

И. Н. Чупров¹, Т. А. Новицкая²

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ЭВОЛЮЦИИ БАЗАЛЬНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА КОЖИ

¹ ГОУ ДПО Санкт-Петербургская государственная медицинская академия
последипломного образования

² Санкт-Петербургская государственная медицинская академии им. И. И. Мечникова

Базально-клеточный рак кожи (БКРК) — это группа опухолей с широким спектром биологического поведения [1, 2], подтверждением чему является параллельное существование до сих пор терминов «базалиома», «базально-клеточная эпителиома». Терминологическое разнообразие отражает различную количественную и качественную характеристику морфогенеза опухолевого процесса с разным направлением развития новообразования [3]. Данные научной литературы с очевидностью свидетельствуют о различных вариантах БКРК — от существующих годами и десятилетиями неинвазивных стационарных форм до агрессивных прогрессирующих вариантов, когда рост опухоли сопровождается интенсивной деструкцией окружающих тканей [4]. Остается непонятным, каким образом опухоли с одной и той же базалоидной* опухолевой трансформацией столь значительно разнятся по своим клиническим характеристикам.

Необходим комплексный морфологический подход к изучению тенденций опухолевого роста, решению вопросов о биологической сущности и прогнозе вариантов БКРК на разных этапах прогрессии, их адекватной терапии. Определяющим в этом отношении является исследование сложных паренхиматозно-стромальных отношений с позиций кооперативных взаимоотношений составляющих его компонентов [5].

Целью работы явилось иммуногистохимическое изучение ряда паренхиматозно-стромальных характеристик в различных клинико-морфологических вариантах БКРК.

Материалы и методы. Изучены 2031 БКРК от 1993 больных (1021 женщина и 972 мужчины). Возраст пациентов колебался от 19 до 97 лет (средний — $69,9 \pm 5,9$). Рубрикация проведена в соответствии с классификацией ВОЗ [6], особенностью которой является сочетание гистологических вариантов, характеризующих вид опухолевой паренхимы, и типов роста опухоли. Тип роста, по сути, описывает новообразование в целом, включая топографическую, количественную и качественную характеристику как опухолевой паренхимы, так и стромы как формообразующей единицы. Тип роста мы предлагаем именовать *гистотопографическим типом роста (ГТТР)*, так как он является более широким рубрикационным понятием, чем гистологический вариант.

Базально-клеточный рак кожи (БКРК) — 8090/3:

- поверхностный — 8091/3**
- нодулярный (солидный) — 8097/3**;
- микронодулярный БКРК — 8090/3**;
- инфильтративный БКРК — 8092/3**;

* Базалоидная трансформация — опухолевое перерождение клеток эпителия, приобретающих дифференцировку, схожую с базальными клетками эпидермиса.

** Гистотопографический тип роста (ГТТР).

© И. Н. Чупров, Т. А. Новицкая, 2010

- фиброэпителиальный БКРК — 8093/3;
- БКРК с придатковой дифференцировкой — 8098/3;
- базально-плоскоклеточный рак — 8094/3;
- кератотический БКРК — 8090/3.
- другие варианты БКРК: кистозный, аденоидный, морфеоподобный, инфундибулокистозный, пигментный, редкие варианты.

Иммуногистохимическая реакция проводилась в 47 случаях БКРК с различными гистотопографическими типами роста (поверхностных — 4, крупнонодулярных — 20, мелконодулярных — 13, инфильтративных — 10). Полученный материал после обычной процедуры приготовления микроскопических препаратов и установления диагноза при окраске гематоксилином-эозином с уточнением гистологического и гистотопографического варианта подвергался иммуногистохимическому исследованию авидин-биотин-пероксидазным методом с применением моноклональных антител к Е-кадгерину (молекулы межклеточной адгезии) (Novocastra, Великобритания), цитокератинам 8 и 19-го типов VEGF (сосудистому фактору роста эндотелия сосудов), волокнистым структурам стромы — виментину, десмину (Dako, Дания) (табл. 1).

