

Імуногістохімічні особливості плоскоклітинного раку гортані

Ю.А. Гасюк, С.В. Зачепило, Ю.С. Веклич, О.А. Хавер

ВДНЗУ "Українська медична стоматологічна академія", м. Полтава

Публікація є фрагментом планової науково-дослідної роботи ВДНЗ України "Українська медична стоматологічна академія" "Вивчення закономірностей структурної організації внутрішніх органів в нормі та при патології", номер держреєстрації: 0106U003236.

Вступ. Злоякісні новоутворення гортані в 95-98% випадків представлені різними гістотипами плоскоклітинного раку та становлять 1-8% від всіх локалізацій. В структурі ЛОР-онкології карцинома гортані за різними даними складає від 38% до 70%. До теперішнього часу первинна діагностика раку гортані в 60-70% випадків здійснюється несвоєчасно – на III-IV стадіях, що в свою чергу обумовлює радикальні підходи в лікуванні, а також високий рівень інвалідизації та смертності хворих [1; 7; 8; 13; 14].

Розвиток молекулярної біології та цитогенетики на сучасному етапі дозволив значно розширити знання та уявлення про механізми канцерогенезу. Останній являє собою багатоступеневий процес накопичення мутацій та інших генетичних змін, які призводять до порушень регуляції клітинного циклу, апоптозу, диференціювання, морфологічних реакцій клітини, а також до неефективного функціонування факторів специфічного та неспецифічного протипухлинного імунітету [2; 3; 5]. При цьому виникнення зазначених властивостей неопластичної клітини пов'язано із порушенням функції пухлинних супресорів та протоонкогенів [2; 4; 6; 9; 10; 11; 12]. В зв'язку з цим, висока інформативність молекулярних маркерів спонукає до більш глибокого їх вивчення при плоскоклітинному раку гортані.

Мета дослідження. Метою даного дослідження стало визначення імуногістохімічних особливостей плоскоклітинного раку гортані.

Об'єкт та методи дослідження. Вивчення імуногістохімічних особливостей плоскоклітинного раку гортані проводилось на підставі аналізу

клініко-анатомічного матеріалу, який отримали після часткової або тотальної ларингектомії у 21 хворого на III - IV клінічних стадіях (перший етап комбінованого лікування). В кожному випадку забір матеріалу проводився із різних ділянок видалених органокomплексів гортані, що дозволило визначити імуногістохімічні особливості плоскоклітинної карциноми в залежності від глибини її інвазії.

В процесі імуногістохімічних досліджень використані моноклональні антитіла до високомолекулярного цитокератину (клон 34βE12, «DakoCytomation»), онкопротеїну p53 (клон DO-7, «DakoCytomation»), онкопротеїну p63 (клон JAY, «DakoCytomation»), а також фактора росту ендотелію судин – VEGF (клон VGI, «DakoCytomation»).

Результати дослідження. В результаті проведених досліджень встановлено, що в залежності від глибини інвазії комплекси плоскоклітинної карциноми гортані відрізняються за будовою та імуногістохімічними властивостями.

В пухлинних комплексах, що розташовані в епітелії та підслизовому шарі, визначаються зони з різним ступенем експресії цитокератину СК34βE12. Так, в центрі «ракової перлини» виявляються речовини, забарвлені в темно-фіолетовий колір. Очевидно, що останні представляють собою осередки звапніння, які виникають внаслідок некрозу. Навколо петрифікатів спостерігаються концентричні зроговілі лусочки, які мають високий ступінь експресії цитокератину СК34βE12. Безпосередньо навколо «перлин» розташовані клітини із низьким ступенем експресії цитокератину, яка спостерігається переважно в міжклітинних просторах. Далі визначаються ракові клітини з помірною експресією цитокератину. На периферії пухлинного комплексу розташовані клітини, в яких експресія цитокератину СК34βE12 практично відсутня (мал. 1).

В зазначених пухлинних комплексах також визначається різна ступінь експресії мутованого онкопротеїну p53. Так, в пікнотичних ядрах зроговілих лусочок спостерігається лише сліди його експресії. Безпосередньо навколо

«ракових перлин» розташовані веретеноподібні клітини, в яких визначається помірна експресія p53. Далі в ракових клітинах з округлими ядрами спостерігається низький ступінь експресії p53. На периферії пухлинного комплексу розташовані клітини, що мають високий ступінь експресії даного маркера. Разом з тим, в клітинних елементах прилеглої стромі, експресія останнього взагалі не визначається.

