



МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ, МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОММУНИКАЦИОННЫХ СИСТЕМ В ТКАНЯХ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

**И.А. БЕХТЕРЕВА
А.Е. ДОРОСЕВИЧ**

*Смоленский областной
институт патологии*

e-mail: biapatan@yahoo.com

В статье даны морфологические, морфометрические и иммуногистохимические особенности коммуникационных систем в тканях рака шейки матки. В тканях контрлатеральной зоны по мере нарастания цервикальной интраэпителиальной неоплазии идет перестройка сосудов, которая сопровождается изменением гистоархитектоники и гистотопографии сосудов и характеризуется формированием сосудисто-эпителиальных ассоциаций. В тканях зоны опухоли имеются нарушения в гистотопографии сосудов микроциркуляторного русла, что сопровождается хаотичным расположением капилляров, венул и артериол, формированием густой сосудистой сети рядом с опухолевыми структурами. Также по мере нарастания цервикальной интраэпителиальной неоплазии и трансформации в раковый процесс, значительно увеличивается площадь сосудистого русла и количество позитивных структур к рецептору фактора роста нервов.

Ключевые слова: рак шейки матки, цервикальная интраэпителиальная неоплазия, микроциркуляторное русло, коммуникационные системы.

При патологии шейки матки (ШМ), обусловленной вирусом папилломы человека, наблюдается нарушение гомеостаза [3, 5]. Механизмы, определяющие возможные морфогенетические потенции патологического процесса, можно раскрыть путем изучения межклеточных взаимодействий, поддерживающих структуру и функцию любой ткани, включая и опухолевую, т.к. известно, что изменения эпителиального и стромального компонентов происходят синхронно [1, 9]. Комплексное исследование взаимоотношений эпителиальных и стромальных элементов различного происхождения невозможно без синхронного изучения различных клеточных регуляторов, морфометрических и иммуногистохимических маркеров прогрессии рака шейки матки (РШМ), что принято называть коммуникационными системами (КС). Коммуникационные системы – это открытые системы, состоящие из совокупности структурно-функциональных единиц: сосуды микроциркуляторного русла, нервные терминалы, непосредственное клеточное окружение указанных структур, находящихся в гистофизиологических взаимоотношениях, обеспечивающих структурные основы гомеостаза [2]. В осуществлении межклеточных взаимодействий значительная роль принадлежит внутриклеточным регуляторам [4, 6, 7, 8, 10]. Путем уточнения их взаимодействия со специфическими рецепторами на клетках-мишенях в периваскулярных зонах РШМ, можно раскрыть вероятную роль таких взаимоотношений в стартовых процессах инвазии РШМ.

Цель исследования. Выявить гистотопографические особенности сосудов микроциркуляторного русла (МЦР) и изучить характер распределения рецепторов фактора роста нервов в ткани РШМ и контрлатеральной зоне.

Материалы и методы. В работе использовались ткани плоскоклеточного РШМ от 30 женщин возрасте от 20 до 55 лет. Материал забирался после проведения оперативного лечения из двух зон: зона опухоли и контрлатеральная зона (КЛЗ) – по 30 образцов. Исследование материала проводилось на парафиновых срезах, которые окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону, Габу-Дыбану, проводили иммуногистохимическое исследование (стрептавидин-биотиновый метод) с CD34 (class II, clone QVEnd-10) для выявления эндотелия и NGFR, p75^{NGFR} (clone NGFR5) – рецептор фактора роста нервов (фирмы ДАКО, Дания). Исследования микропрепаратов, окрашенных стрептавидин-биотиновым методом выполнялись на микроскопе «Axiostar plus» (Carl Zeiss, Германия), совмещённом с видеокамерой «Progres C10 Plus» (Jenoptik Jena, Германия). Документирование результатов осуществлялось при помощи компьютерной программы «ВидеоТест 4.0. Морфология» (рис. 1, 2).

Результаты исследований. Контрлатеральная зона – наблюдались признаки папилломатозного поражения (ВПЧ) и явления цервикальной интраэпителиальной неоплазии (ЦИН) различной степени выраженности.