Таблица 1. Используемые иммуногистохимические маркеры

Антитела	Клон	Производитель
Vimentin	Vim3B4	Dako
Desmin	D33	Dako
E-cadherin	36B5	Novocastra
VEGF	C-1	Dako
CK8	35bH1	Dako
CK19	3	Dako

Для фонового окрашивания использовался гематоксилин. Были поставлены положительные и отрицательные контроли. Оценка уровня экспрессии Е-кадгерина, цитокератинов 8 и 19-го типов проводилась в процентах окрашенных ядер в гнездах опухолевых клеток. Оценка уровня экспрессии виментина и десмина проводилась полуколичественным методом в баллах: 2 балла соответствовали 20% и менее окрашенным клеткам, 4 балла — 20–50% клеток, 6 баллов — более 50%.

Статистическую обработку данных проводили с применением методов вариационной статистики программы Microsoft Excel XP. Значимость различий между отдельными группами оценивали с помощью χ^2 , критерия Фишера и считали статистически достоверной при значении «*p*» не больше 0,05.

Результаты исследования. Иммуногистохимическая реакция с антителами к цитокератину СК8 выявила различные варианты экспрессии в разных БКРК. В поверхностном варианте иммунопозитивными оказались 53,21% опухолевых клеток, в крупно- и мелконодулярном БКРК — 63,19 и 67,22% положительных клеток соответственно. В инфильтративном БКРК реакция носила гетерогенный характер, составив 73,79% клеток (рис. 1; табл. 2).

Таблица 2. Экспрессия паренхимой цитокератинов 8 и 19-го типов в БКРК (% позитивных клеток, $M \pm m$)

ГТТР	СК8	СК19
Поверхностный	53,21±5,75	8,49±0,92
Крупнонодулярный	63,19±5,87	9,21±1,23
Мелконодулярный	67,22±6,13	12,32±1,45
Инфильтративный	73,79±7,82	18,58±1,95

Значительно слабее была выражена иммуногистохимическая реакция с антителами к СК19: в поверхностном БКРК экспрессировалось 8,49% опухолевых клеток, в крупнонодулярном БКРК — 9,21%, в мелконодулярном БКРК — 12,32±1,45%, в инфильтративном БКРК — 18,58% клеток (рис. 2).

Экспрессия Е-кадгерина отличалась различной выраженностью в разных ГТТР БКРК. В поверхностном БКРК максимальная интенсивность реакции была характерна для периферических участков опухолевых гнезд в базалоидных «частоколах», встреча-

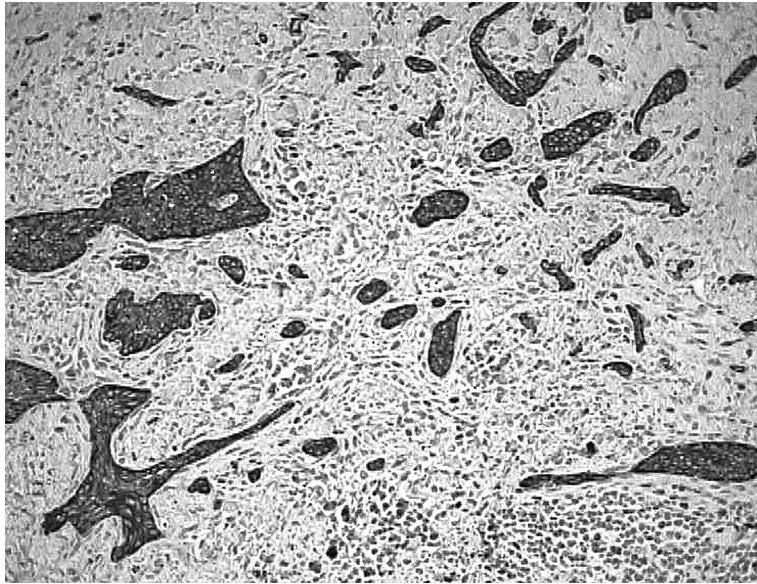


Рис. 1. Выраженная экспрессия низкомолекулярных кератинов в инфильтративном БКРК (коричневое окрашивание). Иммуногистохимическая реакция с антителами к СК8. Увеличение 100

