

# ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ГИСТОТОПОГРАФИЧЕСКИХ ТИПОВ РОСТА БАЗАЛЬНО- КЛЕТОЧНОГО РАКА КОЖИ

И.А. Олейник<sup>1</sup>, И.В. Куценко<sup>2</sup>,  
В.И. Сафанков<sup>3</sup>, Т.В. Шатохина<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины»

<sup>2</sup>Городской клинический дермато-венерологический диспансер №1 г. Донецк,

<sup>3</sup>ООО «Медипроф – Яруд» г. Мариуполь,

<sup>4</sup>ГУ «Институт неотложной и восстановительной хирургии  
им. В.К. Гусака НАМН Украины» г. Донецк

**Резюме.** В статье представлены иммуногистохимические особенности различных гистотопографических типов роста базально-клеточного рака кожи. Установлено достоверное повышение экспрессии p53 и ki-67, что является неблагоприятным маркером агрессивности этого заболевания. Во всех морфологических формах наблюдались глубокие нарушения регуляции процессов ангиогенеза.

**Ключевые слова:** базально-клеточный рак кожи, пролиферативная активность, апоптоз, ангиогенез.

## АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ

Изучение злокачественных опухолей кожи является актуальной междисциплинарной задачей клинической дерматологии и онкологии в связи с высоким уровнем и нарастанием первично регистрируемой заболеваемости [1, 3].

Из числа злокачественных опухолей кожи эпителиального происхождения наиболее часто встречается базально-клеточный рак кожи (БКРК), представляющий собой гетерогенную по клиническим проявлениям группу опухолей, характеризующийся разным течением, прогнозом и требующий высокодифференцированного подхода к лечению [4, 9, 15].

Несмотря на значительные успехи в изучении этиологии, особенностей клиники и морфологии БКРК остаются до конца неясными механизмы его агрессивного роста и течения. Неполная ясность аспектов патогенеза в свою очередь затрудняет разработку новых, эффективных, патогенетически обоснованных методов лечения [11]. В настоящее время современные методы терапии БКРК разрабатываются с учетом оценки различных характеристик, в частности иммуногистохимических, таких как апоптоз, пролиферативная активность и ангиогенез [12, 14].

К ключевым генам, контролирующим апоптоз, относится проапоптотический онкоген p53, количество которого в тканях уве-

личивается пропорционально росту частоты мутаций в молекулах геномных ДНК [10, 13].

Достоверным прогностическим критериям злокачественных новообразований кожи, позволяющим оценить их инвазивный потенциал, является исследование пролиферативной активности опухолевых клеток [2]. Уровень экспрессии маркера пролиферации ki-67 считают одним из наиболее показательных маркеров агрессивного роста опухоли [8].

Опухолевый ангиогенез – сложный многоуровневый процесс и его главным общепризнанным индуктором является семейство факторов роста эндотелия сосудов VEGF [5, 6, 7]. Гиперэкспрессия VEGF наблюдается как в трансформированных клетках и развивающихся опухолях, так и высокоинвазивных раковых опухолях, причем уровень его экспрессии возрастает в процессе прогрессирования опухоли [5, 6, 7].

В связи с этим перспективным представляется изучение молекулярно-биологических механизмов прогрессирования БКРК [12, 14].

Современным и наиболее точным методом диагностического исследования, дающим наиболее ценную информацию о прогнозе опухоли, являются методы иммуногистохимии (ИГХ). Особенно перспективно использование ИГХ методов в комплексе с другими клинико-морфологическими методами исследования. Изучение эпителиальных опухолей на ИГХ уровне позволяет выявить ранние признаки злокачественности процесса, оценить склонность опухоли к инвазии, обнаружить отличия в степени злокачественности различных форм БКРК [9].

**Цель исследования:** изучить морфологические и ИГХ особенности пролиферативной и апоптотической активности, особенности ангиогенеза при различных гистологических типах роста БКРК.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе исследования мы изучили резецированные участки кожи 92 пациентов с диагнозом БКРК, взятые у 39 (42,3%) мужчин

и 53 (57,7%) женщин возрастом от 27 до 81 года. Иммуногистохимическое исследование проводилось в 30 случаях БКРК с различными гистотопографическими типами роста (ГТТР), в связи с чем были выделены три группы. Первую группу составили 10 пациентов с поверхностным типом роста БКРК, во вторую группу вошли 10 больных с солидным типом роста рака кожи, к третьей группе - 10 пациентов со склеродермоподобным типом роста БКРК.

