

## ГІСТОХІМІЯ ПЛОСКОКЛІТИННОЇ КАРЦИНОМИ ГОРТАНІ В АСПЕКТІ ПУХЛИННОЇ ПРОГРЕСІЇ

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)

Публікація є фрагментом планової науково-дослідної роботи ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» «Розробка нових медичних технологій в діагностиці та лікуванні патології верхніх дихальних шляхів», номер держреєстрації: 0111U006761.

**Вступ.** Карцинома гортані посідає 8-ме місце в структурі загальної захворюваності на злоякісні новоутворення та становлять 1-8% від всіх локалізацій. Первинна діагностика раку гортані в 60-70% випадків здійснюється несвоєчасно – на III-IV стадіях. Запізнена діагностика плоскоклітинної карциноми гортані обумовлює високу летальність, а також радикальні підходи в її лікуванні, що в більшості випадків приводить до інвалідизації хворих [1, 3, 6, 8, 11, 12].

Розвиток молекулярної біології в останні роки дозволив значно розширити знання та уявлення про механізми канцерогенезу. В сучасній літературі з'явилась велика кількість цікавих та багатогранних досліджень, присвячених морфогенезу плоскоклітинної карциноми гортані [2, 4, 5, 6, 7, 9, 10]. Проте останні мають, як правило, прогностичний характер щодо клінічного перебігу та ефективності лікування та не враховують зміни в пухлинні, які виникають в ході її прогресії. В зв'язку з цим, відсутність даних про морфологічні особливості плоскоклітинної карциноми гортані в аспекті пухлинної прогресії спонукає до проведення досліджень у даному напрямку.

**Мета дослідження.** Метою даного дослідження стало визначення гістохімічних особливостей пухлинних комплексів, в залежності від глибини інвазії плоскоклітинної карциноми гортані.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження проводились 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). У кожному випадку забір матеріалу проводився із різних ділянок видалених органоконкомплексів гортані, що дозволило визначити гістохімічні особливості плоскоклітинної карциноми в залежності від глибини її інвазії.

Із отриманого матеріалу за загальноприйнятою методикою виготовляли гістологічні препарати, які фарбували гематоксилін-еозином. В процесі досліджень також застосовані гістохімічні методи забарвлення: суданом III на нейтральні жири з дофарбуванням гематоксиліном, за способом Шабадаша на глікоген з дофарбуванням гематоксиліном, тіоніновим синім з дофарбуванням еозином та

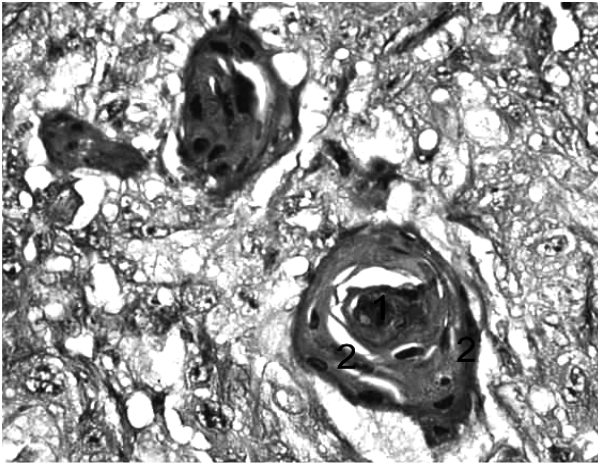
ШИК-реакція – тіоніновим синім. Оскільки в процесі приготування препаратів за загальноприйнятою методикою ліпідні вимиваються спиртом та ксилолом, то при класичному гістологічному забарвленні гематоксилін-еозином цитоплазма ліпід-вмісних клітинних елементів стає прозорою. В зв'язку з цим, в процесі досліджень визначення інтрацелюлярних ліпідних включень попередньо базувалось на ідентифікації клітинних елементів із прозорою цитоплазмою та в подальшому підтверджувалось специфічним гістохімічним забарвленням на нейтральні жири суданом III з дофарбуванням гематоксиліном.

Вивчення забарвлених препаратів проводилось на цифровому світловому мікроскопі фірми «Olympus BX-41» із використанням об'єктивів Ч10, Ч20, Ч40, Ч100, а їх фотозйомка – на цифрову фотокамеру фірми «Olympus C 4040».