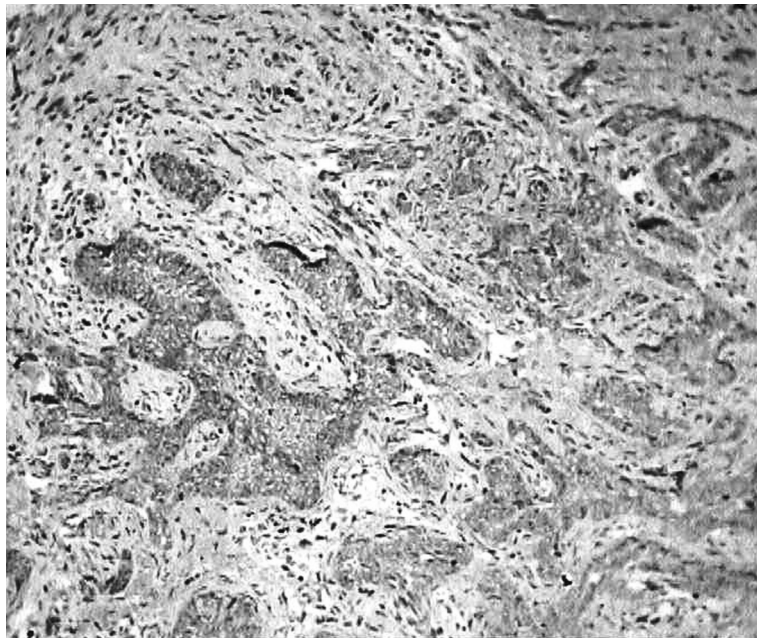


Рис. 2. Слабо выраженная экспрессия высокомолекулярных кератинов в инфильтративном БКРК (коричневое окрашивание). Иммуногистохимическая реакция с антителами к СК19. Увеличение 100

яся в 73,19% опухолевых клеток. Как правило, положительно окрашивались мембраны клеток. В крупно- и мелконодулярном БКРК экспрессия Е-кадгерина была менее выражена — в 51,22 и 41,34% клеток соответственно (рис. 3). Окрашивались опухолевые клетки как по периферии опухолевого пласта, так и в центре. Реакция носила смешанный мембранно-цитоплазматический характер. Минимальная экспрессия Е-кадгерина с преимущественным цитоплазматическим окрашиванием отмечалась в инфильтративном БКРК в 29,19% опухолевых клеток (табл. 3).

Таким образом, по сравнению с другими формами, в инфильтративном БКРК статистически значимо преобладают нарушения межклеточных связей со снижением экспрессии адгезивных молекул (Е-кадгерин) ($p = 0,013$). Достоверных отличий в реакции с антителами к цитокератину СК8 и СК19 между различными гистотопографическими формами БКРК, так же как значимой разницы в экспрессии использованных иммуногистохимических маркеров между крупно- и мелконодулярными вариантами БКРК, не выявлено.

Экспрессия виментина носила диффузный характер при поверхностном БКРК в 21,35% случаев. В крупно- и мелконодулярном БКРК положительная реакция четко определяла границу опухолевой стромы и окружающей дермы, иммунопозитивными были 27,33 и 33,61% опухолей соответственно (рис. 4). Максимальной выраженности (55,71%) реакция достигала в инфильтративном БКРК, с диффузной экспрессией виментина в строме между опухолевыми клетками.

Особенностью иммуногистохимической реакции с антителами к десмину явилась гнездная экспрессия в строме нижних отделов крупно- (21,44% случаев) и мелконодулярного БКРК (31,63%), значительно возрастающая в инфильтративной форме (63,29%) (рис. 5; табл. 4).

В отличие от этих данных, десмин в строме субэпидермальной дермы поверхностного БКРК, прилежащей к булаво-видным эпидермальным базалоидным пролифератам, практически не экспрессировался (2,13%).

