

Паренхиматозно-стромальные взаимоотношения в аденомах прямой кишки

Бычков А. В., кафедра патологической анатомии ГОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия Росздрава», г. Смоленск

Parenchymatous-stromal interrelations in rectal adenomas

Bychkov A. V.

Резюме

Представлены результаты микроморфометрического и иммуногистохимического изучения эпителиального и стромального компонентов в аденомах прямой кишки различных гистологических типов. Показано, что в морфогенетическом ряду «нормальная слизистая => тубулярная аденома => тубулярно-ворсинчатая аденома => ворсинчатая аденома» увеличивается абсолютное количество клеток паренхимы и стромы, а также изменяется характер межклеточных корреляций. Отмечено, что для полноценного определения прогностических факторов аденом прямой кишки необходимо параллельное исследование паренхиматозного и стромального компонентов новообразования.

Ключевые слова: аденомы прямой кишки, морфогенез, микроморфометрия

Summary

Adenomas are assumed to be the precursors of colorectal cancer. Micromorphometric and immunohistochemical study of surgical and biopsy materials of tubular (TA), tubulovillous (TVA) and villous (VA) rectal adenomas was performed.

A positive correlation between transition from one morphological category to another was found with an evident increase in the absolute number of parenchymal and stromal cells. During the tumor progression "normal mucosa => TA => TVA => VA" there is a gradual loss of correlations between cell elements of stroma that are isolated from each other. In a number of cases, according to the state of cellular infiltrate, degree of evident changes in the epithelial cells can be predicted. A full-value estimation of prognostic factors of rectal adenomas is possible only with a parallel study of parenchyma and stroma of the tumors.

Keywords: rectal adenomas, morphogenesis, micromorphometry

Введение

Рак прямой кишки оценивается на сегодняшний день как постоянно прогрессирующее в эпидемиологическом отношении заболевание — за последнее десятилетие показатели распространенности и смертности от данной патологии существенно возросли в Российской Федерации и во всем мире [1]. Молекулярный механизм развития рака прямой кишки хорошо изучен и предполагает развитие злокачественной опухоли из доброкачественной — аденомы [2]. Распространенность аденом прямой кишки в популяции достигает 30% [3]. Наиболее важными прогностическими факторами малигнизации аденом считаются: размер, гистологический тип и степень дисплазии эпителия. Так, общепризнанным является представление о прогрессировании аденом из тубулярных (ТА) в тубулярно-ворсинчатые (ТВА) и ворсинчатые

(ВА), что, в свою очередь, сопровождается нарастанием степени дисплазии эпителия [4].

Хорошо известно, что фенотипическим изменениям при развитии рака предшествуют молекулярно-генетические перестройки в эпителиальных клетках-предшественницах. Недавние исследования показали, что сходные изменения встречаются и в клетках стромы, более того, в отдельных случаях генетические повреждения в стромальных элементах опережают эпителиальные [5]. Микроморфометрическое изучение различных опухолей, основанное на методах биомедицинской статистики, выявило, что в ходе опухолевой прогрессии значительно изменяются параметры взаимоотношений как в системе «паренхиматозно-стромы», так и между различными стромальными клеточными популяциями [6]. Понятие «взаимоотношения» учитывает количественные показатели клеточных популяций, а также, что важно, характер корреляционных связей между ними. Изучение указанных параметров на последовательных этапах развития эпителиальных опухолей молочной железы показало, что динамика стромальных клеточных популяций способна предсказать поведение эпителиального компонента [7]. Таким образом, детальное изучение паренхиматозно-стромальных взаимодействий имеет не только диагностическую, но и прогностическую ценность.

Ответственный за ведение переписки -
 Бычков Андрей Викторович,
 214018, г. Смоленск, пр-т Гагарина, 28,
 Смоленский областной институт патологии,
 Телефон: 8 (4812) 38-34-71
 E-mail: andrey.bychkov@live.com

Целью исследования явилось изучение эпителиального и стромального компонентов в различных гистологических типах аденом прямой кишки.

Материал и методы

Производилось исследование операционного и биопсийного материала ТА, ТВА и ВА прямой кишки — по 30 случаев каждого гистологического типа. В качестве контроля изучены биоптаты слизистой прямой кишки без признаков атрофических, воспалительных и неопластических изменений (20 случаев). Анализируются анамнестические и эндоскопические признаки. Микроскопически исследовались срезы, окрашенные гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону, учитывался гистологический вариант аденомы и степень дисплазии эпителия. После обзорной микроскопии в параллельных срезах находили гистологически удаленные друг от друга сосуды микроциркуляторного русла. При увеличении $\times 900$ (с масляной иммерсией) производили подсчет в 10 полях зрения абсолютного количества клеточных элементов вокруг капилляров. Для оценки пролиферативной активности эпителия и состояния сосудистого русла (по 10 случаев из каждой группы) проведено иммуногистохимическое исследование. Экспрессию антигенов Ki-67 и CD31 определяли в парафиновых срезах непрямым иммунопероксидазным методом с помощью поликлональных кроличьих антител к человеческому антигену Ki-67 и CD31 («Dako», Дания). Положительную реакцию определяли путем выявления темно-коричневого ядерного (Ki-67) и мембранного (CD31) окрашивания антигена. Для каждого случая проводился подсчет Ki-67-позитивных клеток среди 1500 эпителиоцитов, затем вычислялось их соотношение. Данный показатель, умноженный на 100, обозначен как ин-