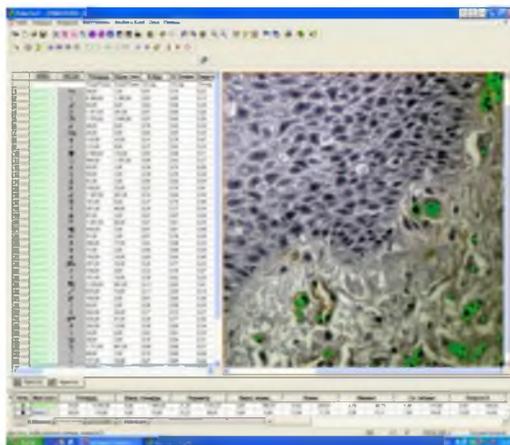


Рис. 1. Определение площади сосудистого русла в ткани РШМ в КЛЗ с помощью программы «ВидеоТест 4.0»

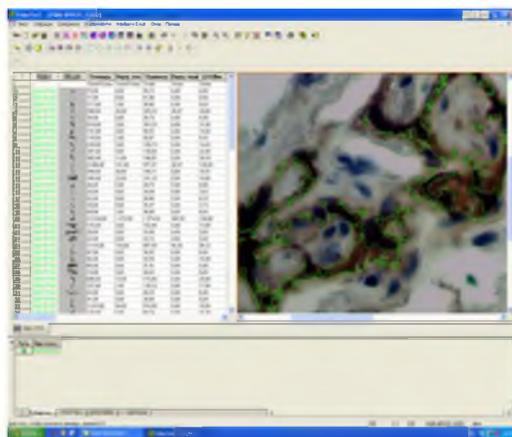


Рис. 2. Определение экспрессии NGFR в ткани РШМ в КЛЗ с помощью программы «ВидеоТест 4.0»

Сосуды МЦР на светооптическом уровне сохраняли типичное гистологическое строение: артериолы имели трехслойное строение, характерное для сосудов артериального типа. Строение венул и капилляров также соответствовало классическим описаниям данных структур. Коллагеновый и эластический каркас во всех типах сосудов был сохранен, однако отмечались истончение и разволокнение коллагеновых и эластических волокон, особенно в зонах выраженного клеточного инфильтрата и ЦИН 2-3 степени (рис.3, 4).

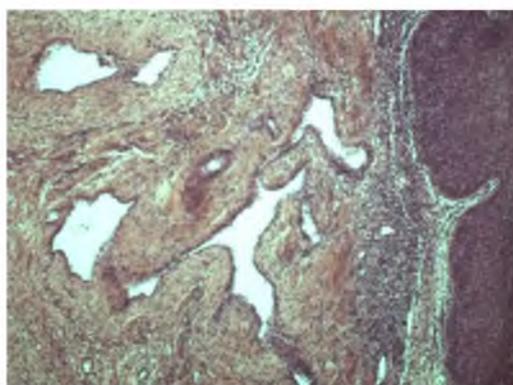


Рис. 3. Ткань КЛЗ (признаки ЦИН 3ст/carcinoma in situ; наблюдение № 56). Видны сосуды различного строения (капилляры, венулы, артериолы), в субэпителиальных отделах располагается клеточный инфильтрат. Окраска гематоксилином и эозином x100

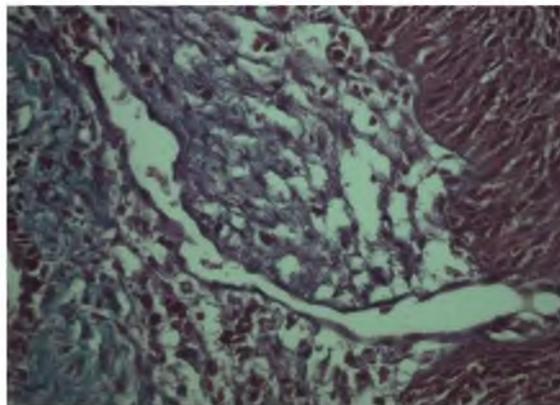


Рис. 4. Ткань КЛЗ (признаки ЦИН 3ст; наблюдение № 56). Субэпителиально видна венула с врастанием в эпителий. Окраска Габу-Дыбану x 400.

Следует отметить, что по мере нарастания дисплазии многослойного плоского эпителия отмечались перестройка сосудов МЦР. Так, при ЦИН 1 степени в субэпителиальной зоне в строме обнаруживались немногочисленные капилляры со слабо выраженными признаками пролиферации эндотелия (рис. 5). Как правило, диаметр данных сосудов небольшой и располагались они горизонтально по отношению к многослойному плоскому эпителию (рис. 7, 8).

В тканях шейки матки с ЦИН 2 степени наблюдалась изменения гистоархитектоники сосудов. Венулы и капилляры имели вертикальное расположение, и нередко, подрастали к многослойному плоскому эпителию (рис. 6).

