

© Коллектив авторов, 2015
УДК 611.24+612.24.006.6

Д.С.Кобяков¹, А.М.Авдалян², А.Ф.Лазарев², Е.Л.Лушникова³, Л.М.Непомнящих³

ПРОЦЕССЫ ПРОЛИФЕРАЦИИ, АПОПТОЗА И АНГИОГЕНЕЗА В ПАТОЛОГИЧЕСКИ НЕИЗМЕНЕННОМ ЛЕГКОМ И ПРИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО

¹ Патологоанатомическое отделение (зав. — канд. мед. наук Д.С. Кобяков), Когалымская городская больница; ² лаборатория молекулярной диагностики (зав. — д-р мед. наук А.М. Авдалян), Алтайский филиал РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Барнаул; ³ лаборатория общей патологической анатомии, отдел общей патологии и патоморфологии (зав. — чл.-кор. РАМН проф. Л.М. Непомнящих), Научно-исследовательский институт региональной патологии и патоморфологии СО РАМН, г. Новосибирск

Цель работы — изучение пролиферации, апоптоза и ангиогенеза в патологически неизменном легком и при немелкоклеточном раке легкого с использованием соответствующих маркеров. Исследован материал патологически неизменного легкого (n=80), а также полученный при операциях удаления немелкоклеточного рака легкого (n=237). Иммуногистохимическим методом определяли Ki-67, топоизомеразу IIα (TopoIIα), p53, bcl-2, bax, CD34 и подопланин. Аргирофильные белки, ассоциированные с ядрышкообразующими районами (Ag-ЯОР-белки), выявляли импрегнацией нитратом серебра. Получены количественные данные и определены особенности экспрессии маркеров, связанных с пролиферацией, апоптозом и ангиогенезом в патологически неизменном легком. В альвеолах индекс метки Ki-67 и TopoIIα составил менее 1%, индекс площади Ag-ЯОР-белков — 1,31±0,20, отсутствовала экспрессия p53, bcl-2 и bax, плотность расположения кровеносных сосудов — 86 (73–102), лимфатические сосуды отсутствовали. В бронхе индекс метки Ki-67 и TopoIIα составил 4 (1–8) и менее 1% соответственно, индекс площади Ag-ЯОР-белков — 1,85±0,24, отсутствовала экспрессия p53 и bcl-2, экспрессия bax — 100%, плотность расположения кровеносных и лимфатических сосудов — 22 (17–31) и 4 (2–7) соответственно. Результаты сопоставлены с экспрессией маркеров при немелкоклеточном раке легкого, что имеет фундаментальное и дифференциально-диагностическое значение при исследовании патогистологического материала из легкого. Экспрессия маркеров, связанных с пролиферацией, апоптозом и ангиогенезом, изменяется от патологически неизменного легкого до немелкоклеточного рака легкого.

Ключевые слова: легкое, пролиферация, апоптоз, ангиогенез, немелкоклеточный рак легкого

Процессы пролиферации и апоптоза (запрограммированной гибели клетки) являются ключевыми в развитии тканевых структур легкого и их последующем функционировании.

На сегодняшний день существуют определенные трудности в достоверной оценке пролиферативного потенциала от неизменного эпителия бронхов и альвеол до опухоли, так как процесс пролиферации отражает не только количество пролиферирующих клеток (пролиферативная активность, фракция роста), но и скорость прохождения клеткой фаз митоза (продолжительность клеточного цикла). Для оценки пролиферативной активности общепризнанным и доступным является иммуногистохимическое определение содержания антигена Ki-67 [3, 8–10, 12]. Антиген Ki-67 выявляется в клетках в позднюю

G₁-, S-, G₂-, M-фазы, однако функциональное значение этого ядерного белка в процессе пролиферации не совсем ясно. Фермент топоизомеразы IIα (TopoIIα) — белок с ферментативной активностью, участвующий в топологической сборке ДНК во время транскрипции, конденсации и сегрегации хромосом, выявляется в клетках, находящихся в S-, G₂-, M-фазах клеточного цикла, в связи с чем является также маркером пролиферативной активности [1, 3]. Аргирофильные белки, ассоциированные с ядрышкообразующими районами (Ag-ЯОР-белки), являются маркерами скорости клеточного цикла и широко используются в гистопатологии [2, 4–6, 8]. До 75% окрашивания Ag-ЯОР-белков составляют 2 главных аргирофильных белка C23 (нуклеолин) и B23 (нуклеофозмин), играющих важнейшую роль в