декс пролиферативной активности (ИПА). Площадь сосудистого русла определяли морфометрически с применением окулярной сетки А. А. Глаголева — в 10 полях зрения при увеличении $\times 400$ методом подсчета квадратов вычислялась относительная площадь кровеносного сосудистого русла. Математико-статистическая обработка данных проводилась с использованием критериев Kruskal-Wallis, Mann-Whitney, Spearman (непараметрические ранговые методы анализа), уровень значимости $p=0,05$. Вычисления, соответствующие алгоритмам данных критериев, автоматизированы в пакете программ Statgraphics Plus Version 5.0 (2000).

Результаты и обсуждение

Изучение медицинских карт пациентов показало, что аденомы были обнаружены преимущественно у пациентов из возрастной группы 50–69 лет (68,9% случаев). У 67,8% больных образование было выявлено впервые. Эндоскопически аденомы локализовались, в основном, в проксимальном отделе прямой кишки (5–10 см от ануса), превалирующий размер — до 1 см (54,5%), крупные опухоли (более 2 см) отмечены лишь в 22,2% случаев.

Важнейшие морфологические характеристики аденом приведены в таблицах 1 и 2.

Локализация пролиферирующих эпителиоцитов имела следующее распределение (рис. 1): в нормальной слизистой — базальные отделы крипт, в ТА — базальные и средние отделы, в ВА в пролиферацию включалась апикальная поверхность ворсинок и верхняя треть крипт. В целом, как в ВА, так и в ворсинчатых структурах ТВА, позитивное эпителиальное окрашивание Ki-67 носило диффузный характер. Указанные факты говорят не только о перемещении пролиферативного пула, но и о последовательном переходе в митотический режим все боль-

Таблица 1. Соотношение гистологического типа и размера аденом

Размеры аденомы	ТА		ТВА		ВА	
	количество наблюдений	%	количество наблюдений	%	количество наблюдений	%
1,0 см и менее	27	90	21	70	2	6,6
1,1–2,0 см	3	10	9	30	8	26,7
более 2,0 см	—	—	—	—	20	66,7
ВСЕГО	30	100	30	100	30	100

Таблица 2. Степень дисплазии эпителия в аденомах прямой кишки

Степень дисплазии	ТА		ТВА		ВА	
	количество наблюдений	%	количество наблюдений	%	количество наблюдений	%
слабая	18	60	9	30	2	6,6
умеренная	11	36,7	17	56,7	14	46,7
тяжелая	1	3,3	4	13,3	14	46,7
ВСЕГО	30	100	30	100	30	100

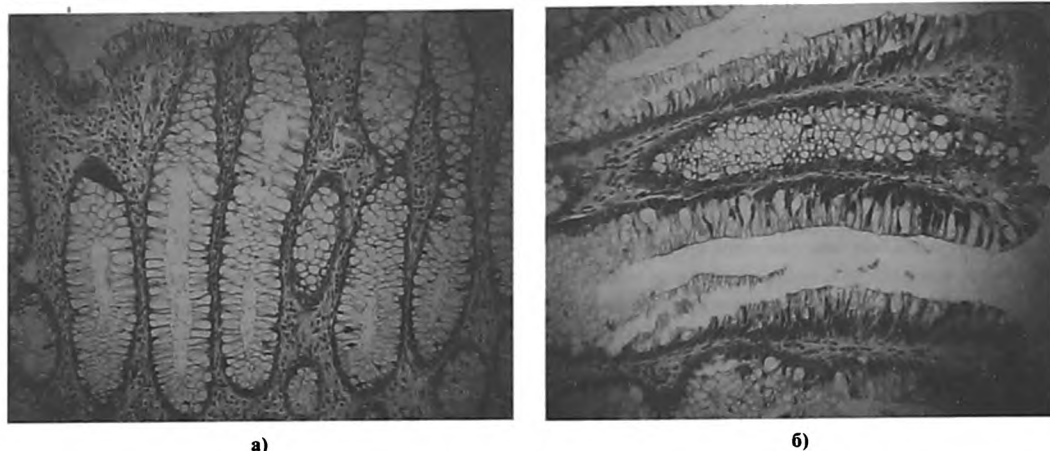


Рис. 1. Пролiferативный пул эпителиоцитов. Иммуногистохимическая реакция, моноклональные антитела к антигену Ki-67. В слизистой прямой кишки иммунопозитивные ядра локализуются у основания крипт, $\times 140$ (а). Для T4A характерно увеличение числа пролиферирующих клеток и их диффузная локализация, $\times 200$ (б).