Полученный материал помещали в нейтральный забуференный 10% раствор формалина (рН 7,4) и фиксировали в течение 24 часов. После дегидратации кусочки заливали в парафин по стандартной методике. На ротационном микротоме Microm HM325 с системой переноса срезов STS (Carl Zeiss, Германия) изготавливали серийные гистологические срезы толщиной 4 мкм, которые затем окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике. Особенности ангиогенеза, пролиферативной и апоптотической активности исследовали с помощью мышинных моноклональных антител (МАТ) к p53 (клон DO-7, DAKO), МАТ к ki-67 (клон MIB-1, DAKO), МАТ к VEGF (клон VG1, DBS). Визуализацию первичных антител проводили с помощью высокочувствительной полимерной системы детекции DAKO Advance. В качестве субстрата для пероксидазы хрена использовали DAB+ (DAKO). Таким образом, ядра пролиферирующих клеток и клеток, находящихся в апоптозе, приобретали коричневый цвет, цитоплазма и клеточная мембрана эндотелиальных клеток капилляров также окрашивались в коричневый цвет. Препараты докрашивали гематоксилином Майера. Далее окрашенные срезы заключали в полусинтетическую среду Permanent Mounting Medium (DAKO).

Микроскопию препаратов и морфометрические исследования проводили на микроскопе Olympus AX70 Provis (Olympus, Япония) с помощью программы анализа изображения Analysis 3.2 Pro (Soft Imaging, Германия) согласно рекомендациям производителя программного обеспечения при кон-

сультативной поддержке сотрудников группы патоморфологии отдела экспериментальной хирургии научного подразделения ИНВХ АМНУ им. В.К.Гусака г. Донецк.

Подсчет удельного веса сосудистого русла в различных гистотопографических типах роста БКРК производился по позитивно окрашенным эндотелиальным клеткам в 30 полях зрения в каждом случае, как процентное соотношение общей площади сосудистого русла в опухоли к общей площади исследуемого поля зрения.

Для определения пролиферативной активности клеток и количества клеток, находящихся в апоптозе, производился подсчет позитивно окрашенных ядер опухолевых клеток (коричневое окрашивание) в 30 полях зрения и рассчитывался процент положительных клеток по отношению ко всем опухолевым клеткам.

Для сравнения показателей удельного веса сосудистого русла, пролиферативной и апоптотической активности опухолевых клеток при разных ГТТР БКРК использовался критерий Манна-Уитни на уровне значимости  $p < 0,05$ .

Для статистической обработки полученных во время исследования результатов использовали лицензионные пакеты (кафедра медицинской биофизики и медицинской аппаратуры с курсом клинической информатики Донецкого государственного медицинского университета им. М. Горького, закрытое акционерное общество «Донбасская региональная информационная система» – ЗАО «ДОРИС») прикладных статистических программ – STATISTICA 5.11 и Microsoft EXCEL 6.0, MedStat в соответствии с рекомендациями.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Световая микроскопия различных ГТТР БКРК.

При гистологическом изучении образцов выявлялись клетки с крупными вытянутыми ядрами и относительно узкой цитоплазмой, в отдельных клетках цитоплазма почти

не определялась, в результате чего их ядра располагались компактно (рис. 1). Ядра, как правило, мономорфны, встречались крупные гиперхромные, с большим числом митозов. Соединительнотканная строма пролиферировала вместе с клетками опухоли и располагалась пучками вокруг опухолевых тяжей.

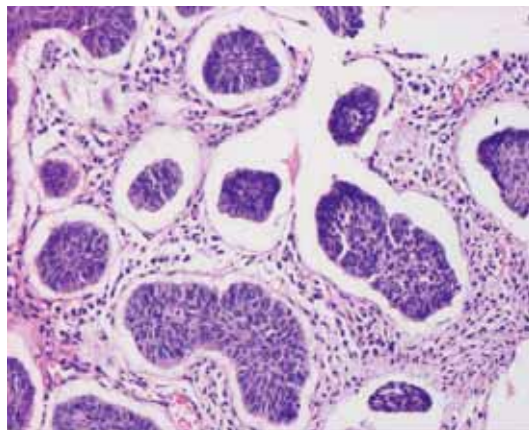


Рис. 1. Больная О., БКРК.

Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$ .

При поверхностном типе БКРК выявлялись мелкие солидные очаги, связанные с базальным слоем эпидермиса. Очаги как бы «сползали» с базального слоя эпидермиса в дерму (рис. 2). Периферические клетки пролиферата имели палисадообразное строение, сам же пролиферат был образован мелкими темными клетками. Эпидермис в большинстве случаев был частично атрофичен, в дерме определялся незначительный воспалительный инфильтрат (рис. 2).

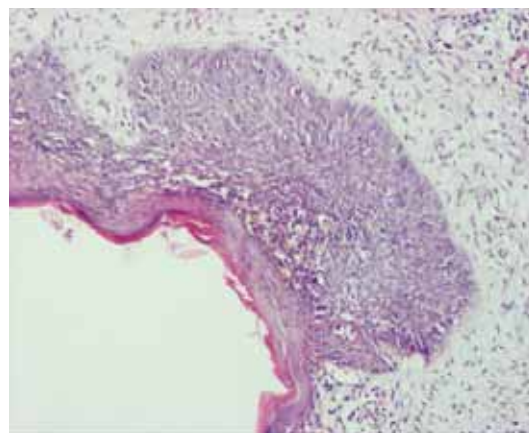


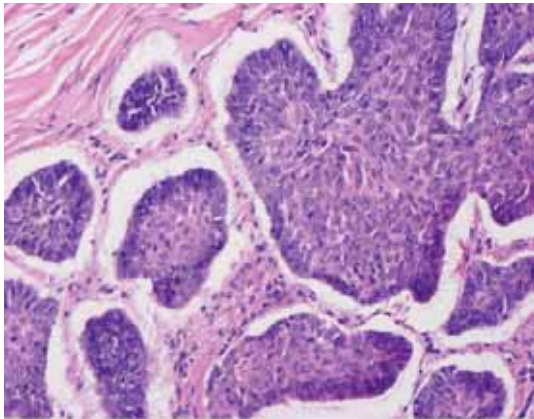
Рис. 2. Больная Н., 1 группа.

Поверхностный тип роста БКРК.

Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 75$ .

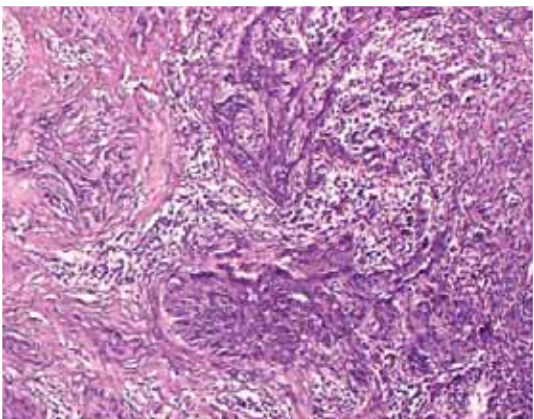


При нодулярном типе роста в дерме определялись очаги различных размеров и формы из недифференцированных эпителиальных клеток, окруженных вытянутыми клетками в виде частокола (рис. 3).



*Рис. 3. Больная А., 2 группа.  
Нодулярный тип роста БКРК.  
Окраска гематоксилином и эозином, x100.*

При склеродермоподобном типе роста определялось мощное разрастание стромы, нередко склерозированной и гиалинизированной. В строме наблюдались тонкие тяжи, местами комплексы, состоящие из компактно расположенных мелких гиперхромных клеток, анастомозирующих между собой (рис. 4) и проникающих глубоко в дерму.

