

УДК 619: 616.988.6

UDC 619: 616.988.6

06.02.10 Ветеринария и Зоотехния

Veterinary and Zootechnics

**ОСОБЕННОСТИ АНГИОГЕНЕЗА  
ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫХ ПАПИЛЛОМ СОБАК****FEATURES OF ANGIOGENESIS  
OF SQUAMOUS CELL PAPILLOMAS OF DOGS**

Кудачева Наталья Александровна  
кандидат ветеринарных наук, доцент  
РИНЦ SPIN-код: 6018-3265  
NAlmakaeva@yandex.ru., тел. +79879149744  
*Кафедра «Эпизоотология, патология и  
фармакология» факультета Биотехнологии и  
ветеринарной медицины, ФГБОУ ВО «Самарская  
государственная сельскохозяйственная академия»,  
г. Кинель, Россия*

Kudacheva Natalia Aleksandrovna  
Candidate of veterinary Sciences, associate Professor  
RSCI SPIN-code: 6018-3265  
NAlmakaeva@yandex.ru., phone – +79879149744  
*Department of «Epidemiology, pathology, and  
pharmacology» at the faculty of Biotechnology and  
veterinary medicine, Samara state agricultural  
Academy, Kinel, Russia*

В статье рассмотрен ангиогенез плоскоклеточных папиллом собак, представляющий собой процесс формирования кровеносных сосудов, обеспечивающий неоваскуляризацию новообразований при их прогрессии. Проведена дифференциация папиллом в зависимости от морфологических и гистологических особенностей, выделены прогрессирующий и гиперкератинизированный типы, определяющие стадию развития и переход от одной к другой в процессе роста опухоли. Отмечено, что при прогрессии папиллом увеличивается площадь составных элементов новообразования, как за счет стромы, так и за счет паренхимы, но при этом стромально-паренхимальное соотношение изменяется в сторону увеличения паренхимального компонента. Анализ ангиогенеза показал гетерогенность выделенных сосудов, как в пределах стромального компонента папиллом, так и в зависимости от типа новообразований. Выделено три вида сосудов – мелкие, средние и крупные, отмечено сходное соотношение различных видов сосудов независимо от типа папиллом. Изучена локализация сосудов в строме в зависимости от принадлежности к выделенному виду. Суммарная площадь сечения сосудов при онкопрогрессии возрастает, а соотношение суммарной площади сечения сосудов к площади стромы находится практически на одном уровне, что определяет зависимость увеличения стромального компонента папиллом от ангиогенеза

The article deals with angiogenesis of squamous papillomas of dogs, which is a process of formation of blood vessels, providing neovascularization of tumors with their progression. The differentiation of papillomas depending on morphological and histological features was carried out, progressive and hyperkeratinized types were identified, which determine the stage of development and transition from one to another in the process of tumor growth. It is noted that with the progression of papillomas, the area of the constituent elements of the tumor increases, both due to the stroma and due to the parenchyma, but the stromal-parenchymal ratio changes in the direction of increasing the parenchymal component. Analysis of angiogenesis showed heterogeneity of the isolated vessels, both within the stromal component of papillomas, and depending on the type of tumors. There are three types of vessels – small, medium and large, there is a similar ratio of different types of vessels, regardless of the type of papillomas. Localization of vessels in the stroma depending on belonging to the selected species was studied. The total area of the section of blood vessels with cancer increases, and the ratio of the total area of the section of blood vessels to the area of the stroma is almost at the same level, which determines the dependence of the increase in the stromal component of papillomas from angiogenesis

Ключевые слова: ГИСТОЛОГИЯ, АНГИОГЕНЕЗ, ПАПИЛЛОМА, ОНКОГЕНЕЗ, ЭПИТЕЛИАЛЬНЫЕ ОПУХОЛИ, ГИПЕРКЕРАТОЗ, КОЙЛОЦИТОЗ, НЕОВАСКУЛЯРИЗАЦИЯ, СТРОМА ОПУХОЛИ, ПАРЕНХИМА

Keywords: HISTOLOGY, ANGIOGENESIS, PAPILLOMA, ONCOGENESIS, EPITHELIAL TUMORS, HYPERKERATOSIS, KOILOCYTES, NEOVASCULARIZATION, TUMOR STROMA, PARENCHYMA