Отже, порівнюючи отримані дані, можна прийти до висновку про існування певного паралелізму між характером експресії цитокератину СК34βE12 та онкопротеїну p53. Це свідчить, що порушення процесів кератинізації в ракових клітинах, очевидно, пов'язані із постмутантною інактивацією онкосупресорної функції антионкогену p53.

В ділянках більш глибокої інвазії плоскоклітинної карциноми, тобто в пухлинних комплексах, що інвазують фіброзноеластично-м'язевий шар гортані, спостерігається значно менший рівень експресії цитокератину СК34βE12. При цьому високий ступінь експресії останнього визначається лише в центральній частині «ракової перлини». В зроговілих лусочках спостерігаються лише сліди експресії, а в веретеноподібних клітинах, що розташовані навколо «перлин», експресія взагалі відсутня. Проте, на периферії комплексу визначаються ракові клітини великих розмірів, які мають високий ступінь експресії цитокератину СК34βE12.

За результатами власних досліджень встановлено, що в зазначених пухлинних комплексах формуються кровоносні судини синусоїдного типу, в ендотелії яких визначається помірна експресія VEGF – фактора росту ендотелію судин (мал. 2).

Отже, на даному етапі розвитку пухлини формується її певний ангиогенний потенціал, який реалізується через секрецію фактора росту ендотелію судин, що в свою чергу стимулює процеси пухлинного неоангіогенезу. В процесі останнього формуються морфологічно незрілі судини, які забезпечують трофіку ракових клітин.

В пухлинних комплексах, що проростають через хрящі гортані в суміжні органи та тканини, тобто в ділянках найбільш глибокої інвазії карциноми, спостерігаються лише сліди експресії цитокератину СК34βЕ12. Більш-менш виражена експресія даного маркера визначається в центральній частині «ракової перлини», яка представлена осередком зроговіння. Навколо осередку зроговіння розташовані веретеноподібні клітини, в яких експресії цитокератину практично відсутня. По периферії від них визначаються клітини великих розмірів із низьким ступенем експресії цитокератину. Проте, іноді навколо «ракової перлини» зустрічаються клітини, що мають витягнуту форму та високий ступінь експресії цитокератину СК34βЕ12 (мал. 3).

Необхідно зазначити, що в ділянках глибокої інвазії плоскоклітинної карциноми гортані в окремих клітинах спостерігається експресія протоонкогену р63 (мал. 4).

Згідно даним літератури [2; 4], протоонкоген р63 в нормі експресується лише в ембріональних клітинах, а також в стовбурових та недиференційованих епітеліоцитах дорослої людини. В зв'язку з цим, експресія останнього, вочевидь, свідчить про виражену катаплазію таких ракових клітин.

Отже, результати проведених досліджень свідчать, що комплекси плоскоклітинної карциноми гортані суттєво відрізняються як за будовою, так і імуногістохімічними властивостями. Поява таких гетерогенних комплексів, очевидно, пов'язана із різними стадіями пухлинної прогресії – стадійного селективного фенотипічного відбору неопластичних клітин.

Висновки.

1. В ділянках поверхневої інвазії плоскоклітинної карциноми гортані простежується певний паралелізм між характером експресії цитокератину СК34βЕ12 та мутованого онкопротейну р53. Це свідчить, що порушення процесів кератинізації в ракових клітинах, очевидно, пов'язані із постмутантною інактивацією онкосупресорної функції антионкогену р53.

2. В пухлинних комплексах, що проростають в фіброзноеластично-м'язевий шар гортані, визначається значно нижчий рівень експресії цитокератину

СК34βE12, проте відбуваються процеси пухлинного неоангіогенезу, що підтверджується експресія VEGF в ендотелії синусоїдних кровоносних судин.

3. В ділянках найбільш глибокої інвазії плоскоклітинної карциноми гортані спостерігаються лише сліди експресії цитокератину СК34βE12. Крім того, в окремих ракових клітинах визначається експресія протоонкогену p63, яка свідчить про виражену їх катаплазію.

Список літератури.