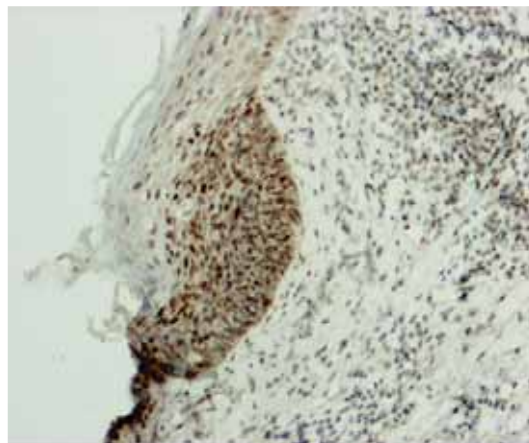


*Рис. 4. Больная Е., 3 группа.  
Склеродермоподобный тип роста БКРК.  
Окраска гематоксилином и эозином, x50.*

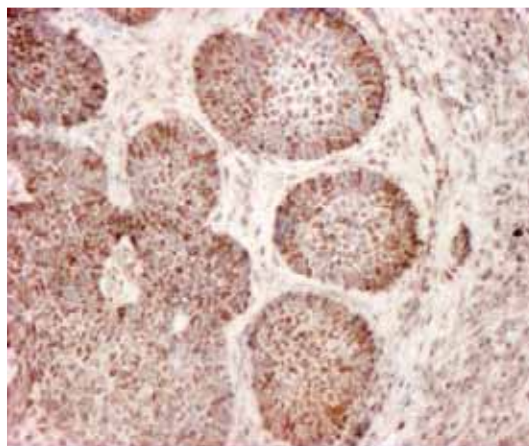
#### **ИГХ и морфометрические особенности разных ГТТР БКРК.**

Положительная экспрессия маркера апоптоза p53 при поверхностном типе ро-

ста БКРК отмечалась преимущественно в базальном и парабазальном слоях (рис. 5). Для нодулярного типа характеризовалась равномерным распределением позитивно окрашенных опухолевых клеток (рис. 6) ( $56,4 \pm 9,1\%$  и  $49,4 \pm 6,2\%$  соответственно).



*Рис. 5. Больная П., 1 группа.  
Поверхностный тип роста БКРК.  
ИГХ-окрашивание с МАТ к p53, x90.*



*Рис. 6. Больная В., 2 группа.  
Нодулярный тип роста БКРК.  
ИГХ-окрашивание с МАТ к p53, x100.*

В склеродермоподобном варианте БКРК количество иммунопозитивных клеток составило  $69,4 \pm 4,1\%$ , которые были равномерно распределены по всему образованию (рис. 7) (табл. 1). Показатель апоптотической активности оказался достоверно высоким в склеродермоподобном ГТТР БКРК ( $p < 0,05$ ) и достоверно низким в нодулярном типе ( $p < 0,05$ ).

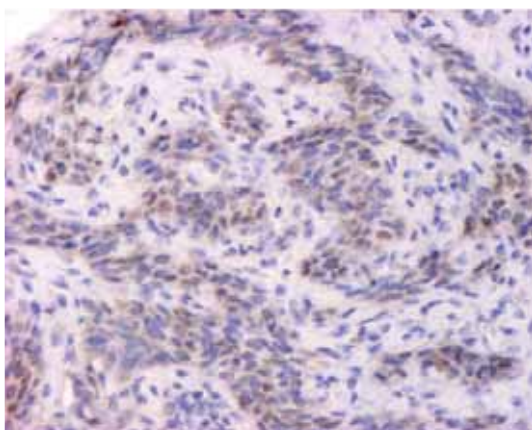


Рис. 7. Больной Р., 3 группа.  
Склеродермоподобный тип роста БКРК.  
ИГХ-окрашивание с МАТ к p53, x140.

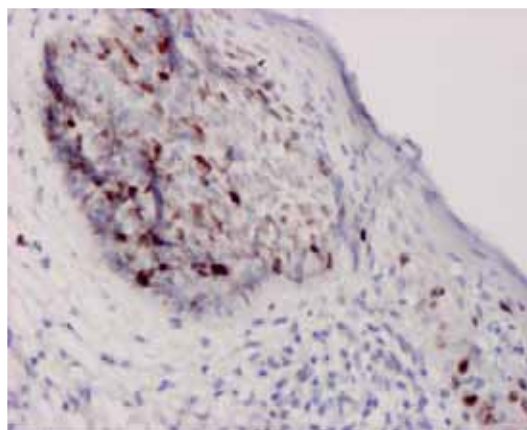


Рис. 8. Больной П., 1 группа.  
Поверхностный тип роста БКРК.  
ИГХ-окрашивание с МАТ к ki-67, x120.