Экспрессия фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) варьировала при различных ГТТР БКРК. Общей тенденцией была положительная реакция с отчетливым преобладанием в базальном слое опухолевых структур и в гнездах инвазивного «фронта». В поверхностном БКРК иммунопозитивны были 7,91% клеток в основном в палисадно-образном периферическом слое (табл. 5). Максимальная экспрессия VEGF определялась в крупнонодулярном БКРК (26,31% клеток), порой диффузного характера (рис. 6). Менее выраженная реакция была в мелконодулярном (17,23%) и инфильтративном БКРК (11,32%). Таким образом, максимальная экспрессия VEGF характерна для нодулярных форм, особенно — крупнонодулярного БКРК ($p = 0,031$).

Таблица 3. Экспрессия паренхимой Е-кадгерина (% позитивных клеток, $M \pm m$)

ГТТР	Е-кадгерин
Поверхностный	73,19±6,71
Крупнонодулярный	51,22±4,23
Мелконодулярный	41,34±3,43
Инфильтративный	29,19±1,95

Таблица 4. Экспрессия в строме БКРК виментина, десмина (% случаев, $M \pm m$)

ГТТР	Виментин	Десмин
Поверхностный	21,35±3,71	2,13±0,28
Крупнонодулярный	27,33±4,03	21,44±3,03
Мелконодулярный	33,61±5,11	31,63±4,88
Инфильтративный	55,71±6,13	63,29±7,20

Таблица 5. Экспрессия VEGF в паренхиме БКРК (% клеток, $M \pm m$)

ГТТР БКРК	VEGF
Поверхностный	7,91±0,72
Крупнонодулярный	26,31±4,01
Мелконодулярный	17,23±3,43
Инфильтративный	11,32±1,93

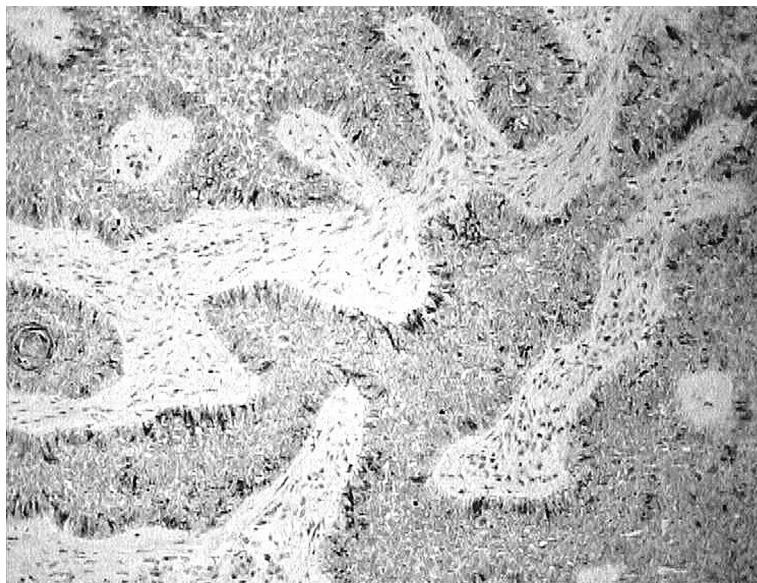


Рис. 3. Базальная мембрана опухолевых комплексов в крупнонодулярном БКРК (коричневое окрашивание). Иммуногистохимическая реакция с антителами к Е-кадгерину. Увеличение 200

