

**ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

© Ухов Ю.И., Зиангирова Г.Г., Лихванцева В.Г., Астахова С.Е., 2004  
УДК 617.723-006.81-091.8

**СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АНГИОГЕНЕЗА В УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЕ**

*Ю.И. Ухов, Г.Г. Зиангирова, В.Г. Лихванцева, С.Е. Астахова*

ГУ НИИ глазных болезней РАМН, г. Москва,  
Рязанский государственный медицинский университет  
имени академика И.П. Павлова

**В статье описаны основные типы развития сосудов в увеальной меланоме, выявлена взаимосвязь между типом ангиогенеза, гистоморфологией, локализацией и агрессивностью опухоли; отражены особенности строения сосудистой стенки и роль этих особенностей в прогрессировании и метастазировании опухоли.**

Ангиогенез играет исключительную роль в неопластических процессах с момента формирования первичного опухолевого узла и до момента развития дистантных метастазов [1, 5-7]. Высоко васкуляризированные опухоли имеют худший прогноз, отличаются большей скоростью метастазирования, чем низко васкуляризированные. Суть корреляции заключается не в том, что увеличение общего просвета сосудов в высоко ангиогенных опухолях повышает вероятность заброса опухолевых клеток в кровеносное русло, а в том, что специфика ангиогенности отражает скорость роста и агрессивности опухоли. Для УМ, относящейся к разряду чрезвычайно агрессивных опухолей и метастазирующей исключительно гематогенным путем, теоретически ангиогенез должен играть ведущую роль. Вместе с тем, клинические данные свидетельствуют о том, что применение известных антиангиогенных препаратов (ангиостатин) не оказывает существенного эффекта [2].

Мы предположили, что особенности строения кровеносных сосудов увеального тракта, в частности, - фенестрация эндотелия - могут быть причиной отличий в сети микроциркуляции опухолей, что находит отражение в малой эффективности антиангиогенных препаратов.

**Цель настоящей работы:** изучение особенностей ангиогенеза в увеальной меланоме.

**Материалы и методы**

Из архивного материала отобраны парафиновые блоки с УМ, полученные при энуклеации глаз. Среди тестируемых опухолей 20 меланом принадлежали пациентам с благополучным исходом (живы до настоящего момента) и 20 - пациентам, умершим от метастатической болезни в сроки от нескольких месяцев до 3-х лет после энуклеации. Таким образом, анализу подверглись 20 наиболее агрессивных опухолей и 20 опухолей с низкой степенью злокачественности. Наряду с традиционными

гистоморфологическими исследованиями по верификации диагноза и гистологического типа, а также морфологических особенностей конкретной тестируемой опухоли проводили исследование ангиогенеза. С каждого парафинового блока из различных участков опухоли (вершины, периферии, центра, основания) готовили по 10 срезов, толщиной 4-5 микрон. Окраска производилась гематоксилином и эозином. Просмотр препаратов осуществляли под микроскопом "Orthon" с телевизионной приставкой при увеличении  $\times 40$ ,  $\times 125$ ,  $\times 1250$ ,  $\times 1800$ .

При учете гистологического типа тестируемой опухоли использовали упрощенную классификацию Callender-Wilder. Различали опухоли: веретенноклеточного типа А и В, эпителиоидные и смешанноклеточного строения.

Оценка *типа ангиогенеза* в УМ проводилась в зависимости от гисто-

морфологической картины на тонких или полутонких срезах по одному из трех типов [9, 11, 12]:

- васкулогенеза *de novo*;
- кооптирование предшествующих сосудов;
- формирование бесклеточных микроциркуляторных каналов по типу «васкулогенной мимикрии».

#### Результаты и их обсуждение

Установлено, что среди УМ с благополучным исходом наиболее часто (в 14 случаях из 20; 70%) ангиогенез строился по принципу васкулогенеза *de novo* в местах с наибольшими ишемическими проявлениями и недостаточным кровоснабжением. На световом уровне на полутонких срезах выявляли дорожки эндотелиальных клеток (ЭК), выстраивающиеся в линию (рис. 1) между стенкой предшествующего сосуда и зоной паранекроза.