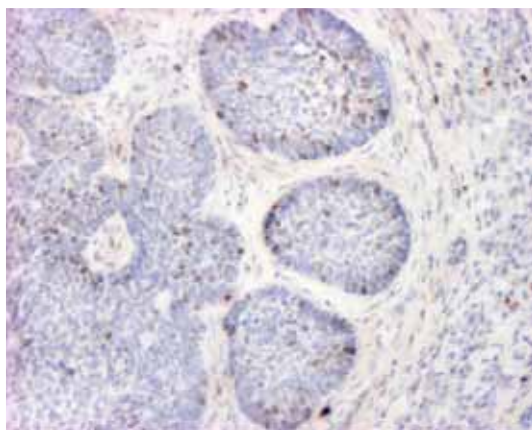


Рис. 9. Больной М., 2 группа.  
Нодулярный тип роста БКРК.  
ИГХ-окрашивание с МАТ к ki-67, x100.

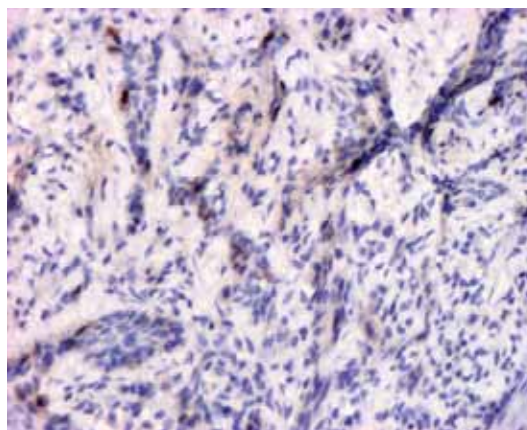


Рис. 10. Больной И., 3 группа.  
Склеродермоподобный тип роста БКРК.  
ИГХ-окрашивание с МАТ к ki-67, x140.

Экспрессия маркера пролиферации ki-67 при всех типах роста БКРК характеризовалась равномерным распределением позитивно окрашенных опухолевых клеток и составила при поверхностном типе роста  $30,7 \pm 6,1\%$  (рис. 8), при нодулярном типе –  $42,5 \pm 8,3\%$  (рис. 9) и при скле-

родермоподобном –  $54,4 \pm 5,1\%$  (рис. 10) (табл. 1).

Пролиферация клеток при поверхностном ГТТР БКРК была достоверно ниже ( $p < 0,05$ ), тогда как самая высокая пролиферативная активность была характерна для склеродермоподобного типа роста ( $p < 0,05$ ).

Таблица 1

**Морфометрические показатели апоптоза и пролиферации при разных ГТТР БКРК (M±σ, %)**

Гистотопографический тип роста БКРК	p53	ki-67
Поверхностный	$56,4 \pm 9,1$	$30,7 \pm 6,1$
Нодулярный	$49,4 \pm 6,2$	$42,5 \pm 8,3$
Склеродермоподобный	$69,4 \pm 4,1$	$54,4 \pm 5,1$



Удельный вес сосудистого русла при разных типах БКРК значительно варьировал (табл. 2). Поверхностный тип характеризовался позитивной реакцией эндотелиальных клеток сосудов преимущественно в окружающих тканях и в незначительном количестве в палисадообразном периферическом слое (рис. 11), что составило 4,2%. VEGF при но-

дулярном типе экспрессировался диффузно между солидными очагами (рис. 12), удельный вес сосудистого русла составил 15,4%. При склеродермоподобном типе БКРК этот показатель достигал 10,5%, тогда как иммунопозитивные эндотелиальные клетки определялись диффузно среди анастомозирующих между собой опухолевых тяжей (рис. 13).