Сведения об авторах:

Кобяков Дмитрий Сергеевич (e-mail: dskob@yandex.ru), Когалымская городская больница, 628484, Тюменская область, г. Когалым, ул. Молодежная, 19

Авдалян Ашот Меружанович (e-mail: ashot_avdalyan@mail.ru), лаборатория молекулярной диагностики, Лазарев Александр Федорович (e-mail: aoc@ctmed.ru), Алтайский филиал РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 656049, Алтайский край, г. Барнаул, ул. Никитина, 77

Лушникова Елена Леонидовна (e-mail: patol@soramn.ru), отдел клеточной биологии и морфологии, Непомнящих Лев Моисеевич (e-mail: patol@soramn.ru), Научно-исследовательский институт региональной патологии и патоморфологии СО РАМН, 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

синтезе рибосомальной РНК [7]. Эти белки выявляются в ядрах клеток во все фазы клеточного цикла, количественно увеличиваясь в 1,5–3 раза в S- и G₂-фазах. Показана обратная зависимость между количественным содержанием Ag-ЯОР-белков и длительностью клеточного цикла, временем удвоения опухоли.

В настоящее время процесс апоптоза активно изучается на стадийных этапах канцерогенеза от нормы и до рака легкого [3, 13–15]. Белок p53 является транскрипционным фактором, регулирующим функцию большинства генов и выполняющим супрессорную функцию (остановка клеточного цикла, репарация ДНК и апоптоз). Bcl-2 является антиапоптотическим белком, а bax — проапоптотическим белком митохондриального пути активации апоптоза. Активация bax происходит через белок p53, а инактивация — через димеризацию с белком bcl-2.

Мелкие кровеносные и лимфатические сосуды, на стандартных гистологических препаратах не дифференцируются. Антиген CD34 является маркером эндотелиоцитов кровеносных сосудов, антитело подопланин — маркером эндотелиоцитов лимфатических сосудов. Иммуногистохимическое выявление данных антигенов на микроскопическом светооптическом уровне позволяет оценивать разные стороны ангиогенеза в патологически неизменном легком — гемангиогенез и лимфангиогенез [9, 11, 12].

При анализе зарубежной и отечественной литературы мы не нашли исследований, посвященных комплексному изучению процессов пролиферации, апоптоза и ангиогенеза в патологически неизменном легком, а также в сопоставлении с его немелкоклеточным раком (НМКР). Цель настоящей работы — исследование процессов пролиферации (на основании изучения Ki-67, ТороIIα и Ag-ЯОР-белков), апоптоза (на основании изучения p53, bcl-2 и bax) и ангиогенеза (на основании изучения CD34 и подопланина) в патологически неизменном легком и с его НМКР.

Материал и методы. Исследован операционный материал легких с его НМКР (n=237), удаленных за период 2007–2009 гг. в Алтайском краевом онкологическом диспансере (109 случаев аденокарциномы и 128 случаев плоскоклеточного рака). Изучено 80 патологически неизмененных участков легкого из отдаленных от опухоли мест операционного материала.