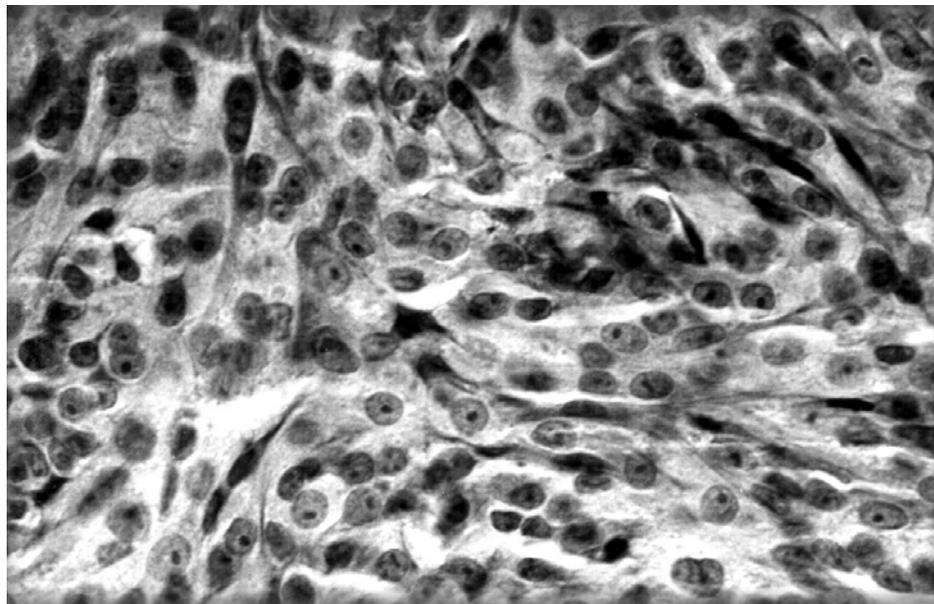


Рис. 1. Тяжи эндотелиальных клеток между стенкой предшествующего сосуда и зоной паранекроза (гематоксилин-эозин,  $\times 320$ ).

Реже в этой группе УМ (20%), а чаще среди высоко агрессивных опухолей (55%) выявляли кооптирование сосудов с использованием уже существующих магистралей, которые вначале регрессируют, вызывая массивные не-

розы, а затем реорганизуют новую сеть сосудов на периферии опухоли (рис. 2). В 2 случаях меланом низкой степени злокачественности и 5-ти - высокой степени злокачественности имел место смешанный тип ангиогенеза (I+II).



Рис. 2. Кооптированные сосуды, подвергающиеся распаду с некрозом опухолевой ткани (гематоксилин-эозин, х 40).

Сосуды, сформированные *de novo*, морфологически значительно отличались от сосудов, сформированных методом кооптирования. Их стенка имела эндотелиальную выстилку практически на большем протяжении, в то время как в кооптированных сосудах сохранялись лишь единичные ЭК, зачастую не имеющие связи друг с другом, а связь со стенкой была явно ослабленной. Местами эти ЭК вместо вытянутой формы имели треугольную и располагались под углом к адвентиции. Единичные перициты зафиксированы лишь в сосудах *de novo*.

Наряду с классическими типами ангиогенеза среди меланом агрессив-

ного течения в 11 случаях (55%) имело место развитие специфической сети микроциркуляции с генерацией межклеточных каналов, образованных экстрацеллюлярным матриксом (ЭЦМ) и высланных опухолевыми клетками, по типу «васкулогенной мимикрии». Каналы развивались в местах обширного синхронного апоптоза и параапоптотического некроза опухолевых клеток. В 4-х опухолях эти каналы имели связь с вортикозной веной - главным венозным коллектором сосудистой оболочки, в 9-ти - связь с ранее существующим сосудом, в 2-х случаях - и с вортикозной веной и с предшествующим сосудом.

Наличие эритроцитов и/или плазмы крови в межклеточных неэндотелизированных каналах микроциркуляции подтверждало их связь с гемоциркуляцией.

Если первых два варианта ангиогенеза практически с одинаковой частотой встречались при различных гистологических типах и локализациях УМ, иногда сочетались, и тогда можно было говорить о преимущественном варианте ангиогенеза, то «васкулогенная мимикрия» встречалась в наиболее агрессивных густо пигментированных, эпителиоидных меланомах и ассоциировалась с опухолями прекваториальной

локализации, захватывающих цилиарное тело.