Таблица 2

**Удельный вес сосудистого русла БКРК при разных ГТТР по результатам морфометрии**

Гистотопографический тип роста БКРК	Удельный вес VEGF (%)
Поверхностный	4,2
Нодулярный	15,4
Склеродермоподобный	10,5

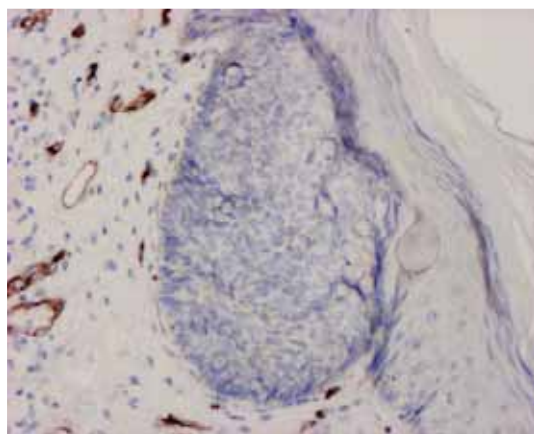


Рис. 11. Больной С., 1 группа.  
Поверхностный тип роста БКРК.  
ИГХ-окрашивание с МАТ к VEGF, x115.

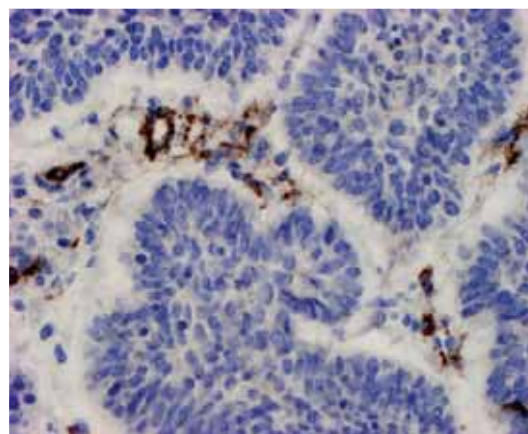


Рис. 12. Больной Д., 2 группа.  
Нодулярный тип роста БКРК.  
ИГХ-окрашивание с МАТ к VEGF, x180.

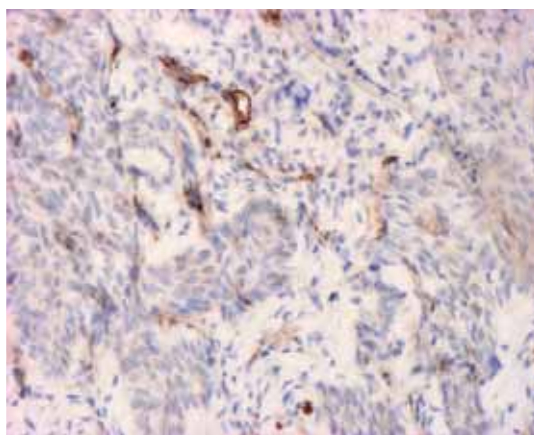


Рис. 13. Больной Т., 3 группа.  
Склеродермоподобный тип роста БКРК.  
ИГХ-окрашивание с МАТ к VEGF, x160.

Таким образом, минимальный показатель ангиогенеза был характерен для поверхностного типа роста БКРК ( $p < 0,05$ ), а максимальный показатель – для нодулярного ГТТР ( $p < 0,05$ ).

**ВЫВОДЫ**

Значительное, статистически достоверное повышение экспрессии p53 и ki-67 является неблагоприятным маркером агрессивности БКРК, что особенно выражено при склеродермоподобном типе роста. Во всех морфологических формах БКРК рака кожи наблюдались глубокие нарушения регуля-

