

## ПАТОМОРФОЛОГІЯ

© Ю.А. Гасюк С.В. Зачепило Н.І. Гасюк

УДК 616.22-006

Ю.А. Гасюк, С.В. Зачепило, Н.І. Гасюк

**МОРФОГЕНЕЗ ГІПЕРПЛАСТИЧНИХ І ДИСПЛАСТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ В  
БАГАТОШАРОВОМУ ПЛОСКОМУ ЕПІТЕЛІЇ ГОРТАНІ  
ВДНЗУ "Українська медична стоматологічна академія" (м. Полтава)**

Публікація є фрагментом планової науково-дослідної роботи ВДНЗ України "Українська медична стоматологічна академія" "Вивчення закономірностей структурної організації внутрішніх органів в нормі та при патології", номер держреєстрації: 0106U003236.

**Вступ.** Злоякісні новоутворення гортані в 95-98% випадків представлені окерними гістологічними різновидами плоскоклітинної карциноми [1; 5; 7; 9; 13; 16]. Карцинома виникає, як правило, у відділах гортані, що покриті багат шаровим плоским незроговілим епітелієм, а саме міжчерпалоподібній ділянці, язиковій поверхні надгортанника та справжніх голосових складках [1; 10].

Згідно сучасним уявленням, канцерогенез являє собою багатостадійний процес, що відбувається поетапно: від передпухлинних станів до пухлинної прогресії. Отже, плоскоклітинній карциномі гортані передують передракові стани – гіперпластичні та диспластичні процеси в багат шаровому плоскому епітелії, які являють собою обов'язкову стадію в морфогенезі злоякісної пухлини [2; 3; 6; 11]. Період преанкерозів гортані складає від 2 до 12 років, а їх малігнізація спостерігається в 5-30 % випадків [1; 4; 9; 10]. Отже, своєчасне виявлення та лікування останніх дозволяє підвищити ранню діагностику та ефективність лікування раку гортані.

В зв'язку з цим, з'ясування суті морфологічних змін, які виникають при гіперпластичних та диспластичних процесах в багат шаровому плоскому епітелії гортані, є актуальним та перспективним напрямком науково-практичних досліджень.

**Мета дослідження.** Метою даного дослідження стало вивчення порушень кератинізації в багат шаровому плоскому епітелії гортані при гіперпластичних та диспластичних процесах.

**Об'єкт і методи дослідження.** Об'єктом дослідження стала слизова оболонка справжніх голосових складок гортані. Матеріал для дослідження отримали в Полтавському обласному судово-медичному бюро під час розтинів 11 осіб зрілого віку (30-59 років), які померли від нещасних випадків, а також в Полтавському обласному патологоанатомічному бюро під час розтинів 12 осіб похилого віку (60-69 років), які померли від захворювань, непов'язаних із ларингологічною патологією.

Із отриманого матеріалу за загальноприйнятою методикою виготовляли гістологічні препарати, які

збарвлювали гематоксилін-еозином, а також комбінованими гістохімічними забарвленнями: ШИК-реакція – тіоніновим синім, ШИК-реакція – тіоніновим синім з дофарбуванням за способом Бергмана.

В процесі імуногістохімічних досліджень використані моноклональні антитіла до онкопротеїну p16 («*DaCoCytomation*»). Ідентифікація клітин системи внутрішньоепітеліальних макрофагів в багат шаровому плоскому епітелії проводилась на криостатних зрізах з використанням специфічного маркера Cd («Сорбент»). Для унеможливлення помилково-позитивних та помилково-негативних результатів в кожному випадку проводились контрольні імуногістохімічні дослідження.