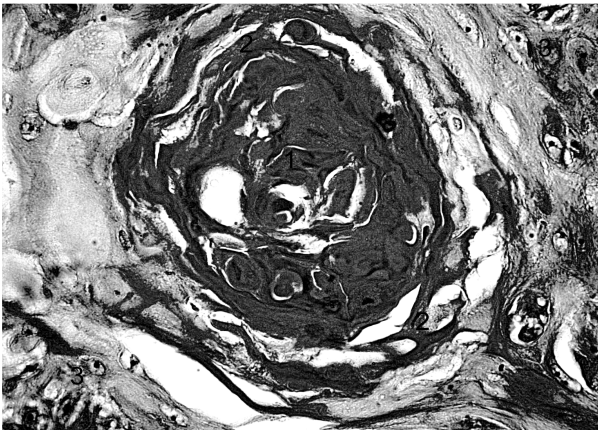
**Результати досліджень та їх обговорення.** В результаті проведених досліджень визначено, що в залежності від глибини інвазії комплекси плоскоклітинної карциноми гортані відрізняються за будовою та гістохімічними властивостями.

Так в пухлинних комплексах, що розташовані в епітелії та власному шарі, визначаються переважно еозинофільні «ракові перлини». Ці структури за будовою та гістохімічними властивостями нагадують «перлини», які формуються при диференційованій плоскоклітинній карциномі з ороговінням. Проте, при дофарбуванні тіоніновим синім, навколо гомогенної еозинофільної центральної частини «перлин» визначаються концентричні тіонін-позитивні структури. По периферії від таких «ракових перлин» розташовані поліморфні атипичні клітини із високою мітотичною активністю. Враховуючи тинкторіальні властивості даного гістохімічного забарвлення, можна припустити, що в таких «ракових перлинах», на фоні явищ кератинізації в концентричних тіонін-позитивних структурах, в еозинофільній центральній частині спостерігаються процеси гіалінозу.

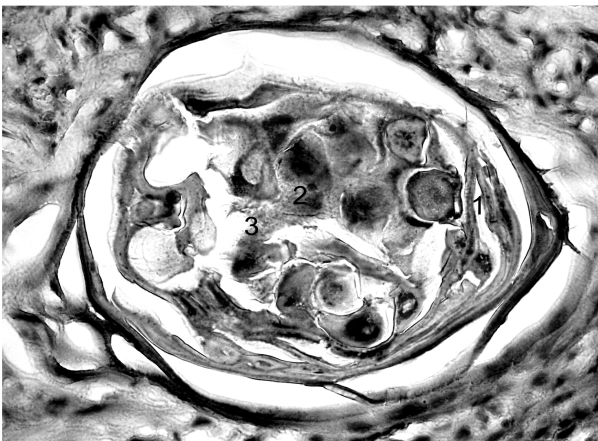
В пухлинних комплексах, що розташовані у власному шарі, визначаються «ракові перлини», які складаються із концентричних зроговілих лусочок. Останні мають веретеноподібну форму, загострені кінці та центрально-розташовані ядра. Навколо цих структур спостерігаються виражені запальні явища із перифокальним набряком. Результати власних гістохімічних досліджень із використанням забарвлення ШИК-реакція – тіоніновим синім демонструють, що такі «ракові перлини» мають інтенсивний темно-фіолетовий колір та складаються із окремих



**Рис. 1.** Тіонін-позитивні «ракові перлини» при плоскоклітинній карциномі гортані: 1. – центральна частина «перлини»; 2. – розрихлені зроговілі лусочки.  
Заб. ШИК-реакція – тіоніновим синім. Зб. 40С10.



**Рис. 2.** ШИК-позитивна «ракова перлина» при плоскоклітинній карциномі гортані: 1. – центральна частина «перлини»; 2. – ШИК-позитивні структури на периферії; 3. – ракові клітини навколо «перлини».  
Заб. ШИК-реакція – тіоніновим синім. Зб. 100С10.



