DOI 10.31718/2077-1096.19.2.142
УДК 616.24-006.6

Филенко Б.М.

ОСОБЛИВОСТІ МІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ВИСОКОДИФЕРЕНЦІЙОВАНОГО ПЛОСКОКЛІТИННОГО РАКУ ЛЕГЕНІВ

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

Рак легенів є найбільш часто діагностованою злоякісною пухлиною і залишається головною причиною смерті серед чоловіків і другою провідною причиною смерті серед жінок з онкологічною патологією. Численними дослідженнями встановлено, що метастатичний потенціал ракових клітин залежить не лише від проліферативної активності клітин, вираженості міжклітинних зв'язків, а також, від мікрооточення пухлини і будови стінки судин. Метою даного дослідження було вивчення особливостей будови судин мікроциркуляторного русла при високодиференційованому плоскоклітинному раку легенів. Дослідження було проведено на матеріалі 50 хворих на плоскоклітинний рак легенів з ороговінням на I-IIIA стадіях, взятому на базі Полтавського обласного патологоанатомічного бюро. Гістологічні препарати виготовляли за стандартними методиками із забарвленням гематоксиліном та еозином. Імуногістохімічне дослідження проводили з визначенням експресії моноклональних антитіл CD34 та α-SMA. Судини мікроциркуляторного русла були представлені переважно капілярами з діаметром просвіту більше 10 мкм. Збільшення діаметру кровоносної судини не супроводжується їх перебудовою, внаслідок чого вони набувають будови синусоїдів. В деяких судинах спостерігаються реактивні зміни, що проявляються тромбоутворенням. Встановлено, що високодиференційований плоскоклітинний рак легенів характеризується нерівномірною кількістю судин в різних ділянках пухлини та наявністю судин синусоїдного типу. Синусоїдні судини з несформованою стінкою, які щільно прилягають до ракових комплексів, можуть забезпечувати віддалене метастазування. Враховуючи особливості будови стінки судини встановлено, що маркер CD34 має більше інформативне значення у вивченні стромально-судинного компоненту пухлини.

Ключові слова: мікроциркуляторне русло, будова судин, CD34, α-SMA, плоскоклітинний рак.

Визначення закономірностей морфогенезу органів, тканин та судинно-нервових утворень організму в нормі, експерименті та під дією зовнішніх чинників. Морфо-експериментальне обґрунтування дії нових хірургічних шовних матеріалів при використанні їх в клінічній практиці», № держреєстрації 0113U001024.

Вступ

Рак легенів є найбільш часто діагностованою злоякісною пухлиною і залишається головною причиною смерті серед чоловіків і другою провідною причиною смерті серед жінок з онкологічною патологією. Щорічно реєструють близько 1,8 мільйонів нових випадків раку легенів з яких 1,6 хворих помирають [1]. В середньому 85% випадків раку легенів складає недрібноклітинний рак. Загальна 5-річна виживаність цього захворювання становить 15% [2]. У 90% хворих на рак легенів виявляють реґіонарні та віддалені метастази, що частіше і призводять до смертельного наслідку.

За рахунок інвазивного росту раку відбувається вторгнення пухлинних клітин в навколишні тканини, в тому числі в лімфатичні та кровоносні судини, що призводить до розвитку метастатичної хвороби. Метастазування пухлини є складним біологічним процесом, який включає етапи інтравазації, екстравазації та колонізації, що забезпечується участю багатьох генів і сигнальних шляхів [3]. Численними дослідженнями встановлено, що метастатичний потенціал ракових клітин залежить не лише від проліферативної активності клітин, вираженості міжклітинних зв'язків, а також від мікрооточення пухлини і будови стінки судин [4, 5]. Вивчення біологічних характеристик паренхіматозно-стромальних взаємозв'язків спонукає до виникнення наукового завдання, спрямованого на посилення морфологічної діагностики раку легенів, що має вирішальне значення для своєчасного лікування та прогнозування.

Мета дослідження

Вивчення особливостей будови судин мікроциркуляторного русла при високодиференційованому плоскоклітинному раку легенів.