Doi: 10.21515/1990-4665-150-021

Кровоснабжение необходимо для развития и роста опухолей, а ангиогенез является фундаментальным процессом формирования новых кровеносных сосудов из уже существующих [9, 10]. Ангиогенез или неоваскуляризация новообразования достаточно сложный процесс, для которого характерно формирование новых кровеносных сосудов. Ангиогенез можно представить в виде сменяющих друг друга этапов, одним из которых является пролиферация эндотелиальных клеток, с формированием новых капиллярных трубок, их последующим слиянием и развитием сети анастомозов между ними [11]. Неоваскуляризация опухолей, рост и последующая дифференцировка микрососудов, вполне обоснованно обсуждается в качестве обязательного компонента любых морфогенетических преобразований [3]. При большом количестве разветвленных сосудов с большим периметром сосудистой сети опухолевая паренхима имеет лучшие условия для обеспечения кислородом и питательными веществами, так как большее количество клеток имеют непосредственный контакт с сосудом [4]. Высокий уровень обмена веществ через стенки развивающихся сосудов способствует пролиферации окружающей ткани [5]. Достаточно много вопросов возникает в отношении ангиогенеза папиллом животных. Предположительно факторы ангиогенеза могут вырабатываться клетками папиллом или происходить из макрофагов, инфильтрирующих новообразование. Ангиогенные факторы вызывают пролиферацию и миграцию эндотелия капилляров, что приводит к неоваскуляризации развивающейся папилломы, впоследствии чего она может достигать стадии, распознаваемой клинически [1]. Опухоли высоко васкуляризованы, соответственно уязвимы по уровню снабжения кровью, а сам процесс ангиогенеза может быть мишенью для терапии [8]. Диагностика новообразований, в том числе плоскоклеточных папиллом, базируется на различных принципах, с учетом локализации, морфологического строения, стадии онкогенеза [2]. Гистологическое

исследование папиллом в совокупности с клиническим методом диагностики диссеминированного папилломатоза и морфологической оценкой новообразований позволяет изучить патогенез данного заболевания [6, 7], информация в отношении которого достаточно скромна, и вопросы ангиогенеза не ясны, учитывая, что рассматриваемый процесс является частью патогенеза. Прогрессирование онкогенеза взаимосвязано с особенностями ангиогенеза папиллом, как одного из факторов, определяющих их скорость роста.

Данная концепция легла в основу наших исследований исходя из которой, была сформулирована цель – изучить гистоморфологические особенности сосудов папиллом собак при опухолевой прогрессии, провести типизацию плоскоклеточных папиллом на фоне роста, с учетом особенностей строения и морфометрических данных паренхимы, стромы и сосудов опухоли.

**Материалы и методы исследования.** Новообразования, полученные от 26 собак, фиксировались общепринятыми методами, с последующим проведением морфогистологического исследования для изучения тканевой топологии и клеточной структуры. Гистологические препараты готовили на замораживающем микротоме МЗП-01 «Техном», с дальнейшей окраской гематоксилином и эозином. Исследование гистологических срезов включал в себя метод светооптической микроскопии на микроскопе «Микромед 2 вар 3-20». Фотографирование гистологической картины осуществляли при помощи цифровой камеры «Micrometrics 300 CU». Гистоморфологический анализ особенностей ангиогенеза плоскоклеточных папиллом собак был основан на выделении морфологических признаков микрососудов. Морфометрические исследования проводили с помощью окулярного микрометра при увеличении светового микроскопа x40, x100 и x400. Изучались топологические свойства структурных элементов новообразований, в

частности паренхимы и стромы папиллом путем вычисления пространственного соотношения. Определяли суммарную площадь сечения сосудов к общей площади стромального компонента. В строме производили подсчет сосудов, при этом каждый сосуд считался отдельной единицей независимо от его типизации. Изучали такие показатели как форма и размер кровеносных сосудов, которые использовались для последующего их морфологического типирования.