1. Абизов Р. А. Онкоотоларингологія. Лекції / Абизов Р. А. – К.: Книга плюс, 2001. – 272 с.
2. Заридзе Д. Г. Канцерогенез / Заридзе Д. Г. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.
3. Имянитов Е. Н. Современные представления о злокачественной трансформации / Е. Н. Имянитов, К. П. Хансон // Практическая онкология. – 2006. – Т. 6, № 1. – С.7–12.
4. Копнин Б. П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза / Б. П. Копнин // Биохимия. – 2000. – Т. 65. – С.5–33.
5. Копнин Б. П. Неопластическая клетка: основные свойства и механизмы их возникновения / Б. П. Копнин // Практическая онкология. – 2002. – Т. 3, № 4. – С. 229–235.
6. Молекулярная диагностика опухолей: фундаментальные основы и практическое применение: монография / [С. П. Осинский, Д. Ф. Глузман, Й. Клифф и др.] – К, 2007. – 248 с.
7. Пачес А. И. Опухоли головы и шеи / Пачес А. И. – М.: Медицина, 2000. – 467с.
8. Шалимов С. А. Структура заболеваемости населения Украины злокачественными новообразованиями / С. А. Шалимов, З. П. Федоренко, Л. О. Гулак // Онкология. – 2001. – Т. 3, № 2–3. – С. 91–95.
9. Blons H. TP53 and head and neck neoplasms / H. Blons, P. Laurent-Puig // Human Mutation. – 2003. – Vol. 21. – P. 252–257.

10. Sidransky D. Emerging molecular markers of cancer / D. Sidransky // Nat. Rev. Cancer. – 2002. – Vol. 2. – P. 210–219.
11. Gleich L. L. Molecular genetics of head and neck cancer / L. L. Gleich, F. N. Salamone // Cancer Control. – 2002. – Vol. 9, № 5. – P. 369–378.
12. Dabbs D. J. Diagnostic immunohistochemistry / Dabbs D. J. – New York: Churchill Livingstone, 2006. – 828 p.
13. Global cancer statistics / D. Parkin, F. Bray, J. Felay [et al.] // CA Cancer J. Clin. – 2005. – Vol. 55. – P. 74–108.
14. World Health Organization of Tumor's Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours / Eds. L. Barnes, J. Eveson, P. Richard, D. Sidransky. – Lyon : IARC Press, 2005. – 430 p.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення імуногістохімічних особливостей в подальшому може бути використано для прогнозування клінічного перебігу та ефективності лікування плоскоклітинного раку гортані.

УДК 616.22-006.04-071

Імуногістохімічні особливості плоскоклітинного раку гортані

Гасюк Ю.А., Зачепило С.В., Веклич Ю.С., Хавер О.А.

Резюме. В результаті проведених досліджень встановлено, що в залежності від глибини інвазії комплекси плоскоклітинної карциноми гортані відрізняються за будовою та імуногістохімічними властивостями. В ділянках поверхневої інвазії простежується певний паралелізм між характером експресії цитокератину СК34βЕ12 та мутованого онкопротеїну р53. В пухлинних комплексах, що проростають в фіброзноеластично-м'язевий шар гортані, визначається більш низький рівень експресії цитокератину СК34βЕ12, проте відбуваються процеси пухлинного неоангіогенезу, що підтверджується експресія VEGF в ендотелії синусоїдних кровоносних судин. В ділянках найбільш глибокої інвазії плоскоклітинної карциноми гортані спостерігаються лише сліди експресії цитокератину СК34βЕ12. Крім того, в окремих ракових клітинах визначається експресія протоонкогену рб3, яка свідчить про виражену їх катаплазію.

Ключові слова: плоскоклітинний рак гортані, імуногістохімія.

УДК: 616.22-006.04-071

Иммуногистохимические особенности плоскоклеточного рака гортани

Ю.А. Гасюк, С.В. Зачепило, Ю.С. Веклич, А.А. Хавер

Резюме. В результате проведенных исследований установлено, что в зависимости от глубины инвазии комплексы плоскоклеточной карциномы гортани отличаются по строению и иммуногистохимическим свойствам. В участках поверхностной инвазии прослеживается определенный параллелизм между характером экспрессии цитокератина СК34βЕ12 и мутированного онкопротеина р53. В опухолевых комплексах, которые прорастают в фиброзноэластично-мышечный слой гортани, определяется более низкий уровень экспрессии цитокератина СК34βЕ12, однако происходят процессы опухолевого неоангиогенеза, что подтверждается экспрессией VEGF в эндотелии синусоидных кровеносных сосудов. В участках наиболее глубокой инвазии плоскоклеточной карциномы гортани наблюдаются лишь следы экспрессии цитокератина СК34βЕ12. Кроме того, в отдельных раковых клетках определяется экспрессия протоонкогена р63, которая свидетельствует о выраженной их катаплазии.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак гортани, иммуногистохимия.