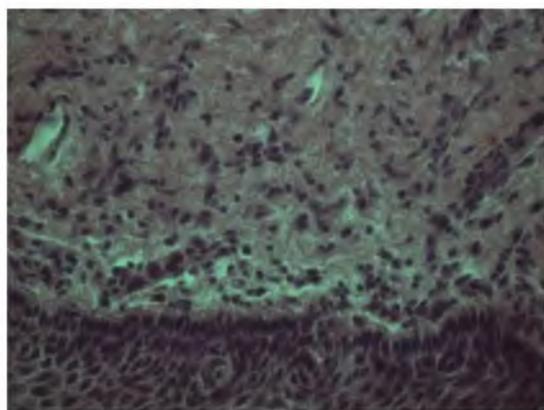


Рис. 5. Ткань КЛЗ (признаки ЦИН 1ст; наблюдение № 47). Субэпителиально видны множественные капилляры с пролиферацией эндотелия. Окраска гематоксилином и эозином x200

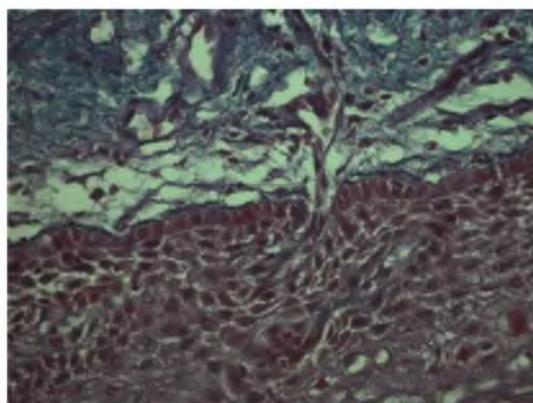


Рис. 6. Ткань КЛЗ (признаки ЦИН 2ст; наблюдение № 49). Субэпителиально видны множественные капилляры с пролиферацией эндотелия и подрастанием к эпителию. Окраска Габу-Дыбану x 400

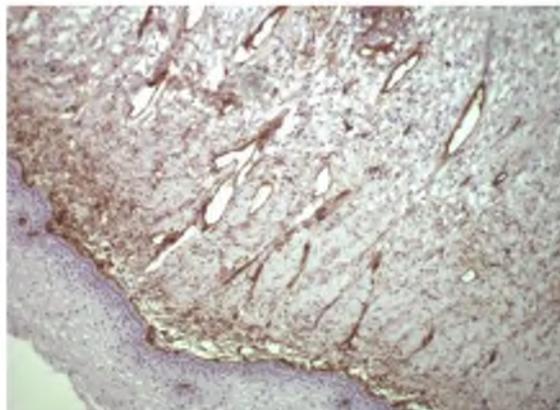


Рис. 7. Ткань КЛЗ (признаки ВПЧ наблюдение № 45).
Капилляры, подрастающие к эпителию x 100.

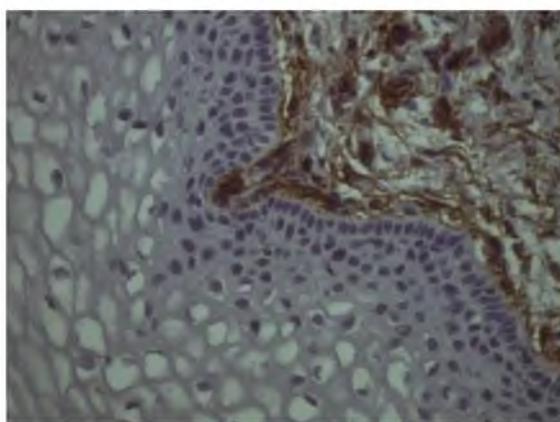


Рис. 8. Ткань КЛЗ (признаки ВПЧ наблюдение № 45).
Видна сеть сосудов (капилляры, венулы) x 400.

При ЦИН 3 степени в тканях ШМ наблюдалась перестройка сосудистого русла, увеличивалось количество капилляров и венул в субэпителиальной зоне, отмечалось увеличение венул и капилляров подрастающих вплотную к базальной мембране (рис. 3, 4).

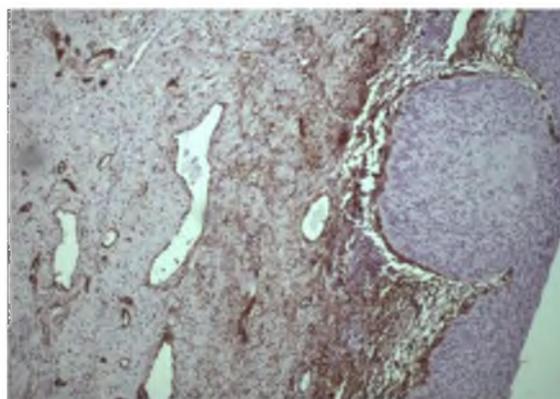


Рис. 9. Ткань КЛЗ (признаки ЦИН 3ст./carcinoma in situ; наблюдение № 56).
Капилляры, подрастающие к эпителию x 200