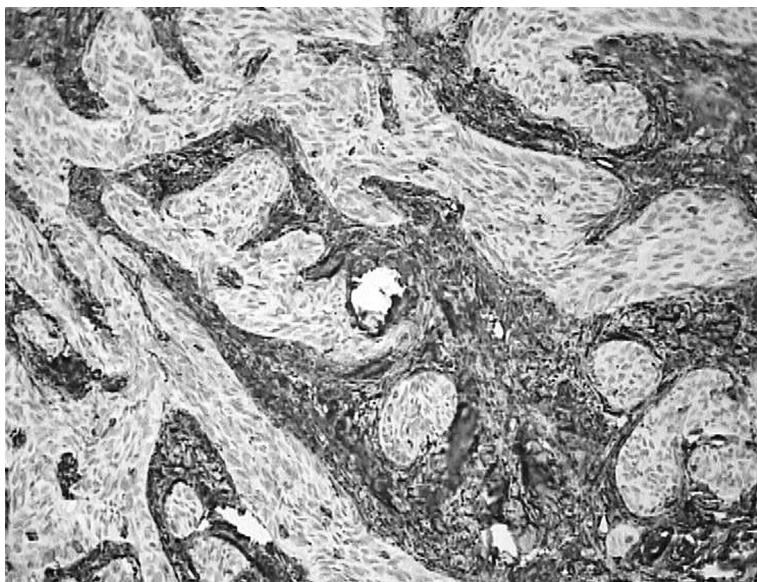


Рис. 4. Волокнистые структуры в строме при мелконодулярном БКРК (коричневое окрашивание). Иммуногистохимическая реакция с антителами к виментину. Увеличение 200

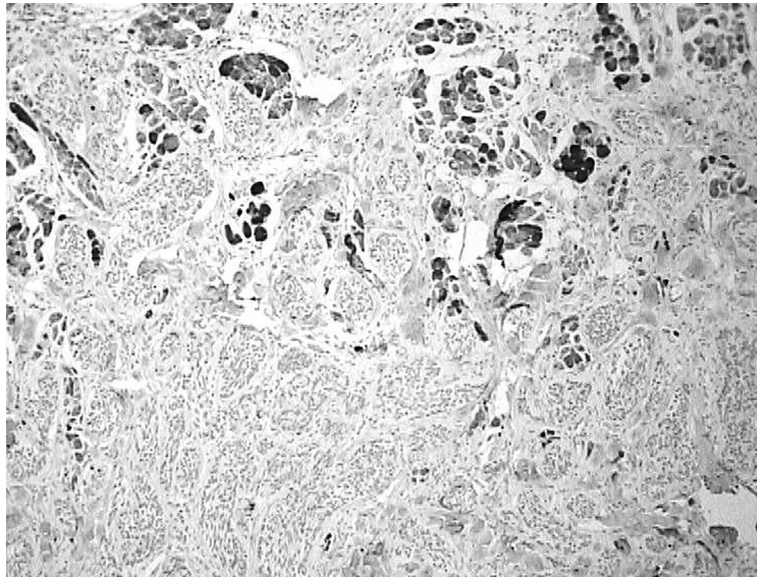


Рис. 5. Волокнистые структуры в строме нижних отделов мелконодулярного БКРК (коричневое окрашивание). Иммуногистохимическая реакция с антителами к десмину. Увеличение 100

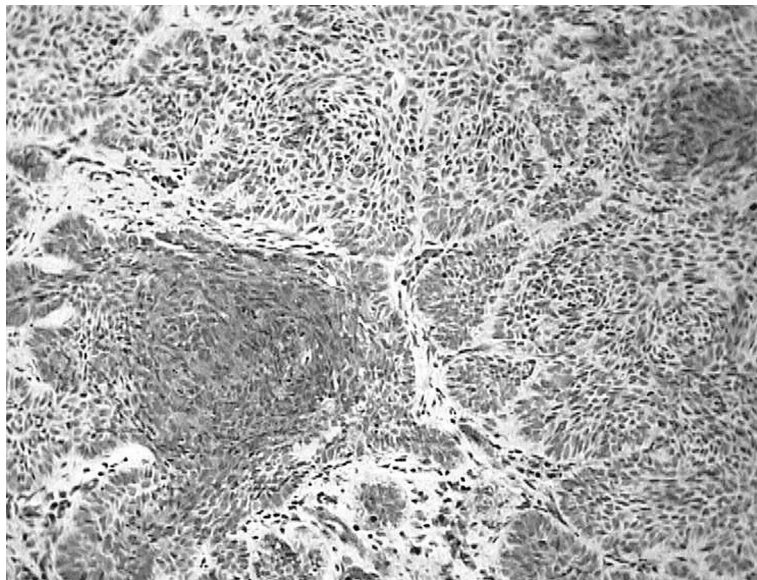


Рис. 6. Диффузная экспрессия VEGF в опухолевых пластах крупнонодулярного БКРК (коричневое окрашивание, стрелки). Увеличение 100