**Рис. 3.** Суданофільна «ракова перлина» при плоскоклітинній карциномі гортані: 1. – спіралеподібні суданофільні структури; 2. – інтрацелюлярне розташування ліпідів; 3. – екстрацелюлярне розташування ліпідів. Заб. суданом III з дофарбуванням гематоксиліном. Зб. 100С10.

розрихлених зроговілих лусочок. При цьому їх центральна частина забарвлюється менш інтенсивно та має світло-фіолетовий або бузковий колір (рис. 1).

В ділянках більш глибокої інвазії плоскоклітинної карциноми, тобто в пухлинних комплексах, що інвазують фіброзноеластично-м'язевий шар гортані, виявляються переважно ШИК-позитивні «ракові перлини». Останні складаються із тіонін-позитивної центральної частини, а також концентричних ШИК-позитивних або тіонін-позитивних гомогенних структур, що розташовані по периферії. Разом з тим, іноді зустрічаються «ракові перлини», що складаються лише із ШИК-позитивних концентричних структур (рис. 2). Очевидно, що такі відмінності в гістохімічних властивостях «ракових перлин» обумовлені різними стадіями їх диференціювання в процесі кератинізації.

Наявність в «ракових перлинах» ШИК-позитивних структур обумовлена синтезом глікогену. Це підтверджується результатами власних досліджень із використанням гістохімічного забарвлення на глікоген.

Так клітини, що формують ШИК-позитивну «ракову перлину», містять дрібні гранули глікогену, внаслідок чого їх цитоплазма забарвлюється в пурпуровий колір. В окремих клітинах із пікнотичними ядрами спостерігається конденсація глікогену на одному із полюсів їх цитоплазми. В інших ракових клітинах відмічаються явища паракератозу, які проявляються вакуолізацією цитоплазми та виходом гранул глікогену в міжклітинні простори. В зв'язку з цим, можна зробити припущення, що формування ШИК-позитивних «ракових перлин» обумовлено порушенням кератинізації атипичних клітин, які проявляються глікогенолізом.

В пухлинних комплексах, що проростають через хрящі гортані в суміжні органи та тканини, тобто в ділянках найбільш глибокої інвазії карциноми, виявляються переважно суданофільні «ракові перлини». Гістохімічні дослідження із використанням забарвлення ШИК-реакція – тіоніновим синім свідчать, що в ділянках глибокої інвазії карциноми ракові клітини мають прозору, місцями пінисту цитоплазму та ексцентрично розташоване пікнотичне ядро, тобто характеризуються перснеподібною формою. Очевидно, що їх цитоплазма, містить ліпіди, які під час приготування препаратів за загальноприйнятною методикою вимиваються спиртом та ксиололом.

Дане припущення підтверджується результатами власних гістохімічних досліджень із використанням забарвлення на ліпіди суданом III. Так, комплекси ракових клітин в ділянках глибокої інвазії інтенсивно забарвлюються у жовтий колір, що свідчить про наявність в них ліпідів. При цьому останні визначаються як в цитоплазмі клітин, так і поза її межами. У випадках інтрацелюлярної локалізації ліпідів ядра клітин, як правило, збережені, а у випадках екстрацелюлярної – зруйновані. Із виходом ліпідів за межі цитоплазми, в міжклітинних просторах визначається дрібнодисперсна або дрібно-крапельна суданофільна речовина.

В пухлинних комплексах, що розташовані в ділянках глибокої інвазії плоскоклітинної карциноми гортані, формуються суданофільні (ліпід-вмісні) «ракові перлини». Останні мають спіралеподібну форму та складаються із окремих суданофільних структур. При цьому ліпиди, які забарвлюють «перлину» в жовтий колір, визначаються як в цитоплазмі клітин, так і поза її межами (рис. 3).

При великому збільшенні світлооптичного мікроскопа в ділянках формування суданофільних «перлин» можна ідентифікувати два типи ракових клітин. Ліпід-вмісні клітини мають прозору, іноді пінисту цитоплазму та ексцентрично розташоване пікнотичне ядро («перснеподібні» клітин). Проте, поряд із ними виявляються також клітини, що не містять ліпідів.