Матеріали і методи

Дослідження було проведено на матеріалі 50 хворих на плоскоклітинний рак легенів з ороговінням на I-IIIA стадіях, взятому на базі Полтавського обласного патологоанатомічного бюро. В досліджувану групу увійшло 51 (94,8 %) чоловік та 3 (5,2 %) жінки. Середній вік хворих склав 57,6±6,7 років.

Після виготовлення гістологічних препаратів за стандартними методиками із забарвленням гематоксиліном та еозином, їх вивчали на світловому мікроскопі фірми «Olympus BX-41» з використанням об'єктивів ×10, ×20, ×40, ×100, з наступною фотозйомкою на цифрову фотокамеру фірми «Olympus C 4040».

Імуногістохімічне дослідження проводили з визначенням експресії моноклональних антитіл CD34 («DakoCytomation») та α-SMA («DakoCytomation»). Парафінові зрізи відібраних блоків наносили на адгезивні предметні скельця SuperFrost Plus з подальшою депарафінізацією та регідратацією зрізів. Температурне демаскування антигенів проводили інкубацією зрізів з первинними антитілами у вологих камерах при

температурі 23-25°С впродовж 30 хвилин. Ідентифікація реакції проводилась завдяки нанесенню хромогену DAB з проявом у вигляді коричневого забарвлення специфічних структур. Для ідентифікації тканинних структур зрізи додатково забарвлювали гематоксиліном Майєра впродовж 1-3 хвилин.

Дослідження проведено з дотриманням основних біоетичних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964–2008 рр.), а також наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Результати дослідження та їх обговорення

Проведеними дослідженнями встановлено, що судини в пухлині розташовуються не рівномірно. Це характеризується значно більшою їх кількістю на периферії пухлини. Судини мікроциркуляторного русла були представлені переважно капілярами з діаметром просвіту більше 10 мкм. Ендотелій дрібних судин пухлинної строми лежить на тонкій базальній мембрані, яка місцями представлена переривчастою пластинкою, та характеризується наявністю клітин з овальними або витягнутими ядрами, які виступають в просвіт судини (рис. 1).

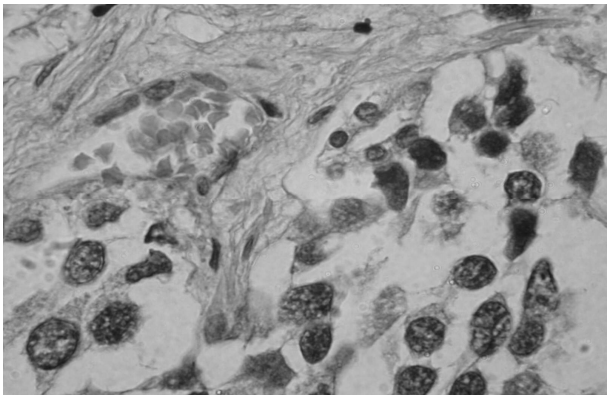

Рис. 1. Стінка судини в стромі високодиференційованого плоскоклітинного раку легень. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення ×400.

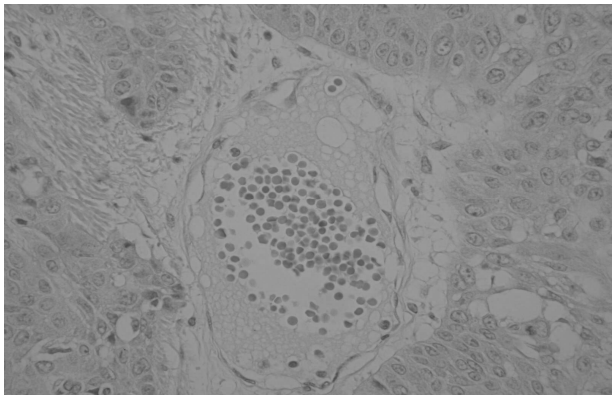

Рис. 2. Судина синусоїдного типу в стромі високодиференційованого раку легень. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Збільшення ×200.