Опухоли, пронизанные межклеточными микроциркуляторными каналами, состояли из мелких эпителиоидных клеток, отличавшихся высокими признаками полиморфизма и анаплазии, а также безудержной пролиферации. Клетки рыхло располагались в ткани опухоли. Их мелкие размеры, высокие диссоциативные и миграционные способности позволяли им проникать в сосуды и формировать опухолевые эмболы (рис. 3).

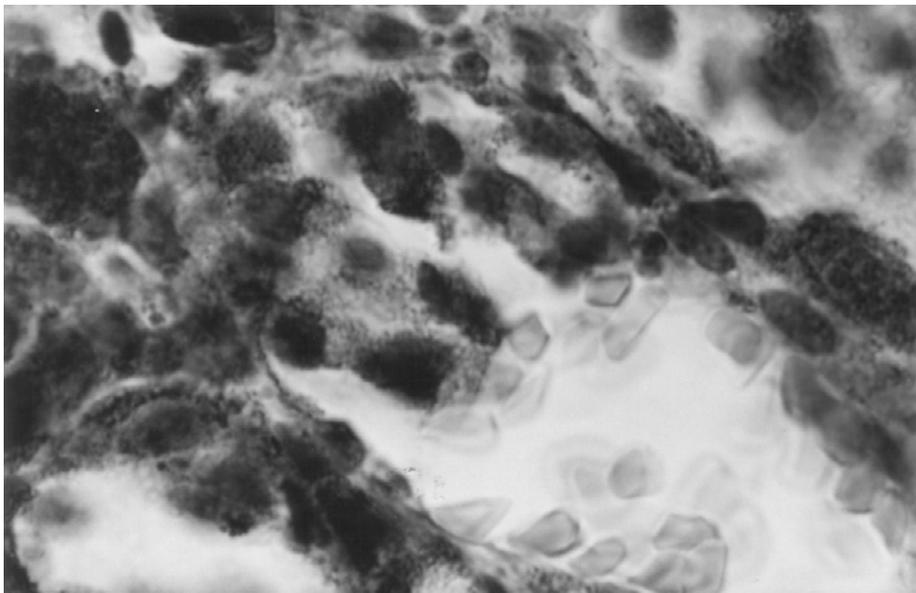


Рис. 3. Межклеточные каналы, ограниченные мелкими эпителиоидными клетками с признаками полиморфизма и анаплазии. Клетки проникают в кровяные полости и формируют опухолевые эмболы (гематоксилин-эозин, х 860).

Таким образом, сформированная сеть новообразованных кровеносных сосудов в опухоли во многих аспектах существенно отличалась от существующей в нормальных тканях глаза. Эти отличия, во-первых, заключались в отсутствии гладкомышечных клеток и

эндотелиальной выстилки в сосудистой стенке, в патологических ответвлениях, в утолщении адвентициального слоя. Описанные отклонения вновь образованных опухолевых сосудов влекли за собой гетерогенность опухоли с формированием клеточного клона, обладаю-

шего высоким метастатическим потенциалом, и потерю механизмов контроля опухолевого роста.

Во-вторых, если в *норме* типичное сосудистое дерево состоит из артерий, артериол, терминальных артериол, капилляров, посткапиллярных венул, венул, и вен, то *озлокачествление УМ* влекло потерю классической сосудистой «иерархии». Сосудистая сеть становилась «хаотичной». Наиболее агрессивные УМ имели наиболее сложную ангиоархитектонику. Рост опухоли сопровождался формированием большого количества не только артериоловеноулярных шунтов, представляющих собой категорию патологических сосудов с патологическим строением их сосудистой стенки, но и межклеточных каналов микроциркуляции, осуществлявших прямой пассаж крови из опухолевых сосудов артериолоярного типа к вортикозным венам, минуя промежуточные структуры - капилляры. Присутствие таких каналов в опухоли, ассоциировалось высоким риском развития метастазов. Обнаруженный нами факт не противоречил имеющимся в литературе данным при других опухолях [4, 10].