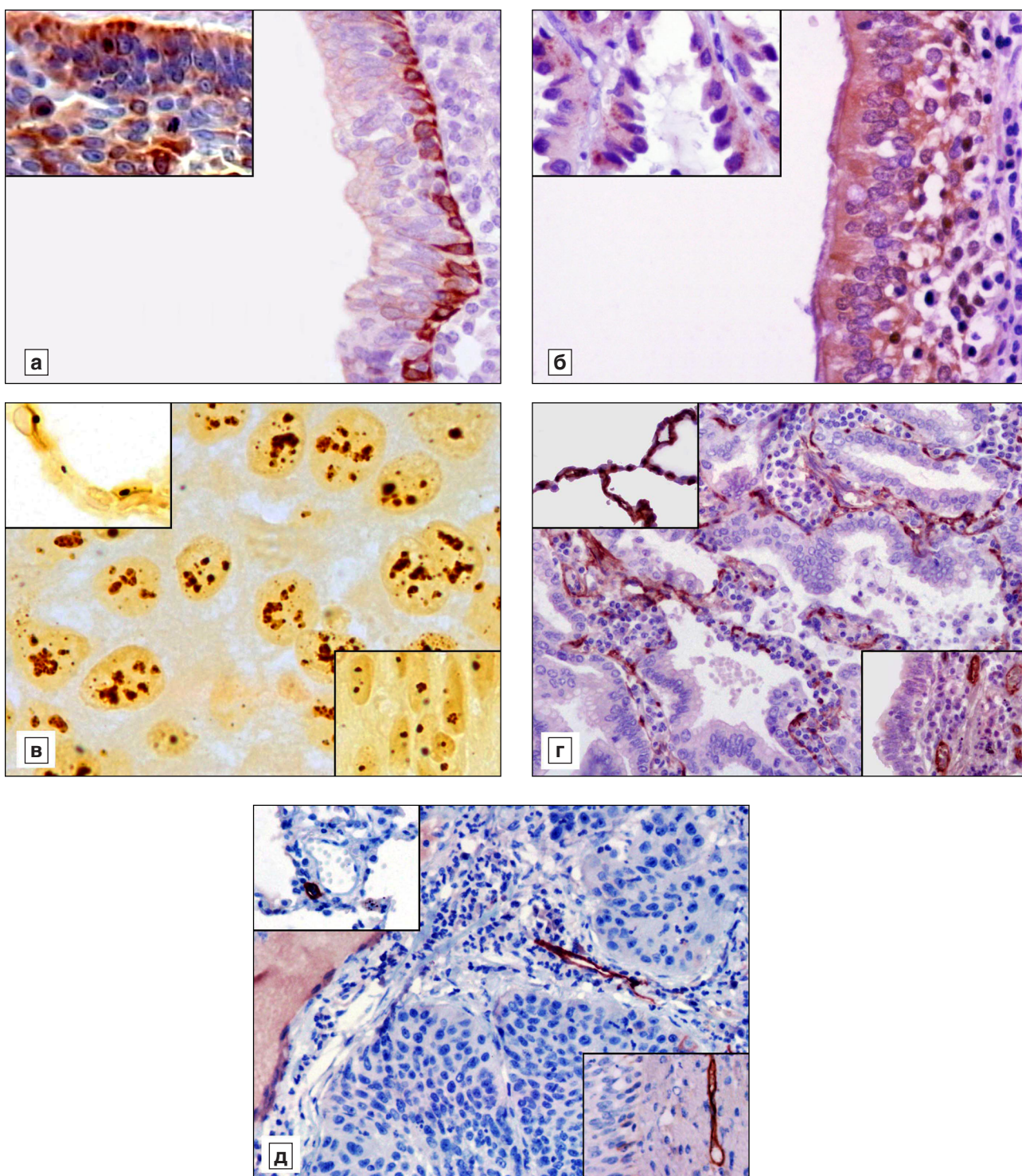
Материал фиксировали 18–24 ч в 10% нейтральном забуференном формалине. После стандартной проводки готовили гистологические срезы толщиной 4 мкм. Препараты окрашивали гематоксилином — эозином, использовали ШИК-реакцию и окраску альциановым синим, по Крейбергу. Иммуногистохимическим методом выявляли на Ki-67 (клон MIB-1, Dako, США), ТороIIα (клон JS5B4, Ventana, США), p53 (клон DO-7, Dako, США), bcl-2 (клон 124, Dako, США),