Обсуждение результатов. БКРК является наиболее часто встречающейся злокачественной опухолью кожи с широким диапазоном биологических потенций [7]. Проведенное нами исследование дополняет наши предыдущие данные по клинико-морфологическим соотношениям в БКРК [8], подчеркивая важность определения ГТТР БКРК как наиболее значимого морфологического прогностического признака. Общие тенденции морфогенеза БКРК связаны с постепенным прогрессированием фибропластических процессов, снижением уровня клеточной стромальной реакции, увеличением уровня инвазии [9, 10]. По мере накопления виментина и десмина клетки опухоли становятся менее доступны для иммунокомпетентных клеток стромы, что наряду с выраженными дегенеративными изменениями компонентов базальной мембраны повышает агрессивные инвазивные потенции образования. Это определяет особое значение стромы в морфогенезе и формообразовательных процессах БКРК. Именно благодаря определенному взаимодействию опухолевой паренхимы и стромы возникает конкретный ГТТР (тип роста). Наши исследования подтверждают мнение других авторов [11] о главенстве типа роста (ГТТР) в прогнозе БКРК.

Экспрессия опухолевыми клетками цитокератинов выявила значительное преобладание низкомолекулярных цитокератинов (СК8) над высокомолекулярными (СК19), что подтверждается данными большинства авторов [12]. Нами установлено нарастание экспрессии обоих видов цитокератинов в ряде поверхностный — крупнонодулярный — мелконодулярный — инфильтративный БКРК, что соответствует аналогичным данным литературы [13]. Это, очевидно, связано со снижением дифференцировки опухолевой паренхимы и упрощением клеточного набора в агрессивных вариантах БКРК.

Ангиогенез варьирует по степени выраженности при различных ГТТР. Максимальный ангиогенез и экспрессия VEGF были обнаружены нами в крупнонодулярном БКРК ($p = 0,031$) в отличие от данных ряда авторов [14, 15], отмечающих усиление ангиогенеза в агрессивных вариантах БКРК с глубокой инвазией.

С закономерностями паренхиматозно-стромальных отношений, очевидно, связан дуализм в биологическом поведении БКРК — агрессивность местного роста и практически отсутствующее метастазирование. Строма ограничивает опухолевые клетки от клеточного инфильтрата и создает вместе с опухолевой паренхимой инвазивный «фронт», вместе с тем препятствуя инвазии сосудов и метастазированию.

Начальной стадией морфогенеза является пролиферация (при поверхностном БКРК — в эпидермисе, при крупнонодулярном БКРК — в дерме) с экспансивным ростом, без качественных изменений соединительной ткани. Прогрессирующая пролиферация индуцирует не только развитие соединительной ткани, но и ее качественные изменения, формируя механизм совместного инвазивного роста.

В качестве заключения отметим, что группа БКРК, объединенная базалоидной дифференцировкой, представляется достаточно гетерогенной по своим клинико-морфологическим проявлениям. Проведенное исследование позволяет считать, что паренхиматозно-стромальные отношения являются ключевым звеном в клинико-морфологической оценке образования — рассмотрение только одного из компонентов этой сложной и многогранной по своим взаимодействиям системы является недостаточным. При определении биологических потенций конкретного вида БКРК комплексная оценка создает наиболее эффективные перспективы группового и индивидуального прогноза.