**Результаты исследования.** Плоскоклеточные папилломы собак представляют собой самостоятельную организованную систему со своей иннервацией и трофикой. Структура опухоли неоднородна и представлена множественными сосцевидными элементами. Гистологической особенностью новообразований является сходство паренхимы с нормальной аналогичной эпителиальной тканью и способность имитировать ее архитектуру. Типизация плоскоклеточных папиллом основывалась на морфологических критериях, с учетом указанных гистологических особенностей, а также в зависимости от размера морфологических единиц, формирующих папилломы, признаков гиперкератоза, паракератоза и особенностей строения сосудов.

При использовании указанных критериев выделено два типа плоскоклеточных папиллом – прогрессирующий и гиперкератинизированный, представляющих собой последовательный переход при онкопрогрессии один в другой, фактически определяя стадийность формирования новообразований при кожном папилломатозе собак. Для прогрессирующих папиллом характерны размеры до 0,7-0,8 см, умеренно плотная структура, поверхность представлена сосцевидными множественными образованиями с незначительными признаками гиперкератоза. Гиперкератинизированные папилломы плотные, размер от 0,8 до 1,4 см, поверхность неоднородная, при пальпации шероховатая, с

признаками повреждения целостности ее поверхности, в некоторых случаях отмечается кровоточивость.

Площадь составных элементов, формирующих папилломы прогрессирующего типа, в среднем составляет  $55837,45 \pm 26,75$  мкм<sup>2</sup>, гиперкератинизированного типа  $379314,11 \pm 58,31$  мкм<sup>2</sup>. Площадь поперечного сечения гиперкератинизированных образований превышает прогрессирующий тип в среднем в 6,79 раз, или прогрессирующие папилломы представляют всего 14,72% от площади второго типа, представляя собой составляющую морфологическую единицу онкогенеза для последующего формирования папиллом второго типа. Стромальный компонент независимо от типа папиллом не превышает площади паренхимы, что не позволяет отнести их к фибропапилломам, при этом строма прогрессирующих новообразований менее развита. Площадь стромы в общей структуре, формирующих опухоль морфологических единицах, превалирует в гиперкератинизированных папилломах, при этом стромально-паренхимальное соотношение в них соответствует преобладанию паренхимы над стромой значительно, чем в прогрессирующих новообразованиях.

В строении сосудов кровеносной сети плоскоклеточных папиллом, отмечается четкая организация: отсутствуют сосуды со спавшимися стенками и признаками дезорганизации, наличием дефектов и апоптоза. Сосуды представлены уплощенными эндотелиоцитами, расположенными в строме, состоящей из клеток соединительной ткани. У папиллом прогрессирующего типа строма состоит преимущественно из рыхлой соединительной ткани, у гиперкератинизированного типа из коллагеновых волокон. Независимо от новообразования сосуды относятся к капиллярному типу, стенка представлена эндотелиоцитами в один или несколько слоев (Рис. 1, 2).

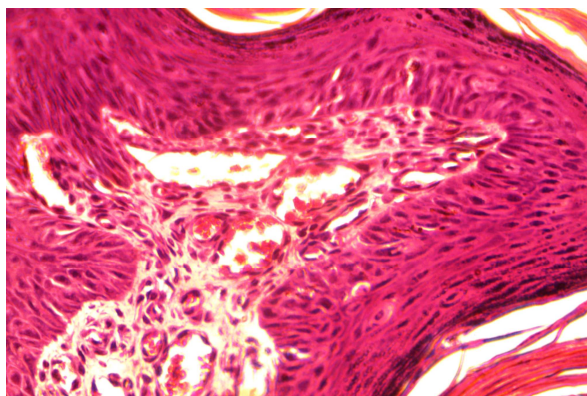


Рис. 2. Прогрессирующий тип папиллом (продольный разрез).  
Окраска гематоксилин-эозином, ув.  
объектив x40, окуляр x10.

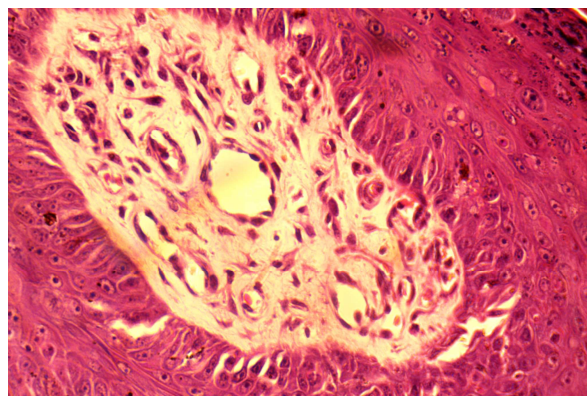


Рис. 1. Гиперкератинизированный тип папиллом (поперечный разрез).  
Окраска гематоксилин-эозином, ув.  
объектив x40, окуляр x10.