шего числа клеток по всей длине крипты. В редких случаях Ki-67-позитивные клетки обнаруживались в строме, преимущественно в лимфатических фолликулах.

ИПА в группе контроля составил $20,9 \pm 0,7$, в ТА — $26,6 \pm 0,3$, в T4A — $36,8 \pm 1,3$, в BA — $47,1 \pm 1,7$. Выявлены достоверно значимые различия ($p < 0,05$) пролиферативной активности эпителия в следующих соседних парах: ТА—T4A, T4A—BA.

Микроциркуляторное русло в слизистой прямой кишки и аденомах представлено практически исключительно капиллярной составляющей. В большинстве полей зрения в аденомах были обнаружены капилляры: кровеносные, лимфатические и синусоиды. Капиллярное русло соответствует пространственной гистоархитектонике образования, повторяя профиль крипт или оплетая соединительнотканную основу ворсин. Строение капилляров в различных типах аденом сохраняет привычную гистологическую структуру, однако в BA обращает на себя внимание увеличение чис-

ла синусоидов и сопутствующих им кровоизлияний. Венолярное звено становится хорошо выраженным в стволовых ворсинчатых структурах со сформированной соединительнотканной основой. Артериолы чаще всего встречаются в ножке крупных экзофитных новообразований.

Площадь сосудистого русла характеризуют следующие показатели: группа контроля — $30,7 \pm 0,9$, ТА — $41,1 \pm 1,1$, T4A — $82,2 \pm 1,3$, BA — $274,3 \pm 7,3$. Выявлены достоверно значимые различия ($p < 0,05$) интенсивности васкуляризации в следующих соседних парах: ТА—T4A, T4A—BA.

Морфометрическое исследование клеточных популяций (табл. 3) проводилось лишь вокруг кровеносных капилляров, что объясняется физиологической ролью перикапиллярной зоны. Данное гистотопографическое поле является наиболее динамичным в плане смены клеточных популяций и реализации иммунного ответа, в том числе противоопухолевого.

Таблица 3. Содержание клеточных популяций в перикапиллярных зонах аденом

Клетка	слизистая прямой кишки	ТА	T4A	BA
эпителиоциты	$69,3 \pm 1,3$	$82,7 \pm 1,8$	$121,1 \pm 3,8$	$157,2 \pm 4,1$
лимфоциты	$21,5 \pm 0,7$	$24,7 \pm 1,4$	$31,1 \pm 1,1$	$58,6 \pm 1,8$
плазмоциты	$13,4 \pm 0,6$	$16,8 \pm 0,8$	$24,7 \pm 1,4$	$32,8 \pm 1,9$
макрофаги	$2,2 \pm 0,4$	$2,4 \pm 0,3$	$3,1 \pm 0,3$	$3,2 \pm 0,3$
фибробласты	$12,3 \pm 0,4$	$16,1 \pm 0,7$	$19,3 \pm 1,3$	$21,9 \pm 1,1$
фиброциты	$4,5 \pm 0,6$	$5,3 \pm 0,4$	$7,3 \pm 0,6$	$9,1 \pm 0,6$
полиморфноядерные лейкоциты	$4,9 \pm 0,3$	$5,3 \pm 0,3$	$5,1 \pm 0,4$	$10,2 \pm 0,6$

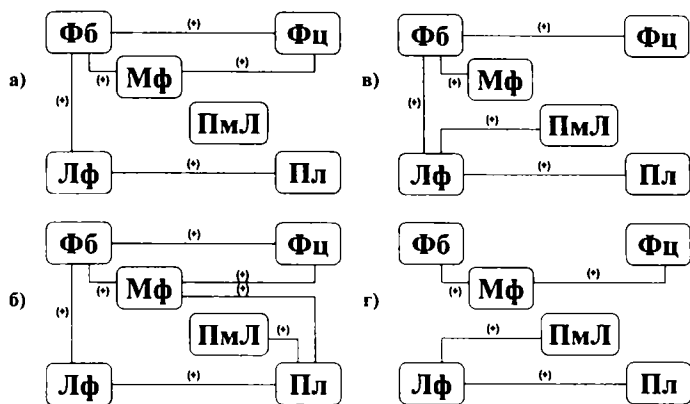


Рисунок 2. Корреляционные взаимосвязи элементов микроокружения сосудов микроциркуляторного русла в нормальной слизистой, ТА, ТВА и ВА прямой кишки (а-г, соответственно).