**Результати досліджень та їх обговорення.**

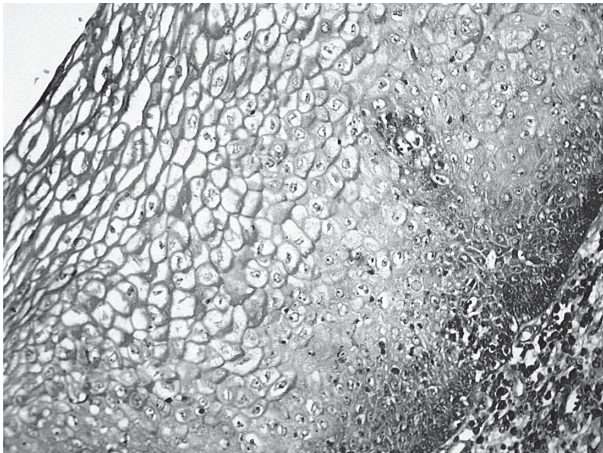
За результатами попередніх власних досліджень встановлено, що багат шаровий плоский епітелій справжніх голосових складок гортані характеризується незавершеним ортокератозом та має три рівні диференціювання епітеліоцитів, які регулюються клітинами системи внутрішньоепітеліальних макрофагів (клітинами Лангерганса та дендритними клітинами I типу та II типу). Разом з тим, дослідження багат шарового плоского епітелію справжніх голосових складок гортані у осіб похилого та старечого віку дозволили визначити деякі вікові особливості кератинізації.

Гіперпластичні процеси на першому рівні структурно-функціональної організації багат шарового плоского епітелію обумовлені різними варіантами постмітотичної міграції базальних клітин та проявляються у вигляді акантозу та вегетацій. У випадках, коли дві дочірні клітини залишаються в базальному шарі, спостерігається неглибоке вrostання контурів базальної мембрани в підлеглу сполучну тканину, внаслідок чого поступово виникає акантоз. При міграції обох дочірніх клітин в парабазальний шар спостерігається глибоке вrostання епітелію в підлеглу сполучну тканину у вигляді вегетацій.

Осередкові та дифузні гіперпластичні процеси на другому рівні організації епітелію проявляються у вигляді паракератозу або дискератозу. При паракератозі серед шарів «темних» шипуватих клітин з'являються «світлі» шипуваті, а також одиничні зернисті епітеліоцити.

Проведені власні гістохімічні дослідження свідчать, що дискератоз виникає внаслідок руйнування тонофібрилярно-десмосомальних комплексів

в клітинах шипуватого шару. При цьому в «світлих» шипуватих епітеліоцитах вакуолізується цитоплазма та зморщується ядро, а зруйновані ШИК-позитивні комплекси тонофібрилярних структур зміщуються до одного із полюсів їх цитоплазми, або виходять за її межі – в міжклітинні простори. Крім того спостерігається руйнування десмосомних контактів між клітинами шипуватого шару. На фоні таких змін десмосомні контакти в парабазальному шарі, а також десмосомоподібні контакти в базальному шарі зберігаються (рис. 1).



**Рис. 1. Дискератоз в багатошаровому плоскому епітелії справжніх голосових складок гортані у особи похилого віку:**

**1.** – «світлі» шипуваті клітини з вакуолізованою цитоплазмою; **2.** – ШИК-позитивні тонофібрилярні комплекси в міжклітинних просторах шипуватого шару; **3.** – клітини парабазального шару; **4.** – базальні епітеліоцити. Забарвлення ШИК-реакція – тіоніновим синім. Зб. 20Х10.

На третьому рівні структурно-функціональної організації багатошарового плоского епітелію гіперпластичні процеси представлені звичайним кератозом та гіперкератозом. Звичайний кератоз представляє собою бляшкоподібне потовщення епітелію, яке виникає внаслідок гіперплазії світлих шипуватих клітин, а також вираженого паракератозу. Власні гістохімічні дослідження демонструють, що в епітелії спостерігається виражене потовщення шипуватого шару. Цитоплазма «світлих» шипуватих клітин вакуолізована, в ній визначаються ядра овальної або неправильної форми, а в міжклітинних просторах – гомогенна ШИК-позитивна речовина. «Темні» шипуваті епітеліоцити в цитоплазмі містять поодинокі зерна глікогену та частково або повністю втрачають зв'язок із «світлими» шипуватими клітинами. Таке розшарування є характерною рисою даного варіанту кератозу. Зернистий шар нерівномірний та в деяких місцях потовщений. Клітини парабазального та базального шару мають веретеноподібну форму та в цитоплазмі містять тіонін-позитивну речовину. В підлеглому підслизовому шарі визначаються дрібні лімфоцитарні інфільтрати.