Эндотелий сосудов плоскоклеточной папилломы представляет собой непрерывный слой клеток, образующий его внутреннюю выстилку. Клеточное строение представлено большей частью, удлинненными клетками с овальным ядром, тесно сомкнутыми, преимущественно одноядерными, реже двухядерными. Ядра уплощены, имеют эллипсоидную форму с очень малым вертикальным размером, своим длинным диаметром они ориентированы вдоль сосуда. Длина клеток преобладает над шириной в 8,95 раз. В крупных сосудах отмечается наличие ядер овоидной формы, которые выступают в просвет сосуда, придающих эндотелиальным клеткам хаотичное расположение в структуре сосуда и умеренную дезорганизацию его стенки.

Последующая дифференциация сосудов была ориентирована на выделение особенностей их строения и локализации, относящихся к прогрессирующему и гиперкератинизированному типам. В пределах каждого типа плоскоклеточных папиллом выделены три вида сосудов: мелкие, средние и крупные. Мелкие сосуды прогрессирующих папиллом диаметром от 4,8 до 7,2 мкм, гиперкератинизированных от 7,8 до 14,4 мкм, эндотелиальные клетки единичны, формируют однородный эндотелиальный слой. Средние сосуды в зависимости от типа составляют

12,0-16,8 мкм, и 24,0-28,8 мкм соответственно, эндотелиоциты расположены упорядоченно в один слой клеток, с локальными незначительными наложениями друг на друга (Таблица).

Морфометрические показатели плоскоклеточных папиллом собак

Таблица

№ п/п	Показатели	Прогрессирующий тип папиллом	Гиперкератинизированный тип папиллом
1	Площадь составных элементов папилломы, мкм <sup>2</sup>	55837,45±26,75	379314,11±38,31
2	Площадь стромы, мкм <sup>2</sup>	5746,05±	26472,89±
3	Площадь паренхимы, мкм <sup>2</sup>	50091,402±	352841,224±
4	Стромально-паренхимальное соотношение	1/8,72	1/13,33
5	Количество сосудов в строме (среднее значение), из них:	12,10±0,36	15,80±0,42
5.1	мелкие сосуды	9,85±0,78	12,25±0,94
5.2	средние сосуды	1,75±0,05	2,30±0,06
5.3	крупные сосуды	0,85±0,03	1,25±0,04
6	Площадь сосудов в строме, мкм <sup>2</sup> (среднее значение), из них:	197,86±5,04	667,78±12,16
6.1	мелкие сосуды	28,27±1,24	96,77±2,07
6.2	средние сосуды	157,03±1,86	547,39±3,06
6.3	крупные сосуды	408,28±3,07	1359,18±3,84
7	Плотность сосудов в строме, на 100 мкм <sup>2</sup>	0,02	0,04
8	Суммарная площадь сечения сосудов, мкм <sup>2</sup> , из них:	890,41±5,13	4143,40±6,74
8.1	мелкие сосуды	268,57±3,01	1185,43±4,08
8.2	средние сосуды	274,806±3,24	1258,99±4,15
8.3	крупные сосуды	347,038±3,86	1698,96±4,38
9	Соотношение суммарной площади сечения сосудов к площади стромы	1/6,45	1/6,39
10	Соотношение суммарной площади сечения сосудов к площади паренхимы	1/56,26	1/85,15
11	Гиперкератоз (толщина), мкм	18,28±2,03	80,44±4,05
12	Паренхима (толщина), мкм	89,58±4,12	254,11±6,13

Крупные сосуды размером от 19,2 до 26,4 мкм и от 40,0 до 43,2 мкм соответственно, клетки эндотелиального слоя неоднородны, отличаются

хаотичным расположением в несколько рядов, при этом толщина эндотелиальной выстилки не превышает 7 мкм.