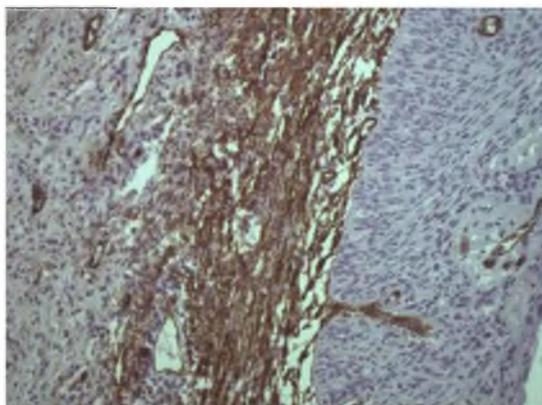


Рис. 10. Ткань КЛЗ (признаки ЦИН 3 ст.; наблюдение № 56).

Видна густая сеть сосудов (капилляры, венулы) х 200.

Примечание: Рис. 7,8,9,10. Стрептавидин – биотиновый иммунопероксидазный метод (СД 34), докраска гематоксилином.

В отдельных случаях отмечалось врастание сосудов в многослойный плоский эпителий (рис. 9, 10). Так же имел место обильный лимфоцитарный, плазмочитарный и гистиоцитарный инфильтрат, который располагался периваскулярно в субэпителиальной зоне (рис.3). Экспрессия NGFR в нервных структурах была выявлена во всех исследуемых случаях. Отмечалась выраженная иммунодетекция в нервных волокнах. При этом они располагались как в глубоких отделах стромы (рис. 11, 12), так и субэпителиально.

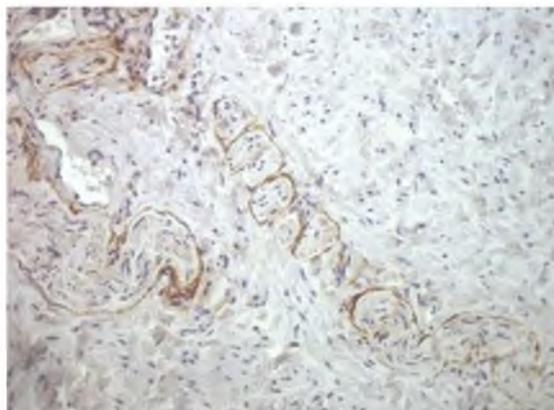


Рис. 11. Ткань КЛЗ (наблюдение № 44). Умеренная экспрессия NGFR в нервных структурах стромы х 200. Стрептавидин – биотиновый иммунопероксидазный метод, докраска гематоксилином

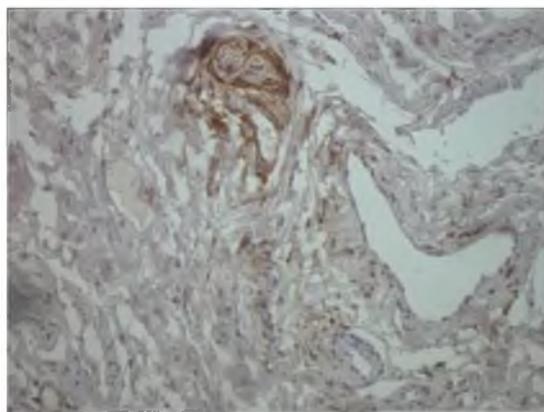


Рис. 12. Ткань КЛЗ (наблюдение № 56). Глубокие отделы стромы с сосудами МЦР и яркой экспрессией NGFR в нервных структурах стромы х 400. Стрептавидин – биотиновый иммунопероксидазный метод, докраска гематоксилином

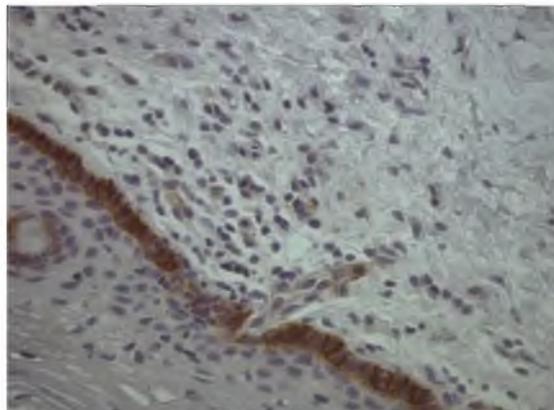


Рис. 13. Ткань КЛЗ от РШИМ вне зоны поражения ВПЧ (наблюдение № 56).
Выраженная экспрессия NGFR базальном слое многослойного плоского эпителия x 400.
Стрептавидин-биотиновый иммунопероксидазный метод, докраска гематоксилином