Гіперкератоз в багатошаровому плоскому епітелії гортані проявляється потовщенням рогового

шару. Чисельні ШИК-позитивні рогові лусочки формують гомогенні поля, серед яких зустрічаються поодинокі лусочки із збереженими пікнотичними ядрами. Під роговими лусочками розташований виражений зернистий шар. Шипуваті клітини мають чіткі контури та з'єднуються поміж собою за допомогою десмосомних контактів. В цитоплазмі проміжних клітин визначаються зерна глікогену, а епітеліоцити базального шару містять тіонін-позитивну речовину. Отже, результати проведених досліджень свідчать, що внаслідок нерівномірного посилення кератинізації в зернистих клітинах в подальшому відбувається потовщення рогового шару, тобто виникає гіперкератоз.

Таким чином, на підставі власних досліджень можна дійти висновку, що в багатошаровому плоскому епітелії справжніх голосових складок гортані у осіб похилого та старечого віку спостерігаються порушення кератинізації епітеліоцитів, які проявляються осередковими та дифузними гіперпластичними процесами.

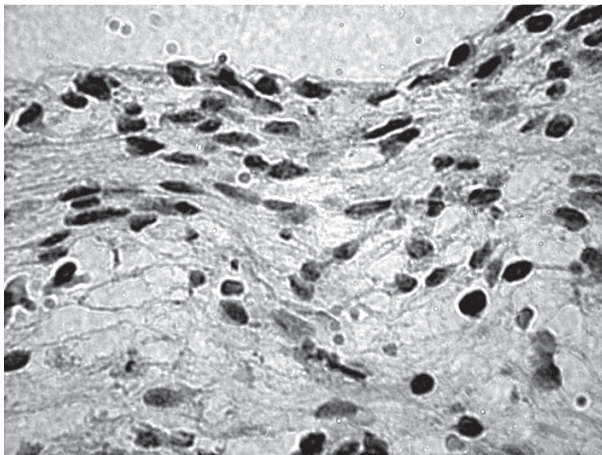
При закінченні процесів кератинізації на рівні світлих шипуватих клітин виникає дискератоз. При цьому в останніх спостерігаються апоптичні зміни, внаслідок чого зруйновані тонофібрилярні комплекси зміщуються до одного із полюсів цитоплазми, або виходять за її межі – в міжклітинні простори. Звичайний кератоз виникає внаслідок посилення процесів ортокератозу. При цьому відбувається трансформація багатошарового плоского незрогового епітелію в зроговілий. При посиленні процесів кератинізації в зернистих епітеліоцитах виникає гіперкератоз, який проявляється потовщенням рогового шару. Виникнення таких варіантів патології зроговіння в багатошаровому плоскому епітелії гортані, очевидно, пов'язано із порушенням функції клітин системи внутрішньоепітеліальних макрофагів. Дана гіпотеза підтверджується результатами власних досліджень, які демонструють зменшення кількості останніх в ділянках гіперплазії або деструктивні зміни в їх цитоплазмі та відростках.

Отже, проведені дослідження дозволяють дійти висновку, що внаслідок порушення регуляторної функції клітин системи внутрішньоепітеліальних макрофагів на певних рівнях структурно-функціональної організації в багатошаровому плоскому епітелії виникають осередкові та дифузні гіперпластичні процеси, які мають зворотній фонівий передпухлинний характер.

При диспластичних процесах в багатошаровому плоскому епітелії гортані спостерігається локальна проліферація епітеліоцитів без проростання базальної мембрани. Власні імуногістохімічні дослідження свідчать, що в ділянках дисплазії спостерігається виражена експресія маркера проліферації Ki-67. Крім того, в зазначених ділянках епітеліоцити втрачають вертикальний або горизонтальний анізоморфізм. Разом з тим, в залежності від характеру експресії маркера Ki-67, а також порушень анізоморфізму на тому, чи іншому рівні структурно-функціональної організації багатошарового плоского епітелію, можна

визначити ступінь дисплазії. Дисплазія першого ступеня спостерігається при вираженій експресії Ki-67 та порушенні вертикального анізоморфізму в базальному та парабазальному шарі. Експресія даного маркера проліферації в шипуватому шарі, разом із порушенням горизонтального анізоморфізму останнього свідчить про другий ступінь дисплазії. При третьому ступені дисплазії експресія Ki-67 визначається у всіх шарах епітелію, а також спостерігається порушення їх анізоморфізму.

Проведені імуногістохімічні дослідження свідчать, що в ділянках дисплазії клітини системи внутрішньо-епітеліальних макрофагів відсутні. Проте, в епітеліоцитах визначається помірний, а іноді високий ступінь експресії онкопротеїна p16 INK4a (рис. 2).