Крупные сосуды папиллом прогрессирующего и гиперкератинизированного типов, имеют преимущественно центральное или субцентральное расположение со смещением к паренхиме. У гиперкератинизированных папиллом количество сосудов достигает двух, что вероятнее всего связано с дихотомическим типом ветвления при увеличении площади сосцевидных элементов, формирующих новообразование. В прогрессирующих папилломах могут отсутствовать крупные сосуды, с характерным для них строением, что возможно связано с достаточной васкуляризацией мелкими и средними.

Отмечено, что существует зависимость формирования сосудов от площади стромы во всех типах папиллом. Соотношения суммарной площади сечения сосудов к площади стромы у прогрессирующего и гиперкератинизированного типов близки по значению друг к другу и составляют  $1/6,45$  и  $1/6,39$  соответственно. При онкопрогрессии плотность сосудов в строме на  $100 \text{ мкм}^2$ , а также суммарная площадь сечения сосудов увеличиваются.

Сосудистая стенка имеет особенности строения в зависимости от размеров сосудов, локализации в структуре новообразований и принадлежности к типам папиллом. Толщина стенки сосудов колеблется: у прогрессирующего типа папиллом от 2,12 до 6,07 мкм, среднее значение 4,06 мкм, у гиперкератинизированного типа от 2,30 до 6,89 мкм, среднее значение 4,57 мкм.

**Выводы.** При прогрессии папиллом увеличивается площадь сосцевидных элементов, как за счет стромы, так и за счет паренхимы, но при этом стромально-паренхимальное соотношение изменяется в сторону увеличения паренхимального компонента. Кровеносные сосуды плоскоклеточных папиллом собак являются зрелыми, без выраженных



дефектов и признаков апоптоза, однородны, не расширены, извилисты, целостность базальной мембраны не нарушена, стенки сосудов представлены эндотелиальными клетками. Анализ ангиогенеза показал гетерогенность выделенных сосудов, как в пределах стромального компонента папиллом, так и в зависимости от типа новообразований. Тип плоскоклеточных папиллом определяет количественное соотношение различных сосудов, при этом в прогрессирующем типе крупные сосуды составляют 7,02%, средние – 14,46%, мелкие – 78,52%. Гиперкератинизированный тип также представлен крупными, средними и мелкими сосудами, составляющие 7,91%, 14,56% и 77,53% соответственно от общего количества сосудов, выделенных в строме. Таким образом, можно отметить сходное соотношение различных видов сосудов независимо от типа папиллом. Суммарная площадь сечения сосудов при онкопрогрессии возрастает, а соотношение суммарной площади сечения сосудов к площади стромы находится практически на одном уровне, что определяет зависимость увеличения стромального компонента папиллом от ангиогенеза.

#### **Библиографический список**

1. Аничков, Н. М. Биология опухолевого роста (молекулярно-медицинские аспекты) / Н. М. Аничков, И. М. Кветной, С. С. Коновалов. – СПб.: Прайм-ЕВРОЗНАК, 2004. – М.: ОЛМА-ПРЕСС, 2004. – 216 с.
2. Базаров, Н. И. К вопросу о классификации и формулировке диагноза в онкологии / Базаров Н. И., Мухсинзаде С. Н., Рахимов Н. М., Рахматов М. Т. // Вестник Авиценны. – 2014. – № 4. – С. 65-72.
3. Банин, В. В. Ангиогенез как механизм реализации функций мезенхимальных стволовых клеток / Банин В. В., Костяева М. Г. // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2015. – Т. 4. № 3. – С. 25.
4. Горбань, Н. А. Ангиогенез в плоскоклеточном раке гортани и его прогностическое значение / Н.А. Горбань, В.П. Тен, В.А. Панкратов // Вопросы онкологии. – 2009. – Т. 55. № 1. – С. 46-50.
5. Черток, В. М. Эндотелиозависимая регуляция ангиогенеза / В. М. Черток, А. Г. Черток, В. Г. Зенкина // Цитология. – 2017. – Т. 59. № 4. – С. 243-258.
6. Кудачева, Н. А. Клинико-гистологическая характеристика частного случая плоскоклеточного рака кожи собаки / Н. А. Кудачева. – Вестник ветеринарии. – 2012. – №63 (4). – С. 122-124.