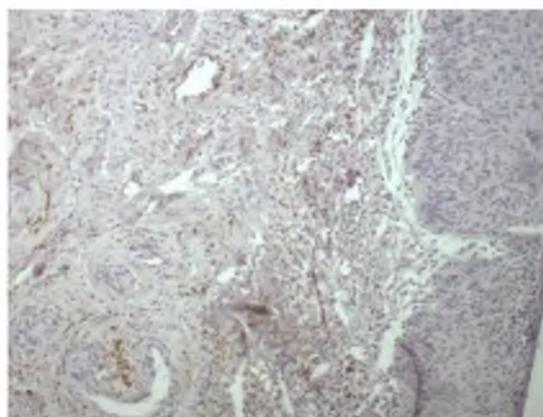


Рис.14 Ткань КЛЗ (признаки ЦИН 3 степени/carcinoma in situ; наблюдение № 56).
Экспрессия NGFR нервных структурах стромы, отсутствие экспрессии в клетках многослойного плоского эпителия x 100. Стрептавидин – биотиновый иммунопероксидазный метод, докраска гематоксилином

В ряде случаев клетки инфильтрата окружали NGFR позитивные нервные волокна. Данное антитело накапливалось в клетках базального слоя многослойного плоского эпителия (МПЭ) (рис. 13). Экспрессия данного маркера в клетках МПЭ зависела от степени ЦИН. При ЦИН 1 степени отмечалась выраженная, но неравномерная экспрессия NGFR в клетках эпителия, встречались участки с негативной реакцией.

При ЦИН 2 степени экспрессия NGFR была хорошо выражена в базальном и парабазальном слоях МПЭ. В нервных волокнах сохранялась умеренная экспрессия данного антитела. При ЦИН 3 степени отмечалась яркая экспрессия данного маркера во всех слоях МПЭ. Однако, встречались случаи, когда экспрессия NGFR полностью отсутствовала в МПЭ (рис. 14), а в нервных волокнах экспрессия была слабо или умеренно выраженная. Экспрессия данного антитела была обнаружена в лимфоцитах и макрофагах.

Зона опухоли – микрососуды были представлены артериолами, капиллярами и венулами и имели классическое строение. Однако, присутствовали псевдососуды по типу примитивных тканевых каналов и щелей, ограниченных опухолевыми клетками. Следует отметить нарушение в гистотопграфии сосудов микроциркуляторно русла. Рядом с раковыми комплексами находились преимущественно венозного и капиллярного типов (рис. 15, 16, 18). Они образовывали густую сосудистую сеть (рис. 17, 19). Сосуды артериального типа, были окружены мощными прослойками соединительной ткани. Эластический и коллагеновый каркас сосудов с признаками выраженной дезорганизации (рис. 16). На отдельных участках полностью разрушен опухолевыми клетками, отмечались опухолевая инвазия и опухолевые эмболы в сосудах. Вокруг сосудов веноулярного и капиллярного типов наблюдалась выраженная лимфо-плазмодитарная и гистиоцитарная инфильтрация (рис. 18).

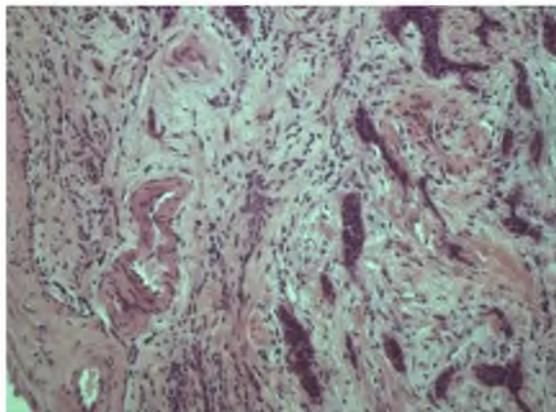


Рис. 15. Ткань РШМ в зоне опухоли (наблюдение № 39). Видны мелкие опухолевые фокусы, рядом лежат капилляры и венулы. Артериолы находятся на отдалении, окруженные соединительнотканными прослойками. Окраска гематоксилином и эозином х 100