**Рис. 2.** Ділянка дисплазії III ступеня в багатошаровому плоскому епітелії справжніх голосових складок гортані у особи похилого віку: 1. – високий ступінь експресії p16 в епітеліоцитах; 2. – помірна експресія p16 в епітеліоцитах. ІГХ метод. Додаткове забарвлення гематоксилином Маєра. Зб. 40X10.

Згідно даним літератури [8; 12; 15], протеїн p16 INK4a відноситься до «білків-наглядачів», що запобігають розмноженню клітин, в яких виникла активація онкогенів. При диспластичних процесах p16 INK4a зупиняє клітинний цикл окремих епітеліоцитів. При цьому спостерігається фокальний тип його експресії. Разом з тим, при карциномах визначається переважно дифузний тип його експресії [14].

Отже, враховуючи дані літератури, а також на підставі власних досліджень, можна дійти висновку, що характер експресії протеїну p16 INK4a є надважливим показником, який можна використовувати для диференційної діагностики між диспластичними процесами в багатошаровому плоскому епітелії та плоскоклітинними карциномами.

Очевидно, що на тлі диспластичних процесів в епітелії в подальшому можуть виникати інвазивні диференційовані гістологічні різновиди плоскоклітинної карциноми гортані.

### Висновки.

1. Внаслідок дисфункції клітин системи внутрішньо-епітеліальних макрофагів в багатошаровому плоскому епітелії гортані виникають осередкові та дифузні гіперпластичні процеси, які в базальному та парабазальному шарі проявляються акантозом або вегетацією, в шипуватому – паракератозом або дискератозом, а в зернистому та роговому – звичайним кератозом або гіперкератозом.

2. Дисплазія в багатошаровому плоскому епітелії гортані проявляється порушенням анізоморфізму, а також локальною проліферацією епітеліоцитів з відповідною експресією маркера Ki-67 та пов'язана із дисфункцією протеїна p16 INK4a.

**Перспективи подальших досліджень.** Вивчення морфогенезу гіперпластичних та диспластичних процесів в багатошаровому плоскому епітелії гортані дозволить оптимізувати діагностику плоскоклітинних карцином.

## Список літератури

1. Абизов Р. А. Онкоотоларингологія. Лекції / Абизов Р. А. – К.: Книга плюс, 2001. – 272 с.
2. Аничков Н. М. Биомеханизмы прогрессии злокачественных опухолей / Н. М. Аничков // Архив патологии. – 1989. – №7. – С.3–10.
3. Атлас патологии опухолей человека / Под ред. М. А. Пальцева, Н. М. Аничкова. – М.: Медицина, 2005. – 424 с.
4. Барсук В. П. Предраковые заболевания и ранний рак гортани / В. П. Барсук, В. О. Ольшанский, М. Г. Сандул. – Кишинев: Штиинца, 1989. – 136 с.
5. Быкова В. П. Опухоли гортани. – В кн.: Патологоанатомическая диагностика опухолей человека. Руководство для врачей в 2-х томах. / Под ред. Н. А. Краевского, А. В. Смольяникова, Д. С. Саркисова. – М.: Медицина, 1993. – Т.1. – С.443–457.
6. Заридзе Д. Г. Канцерогенез / Заридзе Д. Г. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.
7. Клиническая онкология: в 2-х томах / Под ред. Н. Н. Блохина, Б. Е. Петерсона. – М.: Медицина, 1979. – Т. 1. – 696 с.
8. Копнин Б. П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза / Б. П. Копнин // Биохимия. – 2000. – Т. 65. – С.5–33.
9. Пачес А. И. Опухоли головы и шеи / Пачес А. И. – М.: Медицина, 2000. – 467с.
10. Руководство по оториноларингологии. [2-е изд., перераб.] / Под ред. И. Б. Солдатова. – М.: Медицина, 1997. – 608 с.
11. Foulds L. Neoplastic development / Foulds L. – London-New York: Churchill Livingstone, 1969. – 401 p.
12. Kinzler K. W. Gatekeepers and caretakers / K. W. Kinzler, B. Vogelstein // Nature. – 1997. – Vol. 386. – P. 761–763.
13. Mills S. E., Gaffey M. G., Frierson H. F. Tumor of the upper aerodigestive tract and ear. – In: Atlas of Tumor Pathology [3-rd Series, Fascicle 26] / Ed. J. Rosai, L. H. Sobin. – Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 2000. – P. 218–231.