Збільшення діаметру кровоносної судини не супроводжується їх перебудовою, внаслідок чого вони набувають будови синусоїдів. В деяких судинах спостерігаються реактивні зміни, що проявляються тромбоутворенням. Судини синусоїдного типу, які мають переважно округлу форму, частіше зустрічаються в пухкій сполучнотканинній стромі та серед ракових комплексів, що безпосередньо прилягають до судинної стінки. Особливістю будови таких судин є їх незрілість, а також відсутність, м'язових елементів, які не виявляються при імуногістохімічній реакції з α-SMA. Ендотеліальні клітини розташовуються нерівномірно, формуючи переривчастий ендотеліальний шар. Зовні наявні лише поодинокі перицити (рис. 2).

Недосконаліть будови судинної стінки призводить до підвищення її проникності, розрихленню базальної мембрани, злущенню ендотеліальних клітин та розвитку периваскулярного набряку. Така будова судин створює умови для її інвазії пухлинними клітинами.

Стінка деяких синусоїдних судин представлена лише ендотеліальними клітинами, які прилягають безпосередньо до строми або клітин пухлинного комплексу.

Лімфатичні судини виявляються переважно на периферії новоутворення. В той же час тонкостінні фестончасті кровоносні судини, стінка яких представлена нерівномірно розташованими ендотеліальними клітинами, нагадують за будовою лімфатичні судини. За рахунок чого, ймовірно, вони і виконують функцію лімфатичного дренажу новоутворення.

Основну кількість кровоносних судин мікроциркуляторного русла високодиференційованого раку легень складають дрібні судини. Зовнішня стінка таких судин виражена слабко та представлена тонким м'язово-еластичним шаром, що виявляється за допомогою імуногістохімічної реакції з маркером α-SMA. Експресія гладком'язового актину слабо виражена, фенестрована, що свідчить про відсутність чітко сформованої суцільної зовнішньої оболонки судин. Ці судини мікроциркуляторного русла виявляються в розвиненій стромі, фібробласти якої також мають експресію маркеру на гладком'язовий актин (рис. 3).

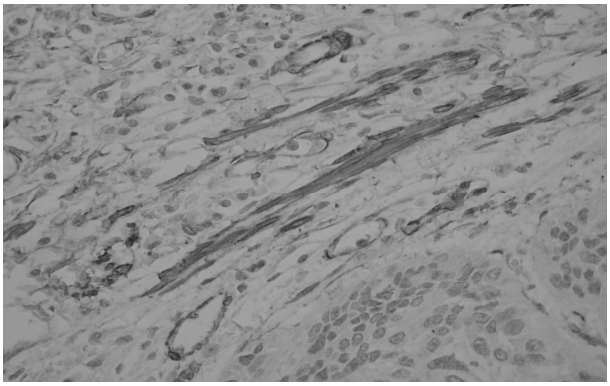

Рис. 3. Судини мікроциркуляторного русла високодиференційованого плоскоклітинного раку легень. Імуногістохімічне забарвлення α-SMA. Збільшення ×100.

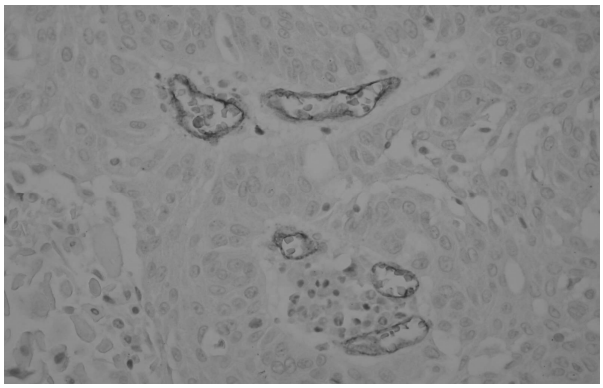

Рис. 4. Мікроциркуляторне русло строми високодиференційованого плоскоклітинного раку легень. Імуногістохімічне забарвлення CD34. Збільшення ×100.

Люменальна поверхня мікроциркуляторного русла представлена ендотеліальними клітинами, які чітко виявляються імуногістохімічної реакцією з CD34, що проявляється суцільним чітко вираженим коричневим забарвленням (рис. 4).