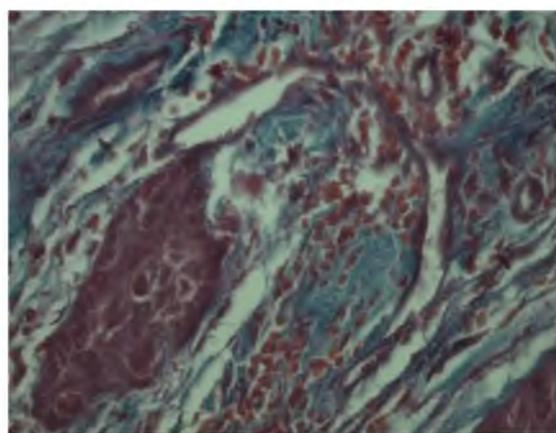


Рис. 16. Ткань РШМ в зоне опухоли (наблюдение № 39). Видны венулы с дезорганизацией эластических и коллагеновых волокон стенки с вращением опухолевых клеток в сосудистую стенку. Окраска по Габу-Дыбану х 400

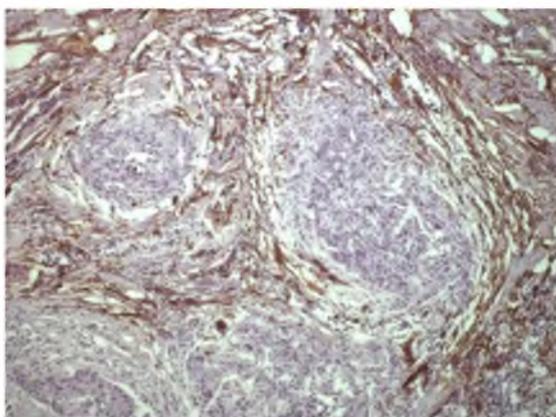


Рис. 17. Ткань РШМ в зоне опухоли (наблюдение № 29). Густая сосудистая сеть вокруг опухолевых комплексов х 100

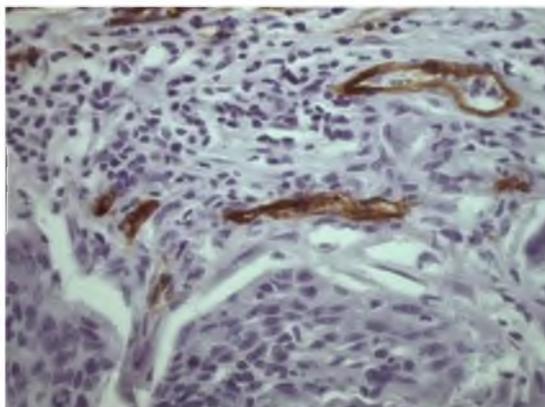


Рис. 18. Ткань РШМ в зоне опухоли (наблюдение № 29).

В строме гнезда опухолевых клеток, вокруг капилляры, венулы и лимфогистиоцитарный инфильтрат х 400.
Примечание: рис. 17, 18. Стрептавидин – биотинный иммунопероксидазный метод (СД 34), докраска гематоксилином

Была выявлена выраженная мембранная иммунодетекция в эндотелиальных клетках всех типов сосудов (рис.17, 18).

Экспрессия NGFR в нервных структурах в тканях контрлатеральной зоны от РШМ и в зоне опухоли была выявлена во всех исследуемых случаях. Отмечалась иммунодетекция в нервных волокнах в данной зоне (рис. 20). При этом большинство нервных волокон располагались в строме между опухолевыми клетками. На отдельных участках нервные структуры находились в непосредственной близости от раковых клеток.

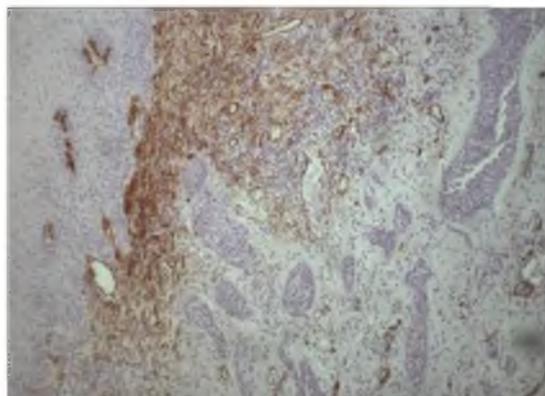


Рис. 19. Ткань РШМ зона опухоли (наблюдение № 39). Слева МПЭ с признаками ЦИН 3ст. и хорошо выраженной сетью сосудов, которая частично окружает комплексы инвазивного плоскоклеточного рака х 100

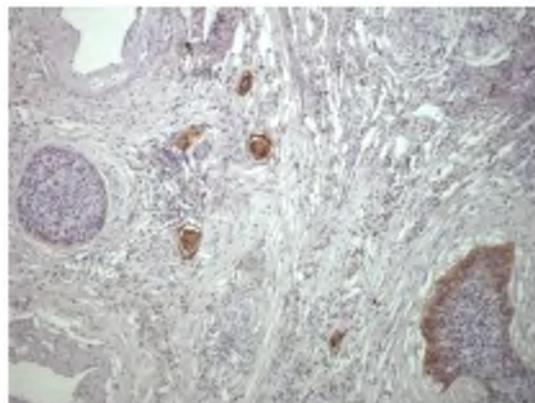


Рис. 20. Ткань РШМ в зоне опухоли (наблюдение № 29).

