

# Особенности ангиогенеза в очагах базально-клеточного рака кожи

А.Н. Хлебникова, Н.В. Новоселова

ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России  
119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

Базалиома — наиболее часто встречающаяся злокачественная опухоль кожи. Ангиогенез имеет большое значение в развитии базально-клеточного рака кожи. В работе представлен анализ ангиогенеза в данной опухоли при помощи иммуногистохимического исследования с применением маркеров CD31 и CD34. Установлено наличие значимой достоверной связи между количеством сосудов, экспрессирующих CD31, и количеством сосудов, экспрессирующих CD34, в поверхностной и нодулярной формах опухоли, а также в поверхностной мультицентрической, нодулярной и инфильтративной базалиомах. При сравнении количества сосудов, экспрессирующих CD31 и CD34, в различных гистологических типах выявлена тенденция к их увеличению в инфильтративном типе по сравнению с поверхностным мультицентрическим и нодулярным.

Ключевые слова: **базально-клеточный рак, ангиогенез, CD31, CD34.**

Контактная информация: plvnata@gmail.com. Вестник дерматологии и венерологии 2014; (3): 60—64.

# Particular features of angiogenesis in lesions in patients suffering from basal cell epithelioma

A.N. Khlebnikova, N.V. Novoselova

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University  
Trubetskaya str., 8, bldg 2, Moscow, 119991, Russia

Basal cell epithelioma is one of the most frequent malignant skin neoplasms. Angiogenesis plays an important part in the development of basal cell epithelioma. The article presents a review of the angiogenesis of this tumor with the help the immunohistochemistry analysis using CD31 and CD34 markers. The authors established a reliable relationship between the number of vessels expressing CD31 and those expressing CD34 in the superficial and nodular forms of the tumor as well as superficial, multi-center, nodular and infiltrative basal cell epitheliomas. A comparison of the number of vessels expressing CD31 and CD34 markers in different histological types made revealed a trend to their growth in the infiltrative type vs. superficial, multi-center and nodular ones.

Key words: **basal cell epithelioma, angiogenesis, CD31, CD34.**

Corresponding author: nvnata@gmail.com. Vestnik Dermatologii i Venerologii 2014; 3: 60—64.

■ В настоящее время базально-клеточный рак (БКР) кожи является самой частой злокачественной эпителиальной опухолью. Прирост заболеваемости при этой опухоли достигает 10% в год. Данное заболевание прогрессирует медленно, поражает, как правило, людей преклонного возраста со светлым типом кожи [1]. Клинически выделяют несколько форм: нодулярную, поверхностную, склеродермоподобную и их разновидности. Ангиогенез имеет большое значение в развитии базально-клеточного рака кожи [2, 3]. Ангиогенез — процесс формирования в органе или ткани новых кровеносных сосудов. В норме процессы ангиогенеза протекают в организме с умеренной интенсивностью. Активизация процесса происходит в случае образовании рубца, канализации тромбов, в очагах воспаления, при регенерации поврежденных тканей, а также при росте и развитии организма. Ткани злокачественных образований отличаются интенсивным ангиогенезом, что является одним из факторов, способствующих их быстрому росту. Улучшение кровоснабжения обеспечивает поступление намного большего количества питательных веществ в опухоль на единицу массы по сравнению с нормальной тканью. Усиленный ангиогенез способствует метастазированию, поскольку опухолевые клетки имеют свойство метастазировать по ходу кровеносных сосудов или разносятся по всему организму с током крови.

Одним из основных типов клеток, формирующих кровеносные сосуды, являются клетки эндотелия. В период эмбрионального развития происходит формирование капиллярноподобных трубок, стенки которых состоят из эндотелиальных клеток. Позднее вокруг капилляров собираются перicyты, клетки мезодермального происхождения. При увеличении размера сосудов происходит их замещение дифференцированными гладкомышечными клетками, формирующими стенки крупных сосудов [4].