Тонкостінні судини формують групи, які нерівномірно розташовуються в різних ділянках пухлини. Це, очевидно, має значення у розвитку некрозів в пухлині, оскільки спостерігається менша кількість кровоносних судин в пухлинній тканині вузлувато-кавернозної форми центрального раку легень.

Отже, отримані результати свідчать про важливість вивчення будови стінки кровоносних судин при високодиференційованому плоскоклітинному раку легенів, оскільки будова судин мікроциркуляторного русла різнорідна та, очевидно, має значення в неогенезі.

В кровоносних сосудах синусоїдного типу часто спостерігається тромбоутворення, розвитку якого сприяє повільний кровоток з вираженою гіперемією, а також недосконаліть будови судинної стінки: переривчастий ендотеліальний покрив і формування стінки синусоїда стромальними тканинами або пластами пухлинних клітин. Крім того, важливу роль в порушенні кровообігу відіграє також нерівномірне розташування судин, що визначається різним співвідношенням пластів строми і паренхіми. Певне значення може відігравати і безпосереднє стиснення судин зі зменшенням їх просвіту та розвитку в них реактивних змін [6].

В цілому реактивні зміни зустрічаються переважно в синусоїдних судинах, які позбавлені зовнішньої оболонки і розташовані серед паренхіматозного компоненту пухлини, клітини якого активно розмножуються.

Щільне прилягання пластів ракових клітин забезпечує їх сполучення з просвітом судини. Такі умови, вочевидь, призводять до потрапляння клітин карциноми в просвіт синусоїдних судин.

Певну роль в метастазуванні також можуть відігравати некрози в пухлині, в тому числі і в стінках судин, що забезпечує потрапляння ракових клітин в просвіт судини без перешкоди. А за рахунок великих розмірів просвіту судин синусоїдного типу забезпечується переміщення груп ракових клітин.

Прогноз раку легень залежить від наявності метастазів, а отже і від судинної інвазії [7]. Результати дослідження показують значення вивчення будови стінки судини як за допомогою звичайного гістологічного забарвлення гематоксиліном і еозином, так і за допомогою імуногістохімічних маркерів (CD34 й α-SMA). Необхідно зазначити, що експресія маркера CD34 має більше інформативне значення, що залежить від будови судинної стінки.

Висновки

Високодиференційований плоскоклітинний рак легенів характеризується нерівномірною кількістю судин в різних ділянках пухлини та наявністю судин синусоїдного типу. Синусоїдні судини з несформованою стінкою, які щільно прилягають до ракових комплексів, можуть забезпечувати віддалене метастазування. Враховуючи особливості будови стінки судини встановлено, що маркер CD34 має більше інформативне значення у вивченні стромально-судинного компоненту пухлини.

Перспективним є дослідження паренхіматозно-стромальних зв'язків при високодиференційованому раку легенів з ороговінням з вивченням ролі рак-асоційованих фібробластів.

Література

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN. Int J Cancer. 2015; 136: 359-86.
2. Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung cancer. N Engl J Med. 2008; 359: 1367-80.
3. Mego M, Mani SA, Cristofanilli M. Molecular mechanisms of metastasis in breast cancer—clinical applications. Nat Rev Clin Oncol. 2010; 7: 693-701.
4. Quail DF, Joyce JA. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. Nat Med. 2013; 19: 1423-37.
5. Filenko B, Royko N, Stepanchuk A, Proskurnya S. Immunogistohimichesaya harakteristika proliferativnoy aktivnosti i apoptoza ploskokletochnogo raka legkih (obzor literaturyi) [Immunohistochemical description of proliferative activity and apoptosis of lung squamous cell carcinoma (literature review)]. Wiadomosci Lekarskie. 2016; LXIX (2): 289-94.
6. Filenko BN, Royko NV, Proskurnya SA. Pokaznyky neoanhiohenezu ta yikh znachennia pry ploskoklityннomu raku

leheni z orohovinniam [Neoangiogenesis parameters and their significance in keratinizing squamous cell lung cancer. Aktualni problemy suchasnoi medytsyny] : Visnyk Ukrainskoi medychnoi stomatolohichnoi akademii. 2018; 18 (62): 177-181.

7. Zin'kovich SA, Nepomnyashchaya EM, Lazutin YN, Anistratov PA, Lapteva TO, Tarnopol'skaya OV. Vozmozhnosty opredelenyia opukholevoi sosudystoi ynvazyy y ee rol v prohnoze operabelnoho nemelkokletochnoho raka lehkoho [Possibilities to detect vascular invasion and its prognostic role in patients with operable non-small cell lung carcinoma]. Pulmonolohyia. 2014; 2: 40-43.

Реферат

ОСОБЕННОСТИ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ВЫСОКОДИФФЕРЕНЦИРОВАННОГО ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКИХ

Филенко Б.Н.

Ключевые слова: микроциркуляторное русло, строение сосудов, CD34, α-SMA, плоскоклеточный рак.

Рак легких является наиболее часто диагностированной злокачественной опухолью и остается главной причиной смерти среди мужчин и второй ведущей причиной смерти среди женщин с онкологической патологией. Многочисленными исследованиями установлено, что метастатический потенциал раковых клеток зависит не только от пролиферативной активности клеток, выраженности межклеточных связей, а также от микроокружения опухоли и строения стенки сосудов. Целью данного исследования было изучение особенностей строения сосудов микроциркуляторного русла при высокодифференцированном плоскоклеточном раке легких. Исследование было проведено на материале 50 больных плоскоклеточный рак легких с ороговением на I-IIIA стадиях, взятом на базе Полтавского областного патологоанатомического бюро. Гистологические препараты изготавливали по стандартным методикам с окраской гематоксилином и эозином. Иммуногистохимическое исследование проводили с определением экспрессии моноклональных антител CD34 и α-SMA. Сосуды микроциркуляторного русла были представлены преимущественно капиллярами диаметром просвета более 10 мкм. Увеличение диаметра кровеносного сосуда не сопровождается их перестройкой, в результате чего они приобретают строение синусоидов. В некоторых сосудах наблюдаются реактивные изменения, проявляющиеся тромбообразования. Установлено, что высокодифференцированный плоскоклеточный рак легких характеризуется неравномерным количеством сосудов в разных участках опухоли и наличием сосудов синусоидного типа. Синусоидные сосуды с несформированной стенкой, плотно прилегающие к раковым комплексам, могут обеспечивать отдаленное метастазирование. Учитывая особенности строения стенки сосуда, установлено, что маркер CD34 имеет более информативное значение в изучении стромально-сосудистого компонента опухоли.

Summary

CHARACTERISTICS OF MICROVASCULAR BED IN WELL-DIFFERENTIATED SQUAMOUS CELL LUNG CANCER

Filenko B.M.

Keywords: microvasculature, vascular structure, CD34, α-SMA, squamous cell cancer.

Lung cancer is the most commonly diagnosed malignant tumor and is still the leading cause of death among men and the second leading cause of death among women with cancer. Numerous studies have established that the metastatic potential of cancer cells depends not only on the proliferative activity of cells and intensity of inter-cellular interaction, but on the microenvironment of the tumor and the structure of the vascular wall. The purpose of this paper was to study the characteristics of the structure of the microvascular bed in well- differentiated squamous cell lung carcinoma. The material investigated was obtained from 50 patients with squamous cell lung carcinoma with keratinisation of stages I-IIIA at Poltava Regional Morbid Anatomy Bureau. Histological specimens were made according to standard technique with haematoxylin and eosin staining. Immunohistochemical study was performed to determine the expression of the CD34 and α-SMA monoclonal antibodies. The vessels of the microcirculatory bed were represented mainly by capillaries with a lumen diameter over 10 microns. The increase in the diameter of the blood vessels is not accompanied by their remodelling, and they become sinusoidal by their structure. Some vessels demonstrate reactive changes manifested by thrombosis. It has been established that well-differentiated squamous cell lung cancer is characterized by the irregular number of vessels in different sites of a tumor and by the presence of vessels of sinusoidal type. Sinusoidal vessels with unformed wall that closely adhere to the cancerous complexes can promote remote metastases. Taken into consideration the characteristics of the structure of the vascular wall it has been found out that the CD34 marker is of more informative value in investigating the stromal and vascular component of the tumor.