Условные обозначения: Фб — фибробласт, Фц — фиброцит, Мф — макрофаг, ПмЛ — полиморфноядерный лейкоцит, Лф — лимфоцит, Пл — плазмоцит. Характер корреляционной связи: (+) — прямой, (-) — обратный. Значимость коэффициентов корреляции на уровне $p < 0,05$.

В ряду «нормальная слизистая => ТА => ТВА => ВА» равномерно и сопряженно возрастает абсолютное количество практически всех изученных клеточных популяций. Как видно, качественного изменения клеточного состава в перикапиллярных зонах не происходит. В то же время в соседних парах статистически достоверным является увеличение по следующим позициям ($p < 0,05$): эпителиоциты и фибробласты (контроль—ТА), эпителиоциты, плазматические клетки и фиброциты (ТА—ТВА), эпителиоциты, лимфоциты, плазмоциты и полиморфноядерные лейкоциты (ТВА—ВА). Как отмечалось выше, ИПА при трансформации из нормальной слизистой в ТА не изменялся — по-видимому, число эпителиоцитов возрастало на данном этапе за счет нарушения процесса апоптоза.

Отмечены особенности распределения клеточных популяций относительно окружающих структур, причем данные закономерности не зависели от этапа опухолевого роста. Так, плазмоциты располагались преимущественно в виде небольших групп из 3–5 клеток. Эозинофилы локализовались перигландулярно с тенденцией распространения через базальную мембрану в железы. Клетки мезенхимального происхождения, выполняющие опорную функцию, находились рядом с пространственными структурами (крипты, сосуды): фиброциты — в непосредственной близости, фибробласты — на некотором отдалении. Популяции лимфоцитов был присущ следующий характер распределения: 1) перикапиллярно (10–15 мкм), 2) субгландулярно, 3) интраэпителиально.

Корреляционный анализ взаимосвязей клеток микроокружения капилляров позволил определить следующие особенности внутристромальных межклеточных коопераций (рис. 2). В контрольной группе существуют связи между гематогенными и гистиогенными клеточными популяциями, в создании которых активно участву-

ют фибробласты, макрофаги, лимфоциты и фиброциты. Данное обстоятельство позволяет оперативно реагировать на локальное изменение гомеостаза.

На самом раннем этапе опухолевого роста (ТА) отмечено увеличение числа корреляций и активизация такой классической внутриклеточной клетки-регулятора как макрофаг, который, наряду с фибробластом, замыкает на себе максимальное количество положительных корреляционных связей. В ТВА уменьшается количество корреляций, и макрофаг попадает в своеобразную изоляцию от других клеток. В ВА впервые на этапах опухолевой прогрессии число межклеточных взаимоотношений достигает минимума, но разобщения между гематогенными и гистиогенными популяциями не происходит. Интересной чертой, объединяющей доброкачественные эпителиальные опухоли прямой кишки, является участие в процессах межклеточной интеграции популяции полиморфноядерных лейкоцитов, чего не отмечалось при изучении паренхиматозно-стромальных взаимодействий в опухолях других локализаций [6].

Выводы

Суммируя представленную информацию, следует отметить, что существует положительная корреляция между переходом из одной морфологической категории аденомы в другую и увеличением абсолютного количества клеток паренхимы и стромы, что сопровождается изменением характера межклеточных корреляций. Последнее обстоятельство дает возможность в ряде случаев по состоянию клеточного инфильтрата предсказать степень выраженности изменений в эпителии. Полноценное определение прогностических факторов аденом прямой кишки возможно только при параллельном исследовании паренхиматозного и стромального компонентов новообразования. ■

Литература:

1. Jemal A., Siegel R., Ward E. et al. Cancer statistics, 2006. CA Cancer J Clin. 2006; 56(2): 106–30.
2. Jass J. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular

- features. *Histopathology*. 2007; 50(1): 113–30
3. Hardy R., Meltzer S., Jankowski J. ABC of colorectal cancer. Molecular basis for risk factors. *BMJ*. 2000; 321(7265): 886–9.
 4. O'Brien M., Winawer S., Zauber A. et al. The National Polyp Study. Patient and polyp characteristics associated with high-grade dysplasia in colorectal adenomas. *Gastroenterology*. 1990; 98(2): 371–9.
 5. Ishiguro K., Yoshida T., Yagishita H., Numata Y., Okayasu T. Epithelial and stromal genetic instability contributes to genesis of colorectal adenomas. *Gut*. 2006; 55(5): 695–702.
 6. Доросевич А. Е. Коммуникационные системы и опухолевый рост. Актовая речь. Смоленск; 2007.
 7. Абросимов С.Ю. Морфометрическая идентификация стромы дисплазии и рака молочной железы с позиций коммуникационных систем [диссертация ... д-ра мед. наук]. Смоленск; 2004.