7. Кудачева, Н. А. Койлоцитарная атипия эпителия как цитоморфологический критерий диагностики папилломатоза / Н. А. Кудачева. // Ветеринария и кормление. – 2015. – №4. – С. 38-39.
8. Повещенко, А.Ф. Механизмы и факторы ангиогенеза / А.Ф. Повещенко, В.И. Коненков // Успехи физиологических наук, – 2 010. – № 2 – С. 68-89.
9. Benazzi, C. Angiogenesis in Spontaneous Tumors and Implications for Comparative Tumor Biology / C. Benazzi, A. Al-Dissi, C. H. Chau, W. D. Figg, G. Sarli, J. T. de Oliveira, F. Gärtner // Scientific World Journal. – 2014; doi: 10.1155/2014/919570
10. Benjamin, L.E. Selective ablation of immature blood vessels in established human tumors follows vascular endothelial growth factor with drawal / L.E. Benjamin, D. Golijanin, A. Itin // J. Clin. Invest, 1999. – Vol. 103. – P. 159-165.
11. Sokolov, D. Study of cytokine profile and angiogenic potential of peritoneal fluid in patients with external genital endometriosis / D. Sokolov, N. Solodovnikova, O. Pavlov [et al.] // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2005. – Vol. 140, № 5. – P. 541-544.

### References

1. Anichkov. N. M. Biologiya opukholevogo rosta (molekulyarno-medsinskiye aspekty) / N. M. Anichkov. I. M. Kvetnoy. S. S. Konovalov. – SPb.: Praym-EVROZNAK. 2004. – M.: OLMA-PRESS. 2004. – 216 s.
2. Bazarov. N. I. K voprosu o klassifikatsii i formulirovke diagnoza v onkologii / Bazarov N. I.. Mukhsinzade S. N.. Rakhimov N. M.. Rakhmatov M. T. // Vestnik Avitsenny. – 2014. – № 4. – S. 65-72.
3. Banin, V. V. Angiogenez kak mexanizm realizacii funkciy mezenximal'ny`x stvolovy`x kletok / Banin V. V., Kostyaeva M. G. // Zhurnal anatomii i gistopatologii. – 2015. – T. 4. № 3. – S. 25.
4. Gorban. N. A. Angiogenez v ploskokletochnom rake gortani i ego prognosticheskoye znachenie / N.A. Gorban. V.P. Ten. V.A. Pankratov // Voprosy onkologii. – 2009. – T. 55. № 1. – S. 46-50.
5. Chertok. V. M. Endoteliozavisimaya regulyatsiya angiogeneza / V. M. Chertok. A. G. Chertok. V. G. Zenkina // Tsitologiya. – 2017. – T. 59. № 4. – S. 243-258.
6. Kudacheva. N. A. Kliniko-gistologicheskaya kharakteristika chastnogo sluchaya ploskokletochnogo raka kozhi sobaki / N. A. Kudacheva. – Vestnik veterinarii. – 2012. – №63 (4). – S. 122-124.
7. Kudacheva. N. A. Koylotsitarnaya atipiya epiteliya kak tsitomorfologicheskii kriteriy diagnostiki papillomatoza / N. A. Kudacheva. // Veterinariya i kormleniye. – 2015. – №4. – S. 38-39.
8. Poveshchenko. A.F. Mekhanizmy i faktory angiogeneza / A.F. Poveshchenko. V.I. Konenkov // Uspekhi fiziologicheskikh nauk. – 2 010. – № 2 – S. 68-89.
9. Benazzi, C. Angiogenesis in Spontaneous Tumors and Implications for Comparative Tumor Biology / C. Benazzi, A. Al-Dissi, C. H. Chau, W. D. Figg, G. Sarli, J. T. de Oliveira, F. Gärtner // Scientific World Journal. – 2014; doi: 10.1155/2014/919570
10. Benjamin, L.E. Selective ablation of immature blood vessels in established human tumors follows vascular endothelial growth factor with drawal / L.E. Benjamin, D. Golijanin, A. Itin // J. Clin. Invest, 1999. – Vol. 103. – P. 159-165.
11. Sokolov, D. Study of cytokine profile and angiogenic potential of peritoneal fluid in patients with external genital endometriosis / D. Sokolov, N. Solodovnikova, O. Pavlov [et al.] // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2005. – Vol. 140, № 5. – P. 541-544.