В настоящее время широко применяется иммуногистохимический метод для оценки состояния ангиогенеза в очагах опухоли. Выявление микрососудов проводят при помощи специфических маркеров эндотелиальных клеток, таких как CD31, CD34, VIII фактор и др.

На гемопозитических клетках-предшественниках, эндотелиальных клетках сосудов встречается CD34, который представляет собой гликозилированную трансмембранную молекулу адгезии клеток. Также она выявляется на субпопуляции фибробластоподобных клеток в пределах соединительной ткани. Экспрессировать данный белок могут только незрелые клетки. CD34 окрашивает внутрицитоплазматические пространства неопластических клеток, которые составляют эпителиоидную гемангиоэндотелиому. Чувствительность данного маркера может быть сопоставима с чувствительностью CD31. Последний, известный также как молекула адгезии PECAM-1 (эндотелиальная молекула адгезии тромбоцитов), является

гликопротеином, представленным на тромбоцитах, гранулоцитах и клетках эндотелия, который принадлежит к молекулам клеточной адгезии семейства иммуноглобулинов.

По данным литературы, из доступных панэндотелиальных маркеров наиболее чувствительными являются антитела к фактору CD31 [5—7]. Он окрашивает большее количество микрососудов, чем другие эндотелиальные маркеры. Так, антитела к VIII фактору реагируют с лимфоцитами, а CD34 и VIII фактор окрашивают не все опухолевые сосуды. Однако специфичность антител к CD31 тоже не является абсолютной, так как может возникнуть положительная реакция с плазматическими клетками. Важно отметить, что данные маркеры окрашивают как покоящийся, так и активированный, пролиферирующий эндотелий [8].

Целью настоящего исследования явилось изучение ангиогенеза при БКР кожи.

### Материал и методы

Проведен анализ 35 биоптатов, взятых из очагов поражения у больных БКР кожи, находившихся на лечении в отделении дерматоонкологии и дерматовенерологии МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского. Клинически в 18 случаях наблюдалась поверхностная форма БКР, в 17 случаях — нодулярная. Наиболее часто опухоль локализовалась в области головы — 18 (51,4%), реже в области туловища — 14 (40%) и конечностей — 3 (8,6%). Длительность заболевания составила от 5 мес. до 7 лет (в среднем  $3 \pm 1,6$  года). При гистологическом исследовании поверхностный тип встречался в 13 (37,2%) случаях, узловой — в 14 (40%), инфилтративный — в 8 (22,8%).

Материал подвергался иммуногистохимическому исследованию с применением моноклональных антител к CD31 и CD34 (DAKO: Endothelial Cell) после установления диагноза при окраске гематоксилином и эозином. Для докраски ядер был использован гематоксилин Майера. Все этапы исследования проводили по стандартным методикам [6]. Экспрессию CD31 и CD34 оценивали количественно, подсчитывая позитивно окрашенные сосуды в 10 репрезентативных полях зрения сверху вниз, слева направо.

Статистическую обработку данных выполняли на персональном компьютере с помощью программ Statistica, Microsoft Excel. Вычисляли среднее значение, стандартное отклонение, вероятность и уровень значимости. Статистически достоверными считали различия при  $p < 0,05$ . Выявлялись корреляционные связи между признаками. Для оценки степени взаимосвязи между выборками использовался коэффициент корреляции Спирмена.

### Результаты

При поверхностной форме БКР экспрессия CD31 и CD34 отмечалась преимущественно в субэпидер-