В современной морфологической классификации ВОЗ без рубрики соседствуют гистологические и гистопографические формы БКРК, отсутствуют примеры доброкачественных опухолей с базалоидной дифференцировкой, групповая оценка нивелирует разнообразие клинико-морфологических вариантов БКРК и снижает возможность

их индивидуального прогноза. БКРК, по сути, включает в себя образования, которые условно можно разделить на три вида: 1) опухоли с доброкачественным поведением (поверхностный БКРК) («базалиомы»), 2) потенциально злокачественные опухоли с преимущественно экспансивным ростом (крупно- и мелконодулярный БКРК), 3) базально-клеточный рак, обладающий выраженными деструктивными свойствами (инфильтративный БКРК). В классификации ВОЗ представлена единая группа, именуемая как БКРК с невозможностью ее разделения. Очевидно, существующая классификационная форма требует дополнительной рубрикации, имеющей прогностическое значение с включением гистотопографических и гистологических вариантов.

Таким образом, базально-клеточный рак кожи является сборной клинико-морфологической группой опухолей с различной гистотопографической характеристикой, определяющей характер паренхиматозно-стромальных отношений, отражающих их взаимосвязь, взаимоиндукцию, биологический потенциал, прогноз и необходимость дополнительной морфологической рубрикации БКРК.

Литература

1. Молочков В. А., Снарская Е. С., Франк Г. А., Завалишина Л. Э. Иммуногистохимические особенности базально-клеточного и метатипического рака кожи // Российский журнал кожных и венерических болезней. 2005. № 1. С. 4–8.
2. Снарская Е. С., Молочков В. А. Базалиома. М., 2003. 324 с.
3. Хлебникова А. Н. Клинико-морфологические и иммуногистохимические особенности различных форм базально-клеточного рака кожи и комплексный метод его лечения: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2007. 37 с.
4. Scrivener Y. Variations of basal cell carcinomas according to gender, age, location and histopathological subtype // Br. J. Dermatol. 2002. N 1. P. 41–47.
5. Kaur P. Basal cell carcinoma progression correlates with host immune response and stromal alterations: a histologic analysis // Am J. Dermatopathol. 2006. N 4. P. 293–307.
6. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Skin Tumour / Eds. Le Boit P. E., Burg G., Weedon D., Sarasain A. Lyon, 2006. 457 p.
7. Foote J. A. et al. Predictors for cutaneous basal- and squamous-cell carcinoma among actinically damaged adults // Int J. Cancer. 2001. N 1. P. 7–11.
8. Чупров И. Н. Клинико-морфологическая характеристика разных типов роста базально-клеточного рака кожи // Вестн. С.-Петерб. ун-та. Сер. 11. Медицина. 2009. Вып. 1. С. 145–151.
9. Anthouli-Anagnostopoulou F. Recurrent morphea basal cell carcinoma of the skin. A clinicohistopathological study of 97 cases // Adv Clin Path. 2002. N 1. P. 17–24.
10. Asilian A., Tamizifar B. Aggressive and neglected basal cell carcinoma // Dermatol. Surg. 2005. Vol. 31, N 11. P. 1468–1471.
11. Collins G. L. Changing demographics and pathology of nonmelanoma skin cancer in the last 30 years // Semin Cutan Med Surg. 2004. N 1. P. 80–83.
12. Apaydin R. et al. Cytokeratin contents of basal cell carcinoma, epidermis overlying tumour, and associated stromal amyloidosis: an immunohistochemical study // Amyloid. 2005. N 1. P. 41–47.
13. Barbaud A. et al. Immunohistochemical characterization of the differentiation state of basal cell carcinomas with special interest for infiltrating relapsing tumors // Eur. J. Dermatol. 1998. N 5. P. 320–324.
14. Cernea C. R., Ferraz A. R., de Castro I. V. Angiogenesis and skin carcinomas with skull base invasion: a case-control study // Head. Neck. 2004. Vol. 26, N 5. P. 396–400.
15. Chin C. W. et al. Differences in the vascular patterns of basal and squamous cell skin carcinomas explain their differences in clinical behaviour // J. Pathol. 2003. N 3. P. 308–313.

Статья поступила в редакцию 20 октября 2010 г.