bax (клон SP47, SpringBio, США), CD34 (клон QBEnd/10, Ventana, США), подопланин (клон D2–40, Ventana, США) в автостейнере Ventana XT (США). В каждом случае при исследовании Ki-67, ТороIIα, p53, bcl-2, bax исследовали 1000 клеток в 5–7 полях зрения при ув. 400. Определяли индекс метки (ИМ) — долю положительно окрашенных клеток от общего количества подсчитанных клеток в процентах (для Ki-67, ТороIIα, p53 — ядерное окрашивание, для bcl2, bax — цитоплазматическое). ИМ p53, bcl2 и bax более 10% считали положительной экспрессией антигена. В каждом случае при исследовании CD34 и подопланина исследовали 3 поля зрения при ув. 200 и вычисляли соответственно плотность микроциркуляторного русла кровеносных сосудов (ПМЦР-Г) или лимфатических сосудов (ПМЦР-Л) — среднее значение количества сосудов с позитивно окрашенным эндотелием; подсчитывали отдельно расположенные сосуды с определяемым просветом и без просвета (кластеры позитивно окрашенных клеток).

Для изучения Ag-ЯОР-белков проводили импрегнацию срезов нитратом серебра по одностадийной методике. Перед импрегнацией срезы автоклавируют при 120 °С 20 мин, в 0,01 М цитратном буфере (рН=6,0). Определяли площадь Ag-ЯОР-белков (в мкм²) в ядрах 100–120 клеток с 10–15 цифровыми изображениями, полученными при увеличении микроскопа 1000 (об. 100, 1,25, масляная иммерсия). Компьютерный анализ изображений проводили с помощью программы ImageJ 1.42. В качестве внутреннего контроля окрашивания использовали площадь Ag-ЯОР-белков в ядрах малых лимфоцитов. Находили индекс площади (ИП) Ag-ЯОР-белков — частное от деления площадей Ag-ЯОР-белков в клетке опухоли и малом лимфоците.

Статистический анализ полученных данных осуществляли с помощью программы Statistica 6.0. Так как распределение ИП Ag-ЯОР-белков было параметрическим, то данные представляли в виде среднего и стандартного отклонения. Поскольку распределение ИМ Ki-67, ИМ ТороIIα, ПМЦР-Г и ПМЦР-Л было непараметрическим, то данные представляли в виде медианы и интерквартильного интервала. Данные о положительной экспрессии маркеров, связанных с апоптозом (p53, bcl2 и bax), были бинарными, их представляли в виде абсолютного и относительного (в процентах) количества. Применяли непараметрические методы: однофакторный тест Краскела—Уоллиса, U-тест Манна—Уитни, двусторонний критерий Фишера, коэффициент корреляции рангов Спирмена (r). Различия считали значимыми при P<0,05.

Результаты исследования. Результат иммуногистохимической реакции определяли по окрашиванию ядер (Ki-67, ТороIIα и p53) или цитоплазмы (bcl-2 и bax) эпителиоцитов, а также эндотелиоцитов кровеносных (CD34) и лимфатических (подопланин) сосудов, от светло- до темно-коричневого цвета. Результат импрегнации нитратом серебра определяли по округлым гранулам черного цвета (Ag-ЯОР-белки), расположенным на фоне коричневого ядрышка или бледно-желтого ядра (*рисунк*). В ядрах малых лимфоцитов чаще определялась одна гранула серебра, реже две. Средняя площадь Ag-ЯОР-белков в ядре малого лимфоцита равнялась 1,48 (0,12) мкм². Результаты исследования маркеров, связанных с пролиферацией (Ki-67, ТороIIα и Ag-ЯОР-белки),



Воздухоносные и респираторные отделы патологически неизмененного легкого и при его немелкоклеточном раке.

а — экспрессия bcl-2 в патологически неизмененном эпителии бронха, в верхнем углу слева — в умеренно-дифференцированном плоскоклеточном раке легкого; б — экспрессия baх в патологически неизмененном эпителии бронха, в верхнем углу слева — экспрессия baх в высокодифференцированной аденокарциноме легкого; в — Ag-ЯОР-белки в клетках умеренно-дифференцированного плоскоклеточного рака легкого, в верхнем углу слева — в патологически неизмененном эпителии альвеолы, в нижнем углу справа — в патологически неизмененном эпителии бронха; г — экспрессия CD34 в высокодифференцированной аденокарциноме легкого, в верхнем углу слева — в патологически неизмененных альвеолах, в нижнем углу справа — в патологически неизменной слизистой оболочке и подслизистой основе бронха; д — экспрессия подопланина в клетках умеренно-дифференцированного плоскоклеточного рака легкого, в верхнем углу слева — в межальвеолярной строме по ходу кровеносного сосуда, в нижнем углу справа — в подслизистой основе бронха. а, б, г, д — иммуногистохимическая реакция, в — импрегнация нитратом серебра. Ув.: а, б — 400; в — 1000; г, д — 200