ции процессов ангиогенеза, выражающиеся в высокой экспрессии маркеров, ответственных за индукцию ангиогенеза, особенно при нодулярном ГТТР. Данные ИГХ исследования могут быть использованы в прогностических целях для БКРК.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Двойрин В.В. Статистика злокачественных новообразований в России и некоторых других стран СНГ в 1994 г. / В.В. Двойрин, Е.М. Аксель, П.Н. Трапезников. – М. : ОНЦ РАМН, 1995. – Ч. 1. – 198 с.; Ч. 2. – 193 с.
2. Журавель В.Г. Некоторые оптические параметры у больных базалиомой кожи как прогностические критерии течения заболевания / В.Г. Журавель // Вестник дерматологии. – 1996. – № 6. – С. 8–10.
3. Заболеваемость раком кожи среди постоянного контингента населения / М.И. Курдина, Л.Е. Денисов, В.И. Грецова, Н.Н. Заева // Вопр. Онкологии. – 1992. – № 6. – С. 727–732.
4. Иммуногистохимические особенности базально-клеточного и метатипического рака кожи / В.А. Молочков, Е.С. Снарская, Г.А. Франк, Л.Е. Завалишина // Рос. журн. кожных и венерических болезней. – 2005. – № 1. – С. 4–8.
5. Карамышева А.Ф. // Канцерогенез / Под ред. Д.Р. Заридзе. – М. : Медицина, 2000. – С. 298–309.
6. Луценко С.В. Перспективы противоопухолевой антиангиогенной терапии / С.В. Луценко, Н.Б. Фельдман, С.Е. Северин // Молекул. мед. – 2004. – № 4. – С. 13–23.
7. Снарская Е.С. Особенности ангиогенеза различных форм базально-клеточного рака кожи / Е.С. Снарская // Рос. журн. кожных и венерических болезней. – 2007. – № 4. – С. 4–7.
8. Снарская Е.С. Иммунитет и особенности клеточной иммуногистохимии при базально-клеточном и плоскоклеточном раке кожи / Е.С. Снарская, В.А. Молочков // Рос. журн. кожных и венерических болезней. – 2002. – № 5. – С. 4–9.
9. Снарская Е.С. Базалиома / Е.С. Снарская, В.А. Молочков. – М. : Медицина, 2003. – 136 с.
10. Снарская Е.С. Иммунологические аспекты патогенеза базалиом / Е.С. Снарская, С.В. Сучков // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2004. – № 2. – С. 4–9.
11. Хлебникова А.Н. Гистологические варианты базально-клеточного рака кожи / А.Н. Хлебникова, И.А. Казанцева // Рос. журн. кожн. и венерич. болезней. – 2000. – № 2. – С. 4–8.
12. Чупров И.Н. Клинико-морфологическая характеристика разных типов роста базально-клеточного рака кожи / И.Н. Чупров // Вестник Санкт-Петербургского университета. Сер. 11. – 2009. – Вып. 1. – С. 145–151.
13. Abnormalities of p53 protein expression in cutaneous disorders / N.S. McNutt, C. Saenz-Santamaria, M. Volkenandt et. al. // Arch. Dermatol. – 1994. – Vol. 130. – P. 225–232.
14. Ansarin H. Expression of p53 in aggressive and non-aggressive histologic variants of basal cell carcinoma / H. Ansarin, M. Daliri, R. Soltani-Arabshahi // Eur. J. Dermatol. – 2006. – Vol. 16, No. 5. – P. 543–547.
15. Miller S.J. Biology of basalcell carcinoma (Part 1, 2) / S.J. Miller // J. Am. Acad. Dermatol. – 1991. – Vol. 24. – P. 1–13.

---

**ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ  
ОСОБЛИВОСТІ РІЗНИХ  
ГІСТОТОПОГРАФІЧНИХ  
ТИПІВ РОСТУ БАЗАЛЬНО-  
КЛІТИННОГО РАКУ  
ШКІРИ**

**I.O. Олійник,  
I.V. Куценко,  
B.I. Сафанков,  
T.V. Шатохіна**

**Резюме.** У статті представлено імуногістохімічні особливості різних гістотопографічних типів росту базально-клітинного раку шкіри. Установлено достовірне підвищення експресії p53 і ki-67, що є несприятливим маркером агресивності цього захворювання. В усіх морфологічних формах спостерігалися глибокі порушення регуляції процесів ангиогенезу.

---

**Ключові слова:** базально-клітинний рак шкіри, проліферативна активність, апоптоз, ангиогенез.

**IMMUNOHISTOCHEMICAL  
FEATURES OF VARIOUS  
TYPES OF GROWTH  
HISTOTOPOGRAFIC  
BASAL CELL SKIN  
CANCER**

**I.O. Oliynyk,  
I.V. Kutsenko,  
V.I. Safankov,  
T.V. Shatokhina**

**Resume.** The article presents the immunohistochemical features of different types of growth histotopografic basal cell skin cancer. It was found significantly increased expression of p53 and ki-67, which is an unfavorable marker of aggressiveness of the disease. All morphological forms were observed profound violation of angiogenesis regulation.

---

**Key words:** basal cell skin cancer, proliferative activity, apoptosis, angiogenesis.