2005. – V.97, N9. – P. 684-692.
22. Winters S., Martin C., Murphy D., Shokar N.K. Breast Cancer Epidemiology, Prevention, and Screening // *Progress in molecular biology and translational science*. – 2017. – V.151. – P. 1-32.
23. Zeng H., MacAulay C., Palcic B., McLean D.I. Spectroscopic and microscopic characteristics of human skin autofluorescence emission // *Photochemistry and photobiology*. – 1995. – V.61. – P. 639-645.

Информация об авторах

Маряхина Валерия Сергеевна – кандидат физико-математических наук, преподаватель отдела дополнительного профессионального образования Кумертауский филиал ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет». E-mail: v.s.maryakhina@gmail.com

Корнева Юлия Сергеевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России; врач-патологоанатом ОГБУЗ «Смоленский областной институт патологии». E-mail: ksu1546@yandex.ru

Доросевич Александр Евдокимович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет», директор ОГБУЗ «Смоленский областной институт патологии». E-mail: OBUZSOIP@yandex.ru