Маркеры, связанные с пролиферацией, апоптозом и ангиогенезом в патологически неизмененном легком и с его немелкоклеточным раком

Маркер	Патологически неизмененное легкое		Легкое с немелкоклеточным раком	
	Альвеола	Бронх	Аденокарцинома	Плоскоклеточный рак
Ki-67	<1	4 (1–8)	20 (11–38)	30 (23–45)
ТороПa	<1	<1	14 (6–21)	22 (16–29)
Ag-ЯОР-белки	1,31±0,20	1,85±0,24	6,0±1,8	7,0±1,5
p53	–	–	39 (36)	65 (51)
bcl-2	–	–	13 (12)	30 (23)
baх	–	80 (100)	69 (63)	61 (48)
ПМЦР-Г	86 (73–102)	22 (17–31)	47 (36–64)	40 (30–59)
ПМЦР-Л	–	4 (2–7)	4 (2–10)	4 (2–8)

апоптозом (p53, bcl-2 и baх) и ангиогенезом (CD34 и подоплантин), в патологически неизмененном легком и с его НМКР представлены в *таблице*.

В ядрах клеток патологически неизмененного эпителия альвеол ИМ Ki-67 и ТороПa составил менее 1% (единичные положительные клетки), ИП Ag-ЯОР-белков — 1,31±0,20. В эпителии бронхов ИМ Ki-67 составил, в среднем, 4 (1–8), ИМ ТороПa — менее 1% (единичные положительные клетки), ИП Ag-ЯОР-белков — 1,85±0,24. В клетках НМКР легкого ИМ Ki-67 составил 25 (18–42), ИМ ТороПa — 19 (12–27) и ИП Ag-ЯОР-белков — 6,52±1,66 (см. рисунок, в). В клетках НМКР наблюдалось повышение ИМ Ki-67, ИМ ТороПa и ИП Ag-ЯОР-белков по сравнению с таковым в патологически неизмененном эпителии альвеол и бронхов ($P<0,001$). Обнаружена взаимосвязь экспрессии Ki-67, ТороПa и Ag-ЯОР-белков с гистогенезом НМКР легкого — выше при плоскоклеточном раке, чем при аденокарциноме. Отмечена корреляция ($P<0,001$) между маркерами, связанными с пролиферацией — ИМ Ki-67, ИМ ТороПa и ИП Ag-ЯОР-белков.

В ядрах клеток патологически неизмененного эпителия альвеол экспрессия p53, bcl-2 и baх не была обнаружена. В эпителии бронхов отсутствовали p53-положительные клетки, а bcl-2-положительные клетки определялись только в базальном слое (ИМ bcl-2 — менее 10%), baх-положительные клетки имелись во всех слоях эпителия (ИМ baх — более 90%). При НМКР легкого положительная экспрессия p53 была обнаружена в 104 (44%) случаях, bcl-2 — в 43 (18%) и baх — в 130 (55%) случаях (см. рисунок, а, б). В клетках НМКР легкого наблюдалось снижение экспрессии baх (по сравнению с таковой в эпителии бронхов) и повышение экспрессии p53 и bcl-2 по сравнению с экспрессией в патологически неизмененном эпителии альвеол и бронхов ($p<0,001$). Обнаружена взаимосвязь экспрессии p53, bcl-2 и baх с гистогенезом НМКР легкого:

экспрессия bcl-2 и p53 была выше при плоскоклеточном раке, а baх — выше при аденокарциноме. Отсутствовала корреляция между маркерами, связанными с апоптозом — ИМ p53, ИМ bcl-2 и ИМ baх. Обнаружена корреляция ($P<0,05$) между маркерами, связанными с пролиферацией и апоптозом: между ИП Ag-ЯОР-белков и p53, bcl-2; между ИМ Ki-67 и p53, baх; между ИМ ТороПa и p53, baх.