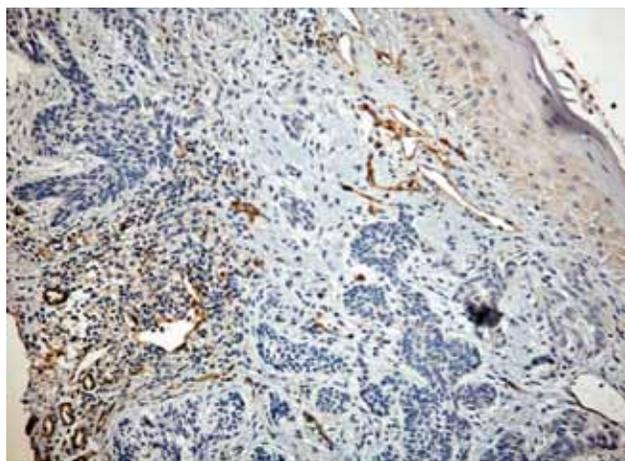
мальной области, где встречались сосуды малого и реже среднего диаметра. Среднее значение позитивно окрашенных сосудов при поверхностной базалиоме при окраске с антителами к CD31 составило  $87,12 \pm 23,5$ , с антителами к CD34 —  $82,68 \pm 19,81$ . Для нодулярной формы были характерны сосуды среднего и крупного диаметра, которые локализовались вокруг опухолевых комплексов в верхней, средней и нижней частях дермы (рис. 1). Среднее значение при нодулярной форме на срезах при окраске CD31 составило  $76,5 \pm 11,9$ , CD34 —  $78,22 \pm 12,87$ . При статистической обработке данных выявлена корреляция между экспрессией маркеров CD31 и CD34 в поверхностной и нодулярной формах (коэффициент Спирмена 0,93;  $p < 0,05$ ).

При изучении ангиогенеза в различных гистологических типах БКР установлено, что при поверхностном мультицентрическом типе среднее значение экспрессии CD31 составило  $73,85 \pm 13,54$ ; при нодулярном —  $65,42 \pm 10,8$  (см. рис. 1а); при инфильтративном —  $119,12 \pm 44,7$ , а экспрессия CD34 соответственно  $77,23 \pm 13$ ;  $63,57 \pm 11,21$  (см. рис. 1б);  $112 \pm 38,8$ . Корреляционный анализ показал наличие значимой достоверной связи между экспрессией маркеров CD31 и CD34 в гистологических типах. Так, коэффициент корреляции между экспрессией маркеров при поверхностном мультицентрическом типе составил  $0,76$  ( $p < 0,05$ ), в нодулярном —  $0,99$  ( $p < 0,05$ ), в инфильтрирующем —  $0,95$  ( $p < 0,05$ ). При сравнении количества сосудов, экспрессирующих CD31 и CD34 в разных гистологических типах, достоверных различий не выявлено, однако наблюдалась тенденция к их увеличению при инфильтративном типе базалиомы.

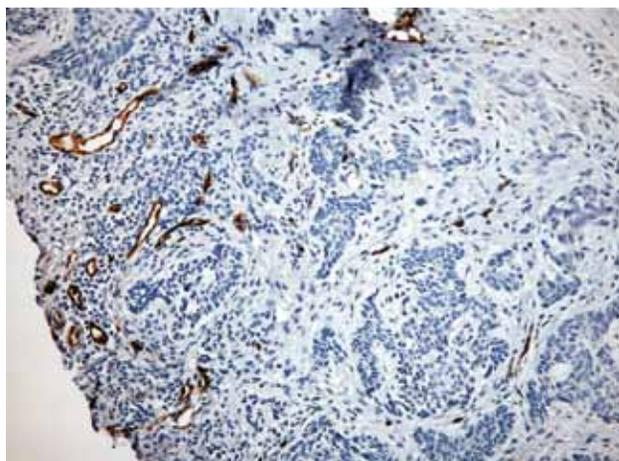
## Обсуждение

Согласно данным литературы, в центре и по периферии опухоли отмечается различная плотность сосудов. При поверхностной базалиоме ввиду ее особенности в предыдущих исследованиях подсчет производился только в пограничной области, и плотность сосудов, экспрессирующих CD34, составляла  $19,7 \pm 0,1\%$  [7]. В нодулярной базалиоме вне зависимости от гистологического типа плотность сосудов в пределах опухолевого узла составляла  $21,2 \pm 0,7\%$ , что больше, чем в пограничной зоне ( $20,5 \pm 0,6\%$ ). В инфильтративной базалиоме плотность сосудов в зоне опухоли и в пограничной зоне составляла соответственно  $6,3 \pm 0,2$  и  $10,7 \pm 0,4\%$  [7]. В нашем исследовании в поверхностной и нодулярной формах БКР отмечалась различная экспрессия сосудистых маркеров в разных зонах опухоли: при поверхностной форме отмечалась преимущественно в субэпидермальной области, где встречались сосуды малого и реже среднего диаметра. Для нодулярной формы были характерны сосуды среднего и крупного диаметра вокруг опухолевых комплексов и в верхней, средней и нижней части дермы, по периферии, на границе со здоровыми тканями сосудов было значительно больше, чем в центре опухоли. Отмечалась корреляционная пропорциональная зависимость между экспрессией маркеров CD31 и CD34 в обеих формах опухоли.