Умеренная экспрессия NGFR в клетках сохраненного базального слоя многослойного плоского эпителия и в нервных структурах, в опухолевых клетках экспрессия отсутствует х 100



Следует отметить, что данное антитело накапливалось в клетках сохраненных участков базального слоя многослойного плоского эпителия (рис. 20, 22). При этом экспрессия была слабой или умеренной. В опухолевых клетках раковых комплексов данное тело не экспрессировалось (рис. 21).

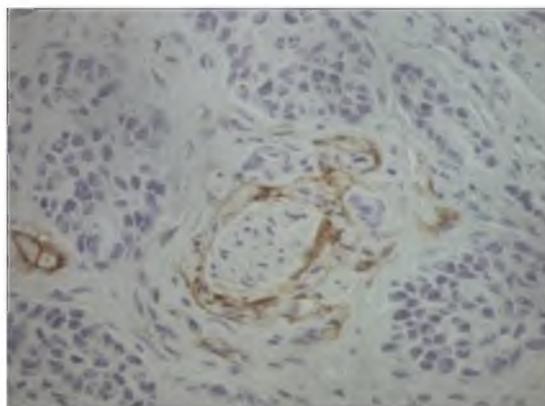


Рис. 21. Ткань РШМ в зоне опухоли (наблюдение № 34). Слабая экспрессия NGFR в нервных структурах стромы x 400

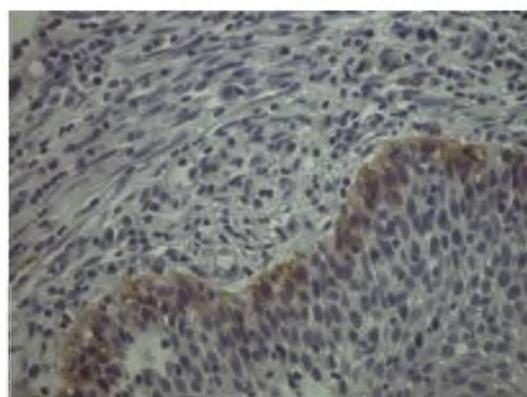


Рис. 22. Ткань РШМ в зоне опухоли (наблюдение № 35). Слабая экспрессия NGFR в клетках сохраненного базального слоя многослойного плоского эпителия x 400
Примечание: рис. 19, 20, 21, 22. Стрептавидин биотиновый иммунопероксидазный метод, докраска гематоксилином.

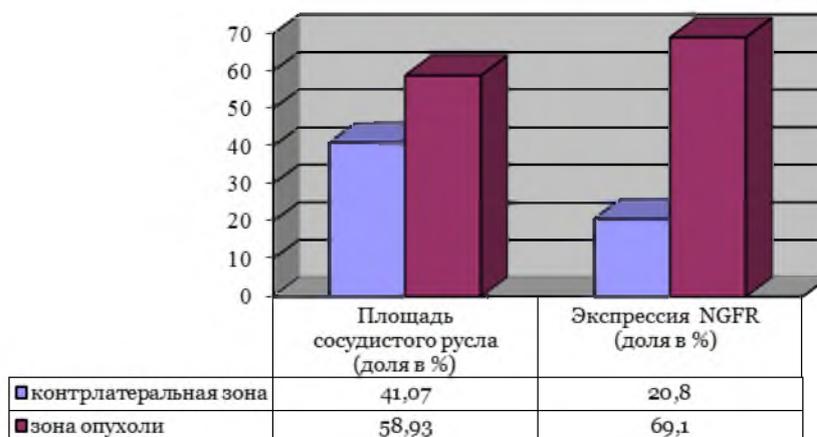


Рис. 23. Площадь сосудистого русла (по CD34) и экспрессия NGFR в ткани РШМ

Было проведено определение площади сосудистого русла. При сравнении площади сосудистого русла контрлатеральной зоны и зоны опухоли видно (рис. 23), что площадь сосудистого русла в зоне опухоли на 17, 86% больше, чем в контрлатеральной зоне. При этом различия были значимы ($p < 0,05$). Как видно из рисунка 25 в ткани РШМ в зоне опухоли количество NGFR позитивных элемен-



тов на 48,3% больше, чем в контрлатеральной зоне от РШМ. При этом различия были значимы ($p < 0,05$).