В патологически неизмененных альвеолах ПМЦР-Г составила 86 (73–102). Лимфатические сосуды в межальвеолярной перегородке отсутствовали и определялись в межальвеолярной соединительной ткани, около кровеносных сосудов, вне состава микроциркуляторного русла. В патологически неизмененных бронхах ПМЦР-Г составила 22 (17–31), ПМЦР-Л — 4 (2–7). При НМКР легкого ПМЦР-Г составила 43 (34–60), ПМЦР-Л — 4 (2–9) (см. рисунок, г, д). В НМКР легкого наблюдалось снижение ПМЦР-Г по сравнению с таковой в альвеолах и повышение — в бронхах ($P<0,001$), а также повышение ПМЦР-Л по сравнению с таковой в альвеолах ($P<0,001$) и отсутствие различия — в бронхах. Отсутствовала корреляция между маркерами, связанными с ангиогенезом — ПМЦР-Г и ПМЦР-Л, и маркеров, связанных с ангиогенезом (ПМЦР-Г и ПМЦР-Л) и пролиферацией (ИМ Ki-67, ИМ ТороПa и ИП Ag-ЯОР-белков), с одной стороны, а также с апоптозом (p53, bcl-2 и baх) — с другой стороны.

Обсуждение полученных данных. В патологически неизмененном легком уровень пролиферации низкий. Так, в эпителии альвеол отмечаются небольшое количество пролиферирующих клеток (ИМ Ki-67 и ТороПa) и низкая активность ядрышковых организаторов (ИП Ag-ЯОР-белков), которая близка к активности ядрышковых организаторов малого (неактивного) лимфоцита. В эпителии бронхов количество Ki-67 положительных клеток несколько больше,

чем в эпителии альвеол, а количество ТороIIα-положительных клеток сопоставимо с таковым в эпителии альвеолы. Это указывает на более высокую пролиферативную активность эпителия бронхов, чем эпителия альвеол. Активность ядрышковых организаторов в эпителиоцитах бронхов также больше, чем в эпителии альвеол, и почти в 2 раза больше, чем в малом лимфоците.

Результаты нашего исследования, установившего низкую пролиферативную активность патологически неизмененного эпителия бронхов, совпадают с данными К. Hiroshima и соавт. [12], использовавших Ki-67.

В предыдущих исследованиях нами было показано [1], что патологически неизменная ткань также характеризуется крайне низкой пролиферативной активностью, оцененной по ИМ ТороIIα. При исследовании эпителиев желудка [4], толстой кишки [5] и гладкой мышечной ткани матки [2] было выявлено, что активность ядрышковых организаторов имеет отличие в зависимости от уровня пролиферации клеток неизменной ткани — она выше в пролиферативном компартменте по сравнению с компартментом дифференцированных клеток.

В патологически неизменном эпителии альвеол не определялась экспрессия маркеров, связанных с апоптозом (p53, bcl-2 и bax). В патологически неизменном эпителии бронхов отсутствовала экспрессия p53, что согласуется с результатами исследований других авторов [11–15]. Связано это с тем, что период полужизни немутантного белка p53 крайне короткий, и его иммуногистохимическая визуализация в неизменных тканях затруднена. По результатам нашего исследования, а также данным других авторов [13–15] экспрессия bcl-2 определяется в базальных клетках патологически неизмененного эпителия бронхов. Являясь антиапоптотическим белком, bcl-2 предотвращает гибель недифференцированных базальных клеток бронхов. Экспрессия bax была обнаружена во всех эпителиоцитах бронхов, таким образом, определяя вероятность апоптоза дифференцированных бронхиальных эпителиоцитов. Наши сведения об экспрессии bax в этом эпителии также соответствуют данным мировой литературы [14, 15]. Однако реализация процесса апоптоза является следствием соотношения большого количества про- и антиапоптотических факторов, а не активности одного белка.

Вокруг альвеол выявлена высокая плотность расположения кровеносных сосудов и не обнаружены лимфатические сосуды, что связано с наличием газотранспортной функции и отсутствием лимфатической дренажной функции аль-

веол. Около бронхов плотность расположения кровеносных сосудов меньше, чем между альвеолами, и присутствуют лимфатические сосуды, обеспечивая трофическую и дренажную функцию. Количественные данные о плотности расположения кровеносных сосудов вокруг бронхов, полученные в настоящем исследовании на операционном материале, коррелируют с данными исследований материала бронхобиопсий других авторов [9, 11, 12].