УДК:616.22-006.04-071

Immunohistochemical features of squamous cell cancer of larynx

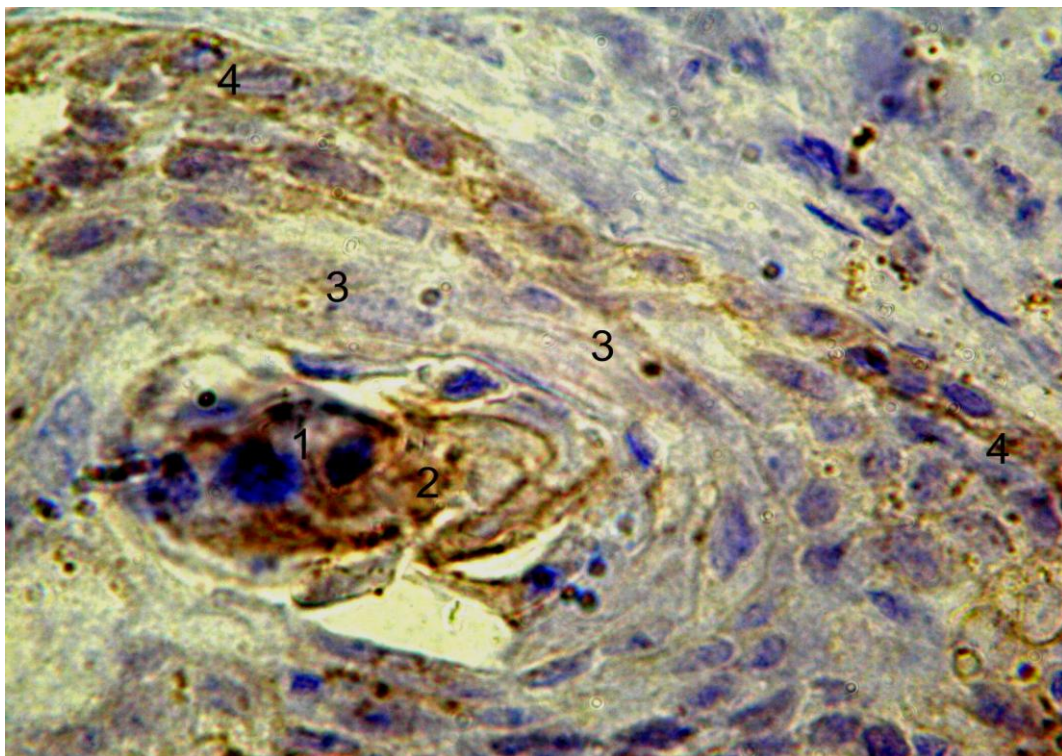
Y.A. Gasyuk, S.V. Zachepilo, Y.S. Veklich, A.A. Haver

Summary. As a result of the conducted researches it was set, that depending on the depth of invasion the complexes of squamous cell carcinoma of larynx differ on a structure and immunohistochemical properties. In the areas of superficial invasion certain parallelism is traced between character of expression of cytokeratine СК34βЕ12 and mutated oncoprotein p53. In tumor complexes which germinate in the fibroelastic-muscular layer of larynx, more low level of expression of cytokeratine СК34βЕ12 is determined, however there are processes of tumor neoangiogenesis, that confirmed by expression of VEGF in the endothelia of sinusoid blood vessels. There are only tracks of expression of cytokeratine СК34βЕ12 in the areas of the