Генерация таких межклеточных микроциркуляторных каналов не является строго васкулогенным событием, потому, что истинный васкулогенез заключается в образовании *de novo* сосудов, выстланных ЭК. Однако их связь с вортикозной веной - главным венозным коллектором сосудистой оболочки, а также связь с ранее существующим сосудом, наличие компонентов кровотока в просвете не вызывает сомнений в принадлежности к сети микроциркуляции. В целом, анализируя полученные данные, мы склонны считать, что выявленные нами типы ангиогенеза в УМ, по сути, есть экскалационные ступени

сосудистой «анаплазии», высоко коррелирующие с клеточной анаплазией в опухоли. В природе имеется физиологический аналог этого феномена - образование кровеносных полостей в плаценте под воздействием цитотрофобласта [4, 8]. УМ является не единственной опухолью, в которой описана *васкулогенная мимикрия*. Она также встречается и при меланоме кожи, хотя гораздо реже, чем в УМ [3, 4]. Folberg также выявлял их в УМ, а получил их модель *in vitro* [13, 14].

Принимая во внимание особенности строения бесклеточных сосудистых каналов (отсутствие эндотелиальной и гладкомышечной выстилки) следует считать бесперспективным ангиогенную терапию препаратами, направленными на подавление пролиферации эндотелиальных клеток. Роль этих клеток в ангиогенезе, судя по представленным данным, незначительна.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Карамышева А.Ф. Ангиогенез опухоли: механизмы, новые подходы. Канцерогенез / А.Ф. Карамышева; Под ред. Д.Г. Заридзе. - М., 2000. - 267 с.
2. Степанова Е.В. Антиангиогенная терапия: новые возможности лечения злокачественных заболеваний / Е.В. Степанова // Практическая онкология. - 2002. - №3. - С. 246-252.
3. Barnhill RL. Angiogenesis and regressing cutaneous malignant melanoma / RL. Barnhill, MC. Mihm et al. // Lancet. - 1992. - Vol.339. - P.991-992.
4. Bissel MJ. Tumor plasticity allows vasculogenic mimicry, a novel form of angiogenic switch - a role by any other name? / MJ. Bissel // Am J Pathol. - 1999. - Vol.155. - P.676-679.
5. Bouck N. How tumors become angiogenic / N. Bouck, V. Stellmach, SC. Hsu // Adv Cancer Res. - 1996. - Vol.69. - P.135-174.
6. Cherrington M. New Paradigm for the treatment of Cancer: The role of anti-

- angiogenesis agents / M. Cherrington, Laura M. Strawn // San Francisco (CA), 1999. - 138p.
7. Chistofalli M. Angiogenesis modulation in cancer research: novel clinical approaches / M. Chistofalli, C. Charnsangavej, G.N. Hortobagyi // Nature Reviews. - 2002. - Vol.1. - P.415-426.
  8. Damsky CH. Trophoblast pseudo-vasculogenesis: faking it with endothelial adhesion receptor / CH. Damsky, SJ. Fisher // Curr Opin Cell Biol. - 1998. - Vol.19. - P.660-666.
  9. Folberg R. Vasculogenic mimicry and tumor angiogenesis / R. Folberg, M.J. Hendrix // Am. J. of Pathology. - 2000. - Vol.156, N2. - P.361-371.
  10. Folkman J. Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia / J. Folkman, K. Waston, D. Ingber // Nature. - 1989. - Vol.339. - P.58-61.
  11. Hanahan D. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis / D. Hanahan, J. Folkman // Cell. - 1996. - Vol.86. - P.353-364.
  12. Holash J. New model of tumor angiogenesis: dynamic balance between vessel regression and growth mediated by angiopoetins and VEGF / J. Holash, SJ. Wiegand, GD. Yancopoulos // Oncogene. - 1999. - Vol.18. - P.5356-5362.
  13. The microcirculation of choroidal and ciliary body melanomas / Robert Folberg, Mary Menaffey, Lynn M. Gardner et al. // Eye. - 1997. - Vol.11. - P.227-238.
  14. Vascular channel formation by human melanoma cells in vivo and in vitro: vasculogenic mimics / AJ. Maniotis, R. Folberg, A. Hess et al. // Am J. Pathol. - 1999. - Vol.155. - P.739-752.

#### SPECIFIC FEATURES ANGIOGENESIS IN UVEAL MELANOMA

J.I. Uhov, G.G. Ziangirova, V.G. Lihvantseva, S.E. Astahova

**The basic types of development of vessels in uveal melanoma are described, the interrelation between a type of angiogenesis, histomorphology, localization and aggression of a tumor is revealed; the features of a structure of vessel wall and role of these features in progressing and metastasing of a tumor are reflected.**