Результаты нашего исследования и данные мировой литературы показали, что при НМКР легкого по сравнению с патологически неизменным эпителием альвеолы и бронха увеличивается экспрессия маркеров, связанных с пролиферацией (Ki-67, ТороIIα и Ag-ЯОР-белки) [3, 8–10], апоптозом (p53 и bcl-2) [3, 10, 14, 15], и уменьшается экспрессия bax [14, 15], что приводит к повышенному воспроизводству опухолевых клеток, нарушению процессов клеточной гибели и выживанию раковых клеток. Экспрессия маркеров, связанных с пролиферацией, апоптозом и ангиогенезом, взаимосвязана с гистогенетическими вариантами НМКР легкого [3, 10]. Вероятно, особенности генетических изменений, характерные для определенного гистогенетического варианта НМКР легкого, определяют фундаментальные биологические процессы — пролиферацию, апоптоз и ангиогенез.

Таким образом, получены количественные данные об экспрессии маркеров, связанных с пролиферацией (Ki-67, ТороIIα и Ag-ЯОР-белки), апоптозом (p53, bcl-2 и bax) и ангиогенезом (CD34 и подопланин) в патологически неизменном легком (альвеола и бронх).

Определены различия в экспрессии маркеров, связанных с пролиферацией, апоптозом и ангиогенезом при НМКР легкого по сравнению с нормой, а также при аденокарциноме по сравнению с плоскоклеточным раком легкого, что имеет дифференциально-диагностическое значение при исследовании патогистологического материала из легкого.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авдалян А. М., Бобров И. П., Климачев В. В., Лазарев А. Ф. Активность Тороisomerase IIα и уровень пролиферативной активности по степени бромдезоксидуридиновой (BrdU) метки в лейомиосаркоме тела матки // Арх. пат. 2011. Т. 73, № 1. С. 24–29.
2. Бобров И. П., Авдалян А. М., Лазарев А. Ф. и др. Морфофункциональная характеристика белков областей ядрышковых организаторов при гладкомышечных опухолях матки // Арх. пат. 2008. Т. 70, № 3. С. 18–23.
3. Коган Е. А., Швеи С. И., Коваленко В. Л., Соболева Ю. В. Соотношение процессов пролиферации, апоптоза, ангиогенеза