14. P16INK4A immunohistochemical overexpression in premalignant and malignant oral lesions infected with human papillomavirus / P. Fregonesi, D. Teresa, R. Duarte [et al.] // Journal of Histochemistry and Cytochemistry. – 2003. – Vol. 51, № 10. – P. 1291–1297.
15. Ruas M. The p16INK4a/CDKN2A tumor suppressor and its relatives / M. Ruas, G. Peters // Bio-chem. Biophys. Acta. – 1998. – Vol. 1378. – P.115–177.
16. 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**

### **МОРФОГЕНЕЗ ГІПЕРПЛАСТИЧНИХ І ДИСПЛАСТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ В БАГАТОШАРОВОМУ ПЛОСКОМУ ЕПІТЕЛІЇ ГОРТАНІ**

**Гасюк Ю.А. Зачепило С.В. Гасюк Н.І.**

**Резюме.** В результаті проведених досліджень встановлено, що в багатошаровому плоскому епітелії справжніх голосових складок гортані у осіб похилого та старечого віку спостерігаються порушення кератинізації епітеліоцитів, які проявляються осередковими та дифузними гіперпластичними процесами. Поява останніх пов'язана із дисфункцією клітин системи внутрішньоепітеліальних макрофагів. Гіперпластичні процеси в базальному та парабазальному шарі проявляються акантозом або вегетацією, в шипуватому – паракератозом або дискератозом, а в зернистому та роговому шарі – звичайним кератозом або гіперкератозом. Дисплазія в багатошаровому плоскому епітелії гортані проявляється порушенням анізоморфізму, а також локальною проліферацією епітеліоцитів з відповідною експресією маркера Ki-67 та пов'язана із дисфункцією протеїна p16INK4a.

**Ключові слова:** гіперплазія, дисплазія, багатошаровий плоский епітелій.

**УДК 616.22-006**

### **МОРФОГЕНЕЗ ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИХ И ДИСПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В МНОГОСЛОЙНОМ ПЛОСКОМ ЭПИТЕЛИИ ГОРТАНИ**

**Гасюк Ю.А. Зачепило С.В. Гасюк Н.И.**

**Резюме.** В результате проведенных исследований установлено, что в многослойном плоском эпителии истинных голосовых складок гортани у лиц преклонного и старческого возраста наблюдаются нарушения кератинизации эпителиоцитов, которые проявляются очаговыми и диффузными гиперпластическими процессами. Появление последних связано с дисфункцией клеток системы внутриэпителиальных макрофагов. Гиперпластические процессы в базальном и парабазальном слое проявляются акантозом или вегетацией, в шиповатом – паракератозом или дискератозом, а в зернистом и роговом слое – обычным кератозом или гиперкератозом. Дисплазия в многослойном плоском эпителии гортани проявляется нарушением аноморфизма, а также локальной пролиферацией эпителиоцитов с соответствующей экспрессией маркера Ki-67 и связана с дисфункцией протеина p16INK4a.

**Ключевые слова:** гиперплазия, дисплазия, многослойный плоский эпителий.

**UDC 616.22-006**

### **Morphogenesis Of Hyperplastic And Dysplastic Processes In The Multilayer Squamous Epithelium Of Larynx**

**Gasyuk Y.A. Zachepilo S.V. Gasyuk N.I.**

**Summary.** As a result of the conducted researches it was set, that in the multilayer squamous epithelium of the real vocal cords of larynx in the persons of senile age there are violations of keratinization of epitheliocytes, which presented by local and diffusion hyperplastic processes. Appearance of those processes is connected with the disfunction of cells of the system of intraepithelial macrophages. Hyperplastic processes in a basale and parabasal layer presented by an acanthosis or vegetation, in acanthceous – by a parakeratosis or diskeratosis, and in a grainy and horny layer – by an ordinary keratosis or hyperkeratinization. Dysplasy in the multilayered squamous epithelium of the larynx shows up by the violation of anizomorfizmus and also local proliferation of epithelial cells with the appropriate expression of marker Ki-67 and connected with the disfunction of proteine p16INK4a.

**Key words:** hyperplasy, dysplasy, multilayer squamous epithelium.

Стаття надійшла 2.07.2011 р.