По данным литературы, существует значительная взаимосвязь между плотностью микрососудов и гистологическими типами БКР. При исследовании 25 образцов БКР агрессивного типа (БКР 1) и 25 образцов БКР неагрессивного типа (БКР 2) отмечено, что в об-



а



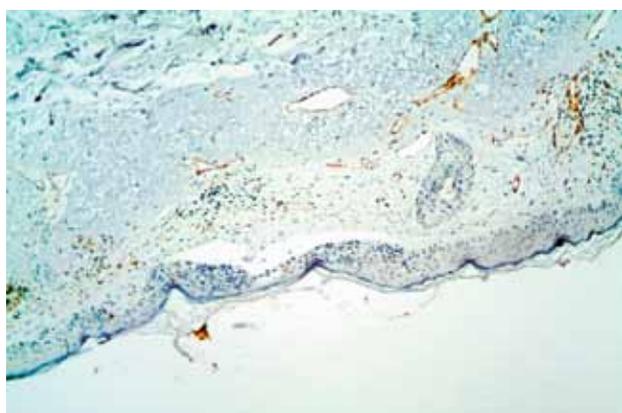
б

Рис. 1. БКР, нодулярный тип. Экспрессия маркеров эндотелия CD31 (а) и CD34 (б).  $\times 200$ . Здесь и на рис. 2 и 3: иммуногистохимическое окрашивание, ПАП-метод, докраска ядер гематоксилином Майера

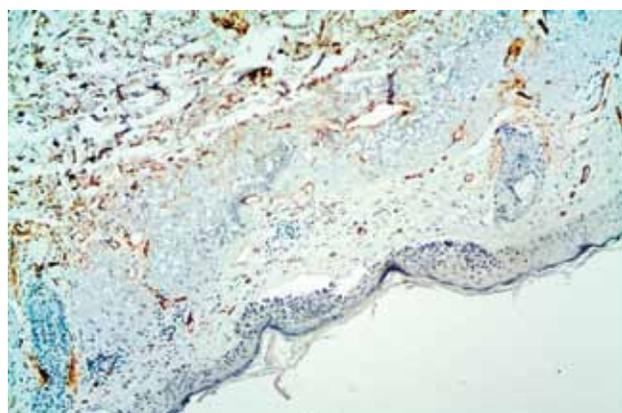
разцах БКР 2 плотность микрососудов составила > 40. Из 25 случаев 22 отличались агрессивным клиническим течением. Среди образцов БКР 1 в 8 случаях они соответствовали БКР 2 (> 40). Примечательно, что в 5 случаях из них выявлено агрессивное клиническое поведение в отличие от их гистологической картины. Высокая плотность сосудов отмечена в опухолях с агрессивным течением, и авторы предположили наличие корреляции между неоангиогенезом, гистологической картиной и морфологией опухоли [10]. Настоящее исследование показало наличие значимой достоверной связи между экспрессией CD31 и CD34 в гистологических типах БКР: в поверхностной мультицентрической базалиоме коэффициент корреляции между CD31

и CD34 составил 0,76, в нодулярной — 0,99, в инфильтративной — 0,95. При сравнении количества сосудов, экспрессирующих CD31 и CD34, в разных морфологических типах базалиомы наблюдалась выраженная тенденция к их увеличению при инфильтративном типе, характеризующемся агрессивным ростом, по сравнению с поверхностным мультицентрическим и нодулярным.