Отже, результати власних досліджень свідчать, що в ході пухлинної прогресії на III-IV клінічних стадіях, внаслідок зміни фенотипу атипичних клітин виникають мультицентричні комплекси плоскоклітинної карциноми гортані. При цьому в залежності від глибини інвазії, пухлинні комплекси карциноми відрізняються за ступенем диференціювання клітин. В зв'язку з цим, в них формуються гетерогенні за гістохімічними властивостями «ракові перлини»: еозинофільні або тіонін-позитивні, ШИК-позитивні (глікоген-вмісні) та суданофільні (ліпід-вмісні). В пухлинних комплексах, що розташовані в епітелії та власному шарі слизової оболонки, визначаються еозинофільні або тіонін-позитивні «ракові перлини». Останні за будовою та гістохімічними властивостями нагадують «перлини», які формуються при диференційованій плоскоклітинній карциномі з ороговінням. В ділянках більш глибокої інвазії карциноми, тобто в комплексах, що інвазують фіброзноеластично-м'язевий шар гортані, навколо глікоген-вмісних атипичних клітин формуються ШИК-позитивні «ракові перлини». В пухлинних комплексах, що проростають

через хрящі гортані в суміжні органи та тканини, тобто в ділянках найбільш глибокої інвазії карциноми, виявляються суданофільні (ліпід-вмісні) «ракові перлини». Поява таких мультицентричних комплексів, очевидно, пов'язана із різними стадіями пухлинної прогресії. В результаті генетичної мінливості та селекції, яка виникає в ході останньої, в популяції клітинного клону постійно виникають та відбираються все більш автономні та агресивні субклони.

Морфологічні дослідження плоскоклітинних карцином зазвичай не враховують гістохімічні властивості «ракових перлин». В зв'язку з цим, у випадках їх наявності традиційно ідентифікують диференційовану плоскоклітинну карциному з ороговінням. Разом з тим, результати власних досліджень демонструють, що для адекватного морфологічного аналізу необхідно враховувати як ступінь інвазії пухлини, так і гістохімічні властивості ракових комплексів.

### Висновки.

1. На III-IV клінічних стадіях, внаслідок пухлинної прогресії, виникають мультицентричні комплекси плоскоклітинної карциноми гортані, які в залежності від глибини її інвазії відрізняються за ступенем диференціювання ракових клітин.

2. В пухлинних комплексах плоскоклітинної карциноми гортані формуються гетерогенні за гістохімічними властивостями «ракові перлини»: в ділянках поверхневої інвазії – еозинофільні або тіонін-позитивні, в комплексах, що інвазують фіброзноеластично-м'язевий шар гортані – ШИК-позитивні (глікоген-вмісні), а в ділянках більш глибокої інвазії – суданофільні (ліпід-вмісні).

**Перспективи подальших досліджень.** Дослідження гістохімічних властивостей може бути використано для прогнозування клінічного перебігу та ефективності лікування плоскоклітинних карцином гортані.

### Список літератури

1. Абизов Р. А. Онкоотоларингологія. Лекції / Абизов Р. А. – К.: Книга плюс, 2001. – 272 с.
2. Бариліак А. Ю. Сучасні погляди на морфологію рака верхніх дихальних шляхів / А. Ю. Бариліак // Журнал вушних, носових і горлових хвороб. – 2004. – № 5. – С. 65-74.
3. Бюлетень Національного канцер-реєстру України № 10 – «Рак в Україні, 2007-2008: захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби» / Під ред. І. Б. Щепотіна. – [10-те видання]. – К.: Національний інститут раку, 2009. – 103 с.
4. Горбань Н. А. Клинико-морфологическая и иммуногистохимическая характеристика и прогностические критерии плоскоклеточного рака гортани: автореф. дисс. на соискание ученой степени канд. мед. наук: спец. 14. 00. 15 «Патологическая анатомия» / Н. А. Горбань – М., 2008. – 25 с.
5. Гриценко П. О. Діагностика та прогноз перебігу плоскоклітинних раків гортані: імуноморфологічні аспекти: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.02 «Патологічна анатомія» / П. О. Гриценко – Дніпропетровськ, 2007. – 20 с.
6. Заридзе Д. Г. Канцерогенез / Заридзе Д. Г. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.
7. Кулагин Р. Н. Дифференцировка и пролиферация клеток рака гортани (иммуногистохимическое исследование): автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук: спец. 14.00.15 «Патологическая анатомия» / Кулагин Р. Н. – Санкт-Петербург, 2000. – 19с.
8. Пачес А. И. Опухоли головы и шеи / Пачес А. И. – М.: Медицина, 2000. – 467с.
9. Поспішіль Ю. О. Прогностичні морфологічні фактори плоскоклітинного раку гортані / Ю. О. Поспішіль, А. Ю. Бариліак, М. Б. Крук // Acta medica Leopoliensia – 2003. – Vol. 9, № 3. – С. 21-26.
10. 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.
11. Global cancer statistics / D. Parkin, F. Bray, J. Felay [et al.] // CA Cancer J. Clin. – 2005. – Vol. 55. – P. 74-108.
12. 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.

УДК 616. 22-006. 6-018

### ГІСТОХІМІЯ ПЛОСКОКЛІТИННОЇ КАРЦИНОМИ ГОРТАНІ В АСПЕКТІ ПУХЛИННОЇ ПРОГРЕСІЇ

Гасюк Ю. А.

**Резюме.** В результаті проведених досліджень визначено, що на III-IV клінічних стадіях, внаслідок пухлинної прогресії, виникають мультицентричні комплекси плоскоклітинної карциноми гортані, які в залежності від глибини її інвазії відрізняються за ступенем диференціювання ракових клітин. В зв'язку з цим, в пухлинних комплексах плоскоклітинної карциноми гортані формуються гетерогенні за гістохімічними властивостями «ракові перлини»: в ділянках поверхневої інвазії – еозинофільні або тіонін-позитивні, в комплексах, що інвазують фіброзноеластично-м'язевий шар гортані – ШИК-позитивні (глікоген-вмісні), а в ділянках більш глибокої інвазії – суданофільні (ліпід-вмісні). Виникнення таких мультицентричних ракових комплексів, очевидно, пов'язано із різними стадіями пухлинної прогресії.

**Ключові слова:** плоскоклітинна карцинома гортані, гістохімія.

УДК 616. 22-006. 6-018

### ГІСТОХІМІЯ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОЇ КАРЦИНОМИ ГОРТАНІ В АСПЕКТЕ ОПУХОЛЕВОЇ ПРОГРЕСІЇ

Гасюк Ю. А.

**Резюме.** В результате проведенных исследований установлено, что на III-IV клинических стадиях, вследствие опухолевой прогрессии, возникают мультицентрические комплексы плоскоклеточной карциномы гортани, которые в зависимости от глубины ее инвазии отличаются степенью дифференцировки раковых клеток. В связи с этим, в опухолевых комплексах плоскоклеточной карциномы гортани формируются гетерогенные по гистохимическим свойствам «раковые жемчужины»: в участках поверхностной инвазии – эозинофильные или тионин-положительные, в комплексах, которые инвазируют фиброэластично-мышечный слой гортани – ШИК-положительные (гликоген-содержащие), а в участках более глубокой инвазии – суданофильные (липид-содержащие). Возникновение таких мультицентрических раковых комплексов, очевидно, связано с различными стадиями опухолевой прогрессии.

**Ключевые слова:** плоскоклеточная карцинома гортани, гистохимия.

UDC 616. 22-006. 6-018

### Histochemistry Of Laryngeal Squamous Cell Carcinoma In The Aspect Of Tumor Progression

Gasyuk Yu. A.

**Summary.** As a result of the conducted researches it was set, that at the III-IV clinical stages, due to the tumor progression, there are multi-centric complexes of laryngeal squamous cell carcinoma, which depending on the depth of invasion differ in the degree of differentiation of cancer cells. Therefore, at the tumor complexes of laryngeal squamous cell carcinoma form the heterogeneous to the histochemical properties «cancer pearls»: at the surface areas of invasion – eosinophilic or tionin-positive, at the complexes, which invade into fibroelastic-muscular layer of larynx – PAS-positive (glycogen-containing) and at the areas of deeper invasion – sudanophilic (lipid-containing). The appearance of such multi-centric cancer complexes, apparently, is associated with the different stages of tumor progression.

**Key words:** laryngeal squamous cell carcinoma, histochemistry.

Стаття надійшла 4.09.2012 р.

Рецензент – проф. Старченко І. І.