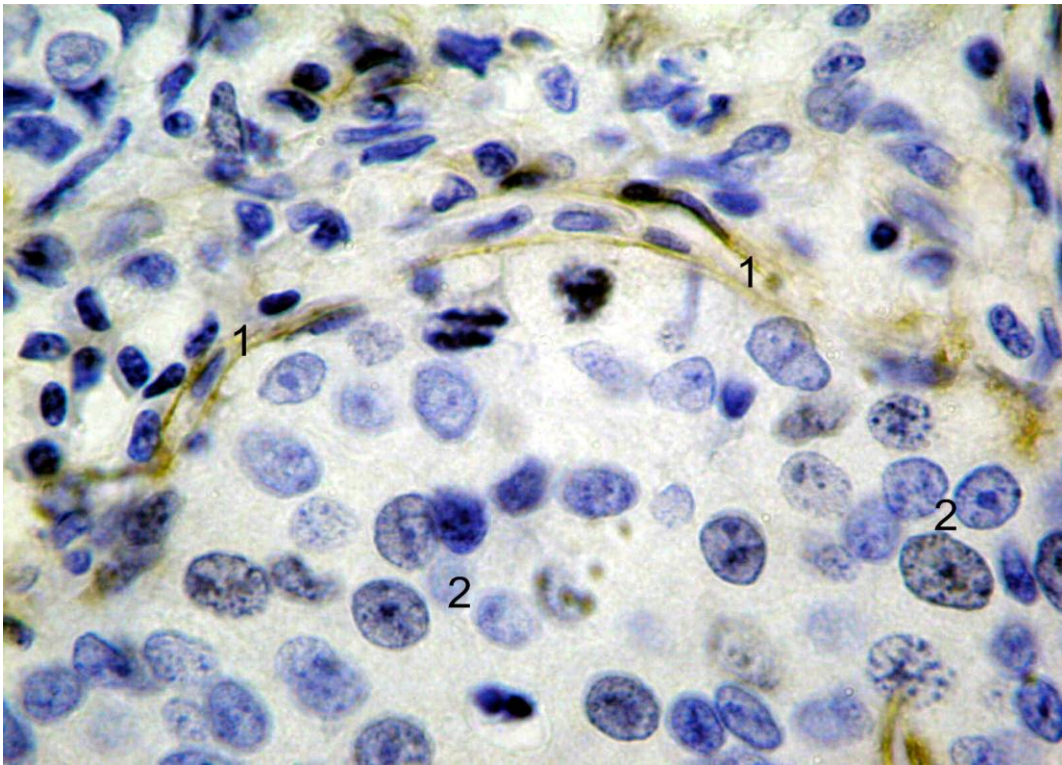
most deep invasion of squamous cell carcinoma of larynx. In addition, expression of protooncogene p63 is determined in some cancer cells, which testifies about their expressed cataplasia.

Keywords: squamous cell cancer of larynx, immunohistochemistry.

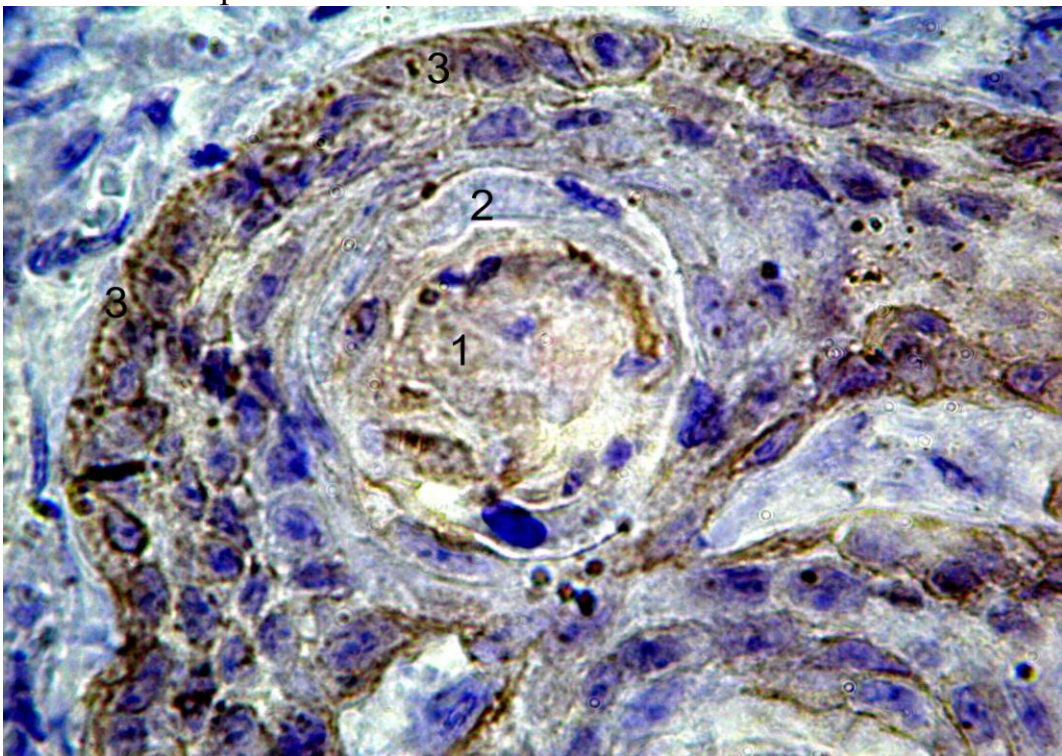
Гасюк Юрій Анатолійович: Полтава, вул. Жовтнева 26/14 кв.88, тел. 29149,
Полтава, ул. Шевченко 23, р. тел. 564494



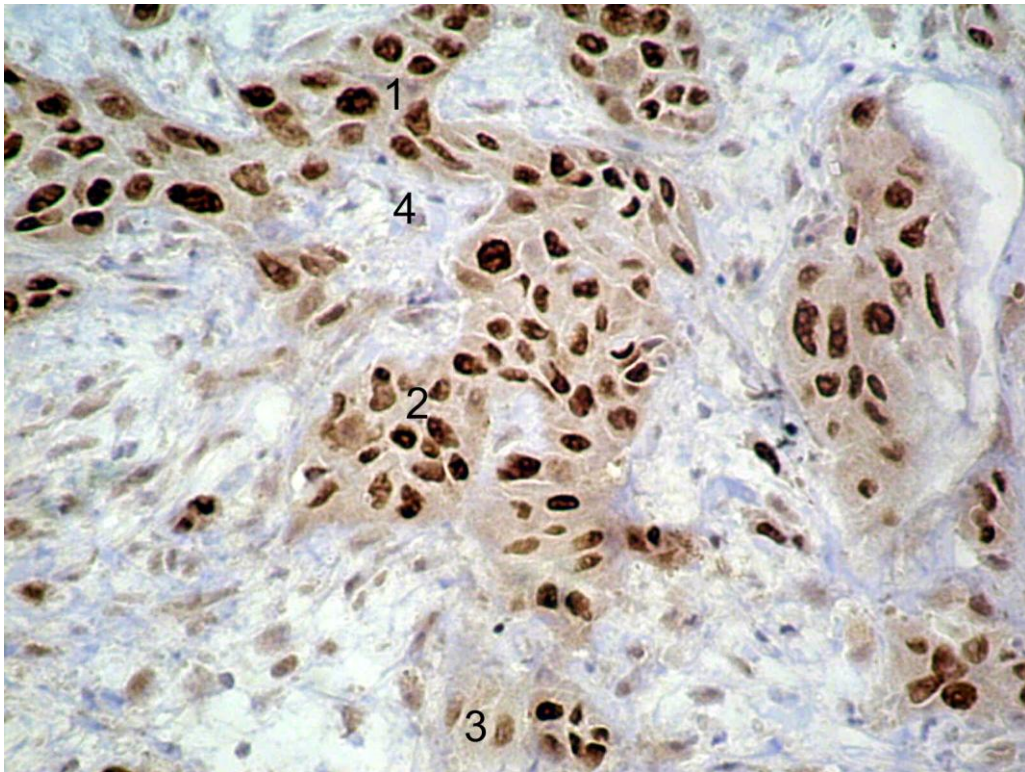
Мал. 1. Експресія цитокератину СК34βЕ12 в комплексі плоскоклітинної карциноми гортані: 1. – петрифікат; 2. – високий ступінь експресії в зроговілих лусочках; 3. – клітини з низьким ступенем експресії; 4. – клітини з помірною експресією. ІГХ метод, заб. на цитокератин СК34βЕ12. Зб. 100×10.



Мал. 2. Експресія VEGF в комплексі плоскоклітинної карциноми гортані: 1. – помірна експресія в ендотелії капілярноподібних кровоносних судин, що формуються; 2. – ракові клітини. ІГХ метод, додаткове забарвлення гематоксиліном Маєра. Зб.100×10.



Мал. 3. Експресія цитокератину СК34βЕ12 в ділянці глибокої інвазії плоскоклітинної карциноми гортані: 1. – осередок зроговіння; 2. – відсутність експресії в веретеноподібних клітинах; 3. – низький ступінь експресії в клітинах. ІГХ метод, забарвлення на цитокератин СК34βЕ12. Зб. 100×10.



Мал. 4. Експресія р63 в ділянці глибокої інвазії плоскоклітинної карциноми гортані: 1. – високий ступінь експресії; 2. – помірна експресія; 3. – низький ступінь експресії; 4. – відсутність експресії.
ІГХ метод, додаткове забарвлення гематоксиліном Маєра. Зб. 20×10.