Различия в ангиогенезе при разных морфологических типах опухоли наблюдали и другие авторы [12]. Высокий уровень экспрессии моноклональных антител к CD34 отмечали в солидных типах БКР, средний — в БКР с пилоидной дифференцировкой, наиболее низкий уровень — при БКР типа морфеа [12].

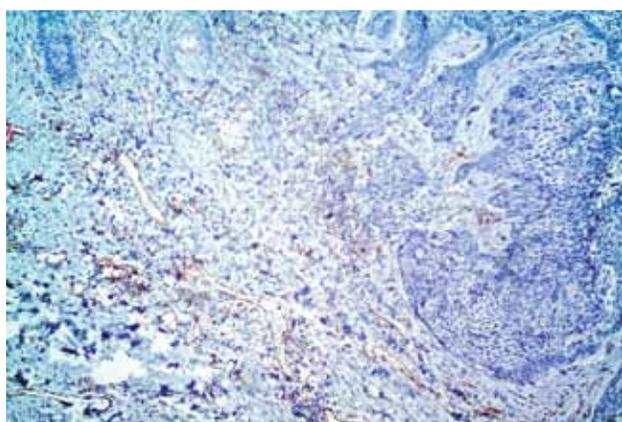


а

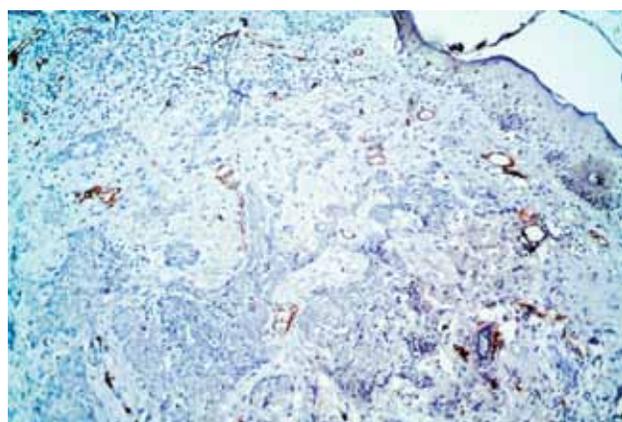


б

Рис. 2. БКР, поверхностный мультицентрический тип. Экспрессия маркеров эндотелия CD31(а) и CD34 (б). x100



а



б

Рис. 3. БКР, инфильтративный тип. Экспрессия маркеров эндотелия CD31(а) и CD34 (б). x100

В данном исследовании, напротив, авторы отмечали, что при морфологических формах БКР, отличающихся агрессивным ростом, имеется малое количество микрососудов и низкая степень выраженности ангиогенеза. Однако было подчеркнуто, что для выявления более четких закономерностей между морфологическими формами БКР и процессами ангиогенеза необходимо дальнейшее исследование на большем количестве материала [12].

### Заключение

Выявлена различная васкуляризация при поверхностной и нодулярной формах базалиомы. При поверхностной форме отмечались сосуды малого и реже среднего диаметра, экспрессирующие CD31 и CD34, локализующиеся преимущественно в субэпидермальной области. Для нодулярной формы были характерны сосуды среднего и крупного диаметра, локализующиеся вокруг опухолевых комплексов и в верхней, средней и нижней части дермы. Выявлена корреляционная

пропорциональная зависимость между количеством сосудов, экспрессирующих CD31, и количеством сосудов, экспрессирующих CD34, как в поверхностной, так и в нодулярной формах (коэффициент Спирмена 0,93;  $p < 0,05$ ).

Установлено наличие значимой достоверной связи между количеством сосудов, экспрессирующих CD31, и количеством сосудов, экспрессирующих CD34, при различных гистологических типах БКР: коэффициент корреляции между экспрессией маркеров CD31 и CD34 при поверхностном мультицентрическом типе составил 0,76 ( $p < 0,05$ ), в нодулярном — 0,99 ( $p < 0,05$ ), в инфильтративном — 0,95 ( $p < 0,05$ ).