- неза и метастазирования в различных гистогенетических типах рака легкого (иммуногистохимическое исследование) // Арх. пат. 2004. Т. 66, № 6. С. 33–38.
4. Лазарев А.Ф., Бобров И.П., Климачев В.В., Лубенников В.А. Характеристика ядрышкового аппарата опухолевых клеток при раке желудка // Арх. пат. 2002. Т. 64, № 6. С. 30–32.
 5. Лазарев А.Ф., Кобяков Д.С., Климачев В.В. и др. Аргирофильные белки районов ядрышковых организаторов в аденомах с различной степенью дисплазии и аденокарциноме толстой кишки // Арх. пат. 2010. Т. 72, № 4. С. 16–20.
 6. Мамаев Н.Н., Гиндина Т.Л., Скороход И.А. и др. Количественная характеристика гемопоэза у больных множественной миеломой по данным серебрения ядрышек // Гематол. и трансфузиол. 2002. Т. 47, № 4. С. 24–27.
 7. Мамаев Н.Н., Мамаева С.Е. Структура и функция ядрышкообразующих районов хромосом: молекулярные, цитологические и клинические аспекты // Цитология. 1992. Т. 34, № 10. С. 3–25.
 8. Райхлин Н.Т., Букаева И.А., Смирнова Е.А. и др. Значение экспрессии ядрышковых аргирофильных белков и антигена Ki-67 в определении пролиферативной активности клеток и прогноза «малого» (T1) рака легкого // Арх. пат. 2008. Т. 70, № 3. С. 15–18.
 9. Cavarga I., Kocan P., Boor A. et al. Immunohistochemical markers of proliferation and vascularisation in preneoplastic bronchial lesions and invasive non-small cell lung cancer // Neoplasma. 2009. Vol. 56, № 5. P. 414–421.
 10. D'Amico T.A., Aloia T.A., Moore M.B.H. et al. Molecular Biologic Substaging of Stage I Lung Cancer According to Gender and Histology // Ann. Thorac. Surg. 2000. Vol. 69, № 6. P. 882–886.
 11. Fontanini G., Calcinai A., Boldrini L. et al. Modulation of neoangiogenesis in bronchial preneoplastic lesions // Oncol. Rep. 1999. Vol. 6, № 4. P. 813–817.
 12. Hiroshima K., Iyoda A., Shibuya K. et al. Evidence of neoangiogenesis and an increase in the number of proliferating cells within the bronchial epithelium of smokers // Cancer. 2002. Vol. 95, № 7. P. 1539–1545.
 13. Jeanmart M., Lantuejoul S., Fievet F. et al. Value of immunohistochemical markers in preinvasive bronchial lesions in risk assessment of lung cancer // Clin. Cancer Res. 2003. Vol. 9, № 6. P. 2195–2203.
 14. Porebska I., Wyrdek E., Kosacka M. et al. Apoptotic markers p53, Bcl-2 and Bax in primary lung cancer // In Vivo. 2006. Vol. 20, № 5. P. 599–604.
 15. Tormanen U., Nuorva K., Soini Y., Paakko P. Apoptotic activity is increased in parallel with the metaplasia-dysplasia-carcinoma sequence of the bronchial epithelium // Br. J. Cancer. 1999. Vol. 79, № 5–6. P. 996–1002.
- Поступила в редакцию 05.12.2014
Получена после доработки 10.09.2015
- THE PROCESSES OF CELL PROLIFERATION, APOPTOSIS AND ANGIOGENESIS IN PATHOLOGICALLY UNCHANGED LUNG AND IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER**
- D.S.Kobyakov¹, A.M.Avdalyan², A.F.Lazarev², Ye.L.Lushnikova³, L.M.Nepomnyashikh³*
- The objective of this study was to examine cell proliferation, apoptosis and angiogenesis in pathologically unchanged lung and in non-small cell lung cancer with the use of appropriate markers. The material studied included samples of pathologically unchanged lung (n=80) and those obtained at operations in 237 cases of non-small cell lung cancer. Immunohistochemical methods were used to demonstrate Ki-67, topoisomerase IIα (TopoIIα), p53, bcl-2, bax, CD34 and podoplanin. Argyrophilic proteins associated with nucleolar organizer regions (Ag-NOR proteins), were detected by impregnation with silver nitrate. The quantitative data were obtained and the peculiarities of the expression of markers associated with proliferation, apoptosis and angiogenesis in pathologically unchanged lung were determined. In the alveoli, the labeling index of Ki-67 and TopoIIα was less than 1%, AgNOR area index was equal to 1.31±0.20; p53, bcl-2, bax expression was absent, density of blood vessels was equal to 86 (73–102), while lymphatic vessels were absent. In the bronchus, the labeling index of Ki-67 and TopoIIα were respectively 4 (1–8) and less than 1%, AgNOR area index — 1.85±0.24, bax expression — 100%, density of blood and lymph vessels — 22 (17–31) and 4 (2–7) respectively; p53 and bcl-2 expression were absent. The results were compared with the expression of markers in non-small cell lung cancer. This comparison has fundamental and differential diagnostic value in the study of histopathological lung material. The expression of markers associated with proliferation, apoptosis and angiogenesis changes from pathologically unchanged lung to non-small cell lung cancer.
- Key words:** lung, proliferation, apoptosis, angiogenesis, non-small cell lung cancer
- ¹ Department of Pathology, Kogalym City Hospital; ² Laboratory of Molecular Diagnostics, Altai Branch of RAS N.N.Blokhin Russian Cancer Research Center, Barnaul; ³ Laboratory of General Pathology, Department of General Pathology and Morbid Anatomy, RAS Siberian Branch Research Institute of Regional Pathology and Pathomorphology, Novosibirsk