Заключение. В тканях контрлатеральной зоны по мере нарастания ЦИН идет перестройка сосудов МЦР, которая сопровождается изменением гистоархитектоники и гистотопографии сосудов МЦР и характеризуется формированием сосудисто-эпителиальных ассоциаций. В тканях зоны опухоли имеется нарушение в гистотопографии сосудов МЦР, которое характеризуется хаотичным расположением капилляров, венул и артериол и формированием густой сосудистой сети рядом с эпителиальными опухолевыми структурами. В тканях РШМ по мере нарастания ЦИН и трансформации в раковый процесс, значимо увеличивается площадь сосудистого русла и количество NGFR позитивных структур (рецептор фактора роста нервов).

Учитывая морфологические, морфометрические и иммуногистохимические изменения в тканях контрлатеральной зоне от РШМ позволяют утверждать, что данная зона ШМ должны исследоваться в клинической практике для исключения поражений предопухолевыми и опухолевыми процессами, что позволит дать рекомендации по тактике лечения и разработать критерии индивидуального прогноза.

Литература

1. Доросевич, А.Е. Роль коммуникационных систем в морфогенезе рака молочной железы / А.Е. Доросевич, О.А. Голубев, С.Ю. Абросимов, И.А. Бехтерева // Вопросы онкологии – 1998. – №4. – С. 398-402.
2. Доросевич, А.Е. Коммуникационные системы и опухолевый рост / А.Е. Доросевич // Актовая речь. – С.: Универсум, 2007. – 44 с. Козаченко В. П., 2000;
3. Кулаков, В. И. Проблемы злокачественных новообразований репродуктивной системы в практике гинеколога / В. И. Кулаков, А. А. Тохиян // Журнал акушерства и женских болезней. – 2001. – Т. L. – Вып. 1. – С. 9 – 12.
4. Пальцев, М.А. Межклеточные взаимодействия / М.А. Пальцев, А.А. Иванов, С.Е. Северин. - М.: Медицина, 2003. – 288 с.
5. Bosch, F.X. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer / F.X. Bosch, A. Lorincz, N. Munoz, [et al.]. // J. Clin. Pathol. – 2002. – Vol. 55. – P. 244-265.
6. Grace, V.M. Co-overexpression of p53 and bcl-2 proteins in HPV-induced squamous cell carcinoma of uterine cervix / J.V. Shalini, T.T. Lekha, [et al.]. // Gynecol. Oncol. 2003. – Vol. 91. – № 1. – P. 51-58.
7. Graflund, M. MIB-1, p53, and bcl-2, and WAF-1 expression in pelvic lymph nodes and primary tumors in early stage cervical carcinomas: correlation with clinical outcome / M. Graflund, B. Sorbe, M. Karlsson. // Int. J. Oncol. 2002. – Vol. 20. – № 95. – P. 1041-1047
8. Nair, P. Decreased programmed cell death in the uterine cervix associated with high risk human papillomavirus infection / P. Nair, K.M. Nair, P.G. Jayaprakash, M.R. Pillai. // Pathol. Onco. Res. – 1999. – Vol. 5. – № 2. – P. 95-103.
9. Sakakura, T. New aspects of stroma-parenchyma relations in mammary gland differentiation / T. Sakakura. // Int. Rev. Cytol. 1991. – Vol. 125. – P. 165 – 202.
10. Sheets, E.E. The role of apoptosis in gynaecological malignancies / E.E. Sheets, J. Yeh. // Ann Med. – 1997. – Vol. 29. – № 2. – P. 121-126.

MORPHOLOGICAL, MORPHOMETRIC AND IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISTIC OF COMMUNICATION SYSTEMS IN THE CERVICAL CARCINOMA TISSUES

**I.A. BEKHTERVA
A.E. DOROSEVICH**

*Smolensk Regional Institute
of Pathology*

e-mail: biapatan@yahoo.com

Morphological, morphometric and immunohistochemical description of communication systems in the cervical cancer tissues is given in this article. There is vessels` reconstruction in the tissues of contralateral region by the growth of cervical, intraepithelial neoplasia. This reconstruction is accompanied by the change of vessels` histoarchitectonics and histotopography and is characterized by vascularepithelial associations. There is abnormality in histotopography of vessels in the tissues of tumour`s region which is accompanied by the chaotic position of capillaries, venula and arteriola and formation of thick vascular net near tumours. Also by increasing of cervical intraepithelial neoplasia and transformation in cancer process the area of vascular net and number of positive structures is increasing considerably to the receptor of nerve`s growth factor.

Key words: cervical cancer, cervical intraepithelial neoplasia, microcirculatory network, communication system.