При сравнении экспрессии маркеров CD31 и CD34 в разных гистологических типах базалиомы отмечена выраженная тенденция к увеличению количества сосудов, экспрессирующих CD31 и CD34, в инфильтративном БКР кожи по сравнению с поверхностным мультицентрическим и нодулярным. ■

## Литература

- Galil-Agly G.A., Molochkov V.A., Sergeev Ju.V. Dermatologija. M., 2005; 334—340. [Галил-Аглы Г.А., Молочков В.А., Сергеев Ю.В. Дерматология. М., 2005; 334—340.]
- Neil Crowson Basal cell carcinoma: biology, morphology and clinical implications. *Modern pathology* 2006, 19, P. 127—147.
- Snarskaja E.S., Molochkov V.A. Bazalioma. M., 2003; 324. [Снарская Е.С., Молочков В.А. Базалиома. М., 2003; 324.]
- 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; 26: 5: 396—400.
- Ahundov Je.D., Muradov H.K., Alieva I.O., Sadyhova G.G. Immunogistohimicheskie issledovanija angiogeneza pri sarkome Juinga. *Hirurgija* 2011; 11: 41—44. [Ахундов Э.Д., Мурадов Х.К., Алиева И.О., Садыхова Г.Г. Иммуногистохимические исследования ангиогенеза при саркоме Юинга. *Хирургия* 2011; (11): 41—44.]
- Babichenko I.I., Kovjazin V.A. Novye metody immunogistohimicheskoj diagnostiki opuholevogo rosta: Ucheb. posobie. M: RUDN 2008; 109. [Бабиченко И.И., Ковязин В.А. Новые методы иммуногистохимической диагностики опухолевого роста: Учеб. пособие. М: РУДН, 2008; 109.]
- Chuprov I.N. Kliniko-morfologicheskaja harakteristika raznyh tipov bazal'nokletочноgo raka kozhi. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta* 2009; 1: 145—150. [Чупров И.Н. Клинико-морфологическая характеристика разных типов базальноклеточного рака кожи. *Вестник Санкт-Петербургского университета* 2009; (1): 145—150.]
- Abdyeva S.V. Jekspressija SD31 v plejomorfnom variante zlokachestvennoj fibroznoj gistocitomy m'jagkih tkanej. *Onkologija* 2011; 2: 122—124. [Абдыева С.В. Экспрессия CD31 в плеоморфном варианте злокачественной фиброзной гистицитомы мягких тканей. *Онкология* 2011; (2): 122—124.]
- Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *NatMed* 1995; 1 (1): 27—31.
- Aslani F., Aledavood A. Angiogenesis assessment in basal cell carcinoma. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran* 2001; 8: 15—2.
- Buzina R.V. Zavisimost' vyrashennosti angiogeneza ot nalichija i rasprostranennosti jepitelial'no-mezenhimal'noj transformacii v rake zheludka. *Novoutvorenija* 2011; 2: 81. [Бузина Р.В. Зависимость выраженности ангиогенеза от наличия и распространенности эпителиально-мезенхимальной трансформации в раке желудка. *Новоутворення* 2011; (2): 81.]
- Kubanova A.A., Smol'jannikova V.A., Stepanova E.V., Balabaev D.A. Immunogistohimicheseskaja harakteristika angiogeneza razlichnyh morfologicheskikh form bazal'no-kletочноgo raka kozhi. *Tezisy Vserossijskogo kongressa dermatovenerologov. S-Pb, 2007.* [Кубанова А.А., Смольяникова В.А., Степанова Е.В., Балабаев Д.А. Иммуногистохимическая характеристика ангиогенеза различных морфологических форм базально-клеточного рака кожи. *Тезисы Всероссийского конгресса дерматовенерологов. СПб., 2007.*]

### об авторах:

А.Н. Хлебникова — д.м.н., профессор кафедры кожных и венерических болезней ФППОВ ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва  
 Н.В. Новоселова — аспирант кафедры кожных и венерических болезней ФППОВ ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье