

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ И МОРФОЛОГИЯ КОЖИ СОБАК ПРИ МЕЛАНОМЕ

В. В. МАЛАШКО, В. СКОРОБОГАТКО

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь, 230008

(Поступила в редакцию 26.03.2026)

Представлен морфологический и ультраструктурный анализ изменений в коже собак при меланоме. На основании морфологической структуры меланома кожи в 48% случаев была охарактеризована, как находящиеся в вертикальной фазе роста. Особенностью перестройки микроциркуляторного русла дермы кожи собак в регионе крупной меланомы и узловой меланомы формируются аномальные соустья (шунтов) между артериолами и венулами. Сформированные конструкции обладают высокой скоростью микроциркуляции. При меланоме кожи у собак формируется аномальное сосудистое русло, сопровождающееся повышенной извитостью, проницаемостью и неравномерностью просветов сосудов. Выявлена повышенная фагоцитарная активность моноцитов периферической крови при меланоме кожи. Появление в крови моноцитов с высокой степенью активности кислой фосфатазы характеризуются высокой цитолитической активностью. Количество клеток, не проявляющих цитохимическую активность, составляло 22,19 %, с низкой степенью активностью – 65,28 %, со средней степенью активностью – 10,24 % и высокой степенью активностью – 2,29 %. При сравнительном анализе лимфоцитарного инфильтрата выделено три типа: сливной, рассеянный и очаговый инфильтрат. Структурно-функциональные изменения в меланоцитах кожи являются одной из причин нарушений межклеточных коммуникаций при опухолевом росте. При онкологическом процессе происходит активный гистогенез соединительной ткани, который обусловлено пролиферацией фибробластов и их активной синтетической функцией. Среди популяции фибробластов обнаруживались клетки с расширенными профилями цистерн гранулярной эндоплазматической сети, повышенной плотностью расположения рибосом на их внутренней мембране. При ультраструктурном исследовании установлено, что в 56 % случаев встречаются фибробласты с гипертрофированным синтетическим аппаратом белка и хорошо развитым аппаратом Гольджи. Аппарат Гольджи сформирован спазмированными цистернами и гиперплазированными везикулярными элементами. Секреторные везикулы содержат гранулярный материал различной электронной плотности. В условиях развития меланомы кожи подобных фибробластов было в пределах 45–57 %. Об высокой синтетической активности фибробластов свидетельствует скопление секреторных везикул в области межклеточного пространства.

Ключевые слова: собаки, кожа, меланома, морфология, ультраструктура, соединительная ткань, кровеносные сосуды, меланоциты, коллаген.

This article presents a morphological and ultrastructural analysis of changes in canine skin with melanoma. Based on the morphological structure, 48 % of melanoma cases were characterized as being in the vertical growth phase. A characteristic feature of the restructuring of the microvasculature of the canine dermis in the region of large melanomas and nodular melanomas is the formation of abnormal anastomoses (shunts) between arterioles and venules. These structures have a high microcirculation rate. In dogs with melanoma, an abnormal vascular bed develops, accompanied by increased tortuosity, permeability, and unevenness of vessel lumens. Increased phagocytic activity of peripheral blood monocytes was detected in melanoma. The presence of monocytes with high acid phosphatase activity in the blood is characterized by high cytolytic activity. The percentage of cells exhibiting no cytochemical activity was 22.19 %, with low activity – 65.28 %, with moderate activity – 10.24 %, and with high activity – 2.29 %. A comparative analysis of the lymphocytic infiltrate identified three types: confluent, scattered, and focal. Structural and functional changes in skin melanocytes are one of the causes of disruption of intercellular communication during tumor growth. Oncological processes are characterized by active connective tissue histogenesis, which is caused by fibroblast proliferation and their active synthetic function. Among the fibroblast population, cells with dilated profiles of the cisternae of the granular endoplasmic reticulum and an increased density of ribosomes on their inner membrane were detected. Ultrastructural studies revealed that 56 % of cases contained fibroblasts with a hypertrophied protein synthesis apparatus and a well-developed Golgi apparatus. The Golgi apparatus is formed by spasmodic cisterns and hyperplastic vesicular elements. Secretory vesicles contain granular material of varying electron density. In the development of cutaneous melanoma, the percentage of such fibroblasts ranged from 45 % to 57 %. The accumulation of secretory vesicles in the intercellular space indicates high fibroblast synthetic activity.

Key words: dogs, skin, melanoma, morphology, ultrastructure, connective tissue, blood vessels, melanocytes, collagen.

Введение

Меланома – злокачественная опухоль, развивающаяся из меланоцитов – пигментных клеток, синтезирующих меланин. Опухоль имеет нейроэктодермальную природу, преимущественно локализуется в коже, значительно реже в сетчатке глаза, на слизистых оболочках (полость рта и носа, перианальной и вульвовагинальной областях). Меланома часто рецидивирует и метастазирует лимфогенным и гематогенным путем почти во все органы. Метастазирование вначале происходит в лимфатические узлы, позднее могут поражаться легкие, печень, кости, головной мозг [1, 9].

Состояние иммунной системы является одним из факторов, определяющих динамику злокачественного процесса. Исследования последних лет показали, что клетки иммунной системы являются частью микроокружения опухоли и играют определяющую, но в то же время неоднозначную роль в прогрессировании опухолевого процесса и выживаемости онкологических больных человека и животных [2, 7]. Особенностью меланомы кожи является интенсивная лимфоцитарная инфильтрация. Лимфоциты, инфильтрирующие меланому кожу, отличаются иммунофенотипическими особенностями и разнонаправленностью влияния на опухоль. В частности, CD8 Т-лимфоциты оказывают цитотоксическое воздействие на опухолевые клетки, в то время как регуляторные Т-лимфоциты, экспрессирующие FoxP3, подавляют функции CD8 Т-лимфоцитов, тем самым, позволяют опухоли уклоняться от действия иммунологического контроля [3, 8].

В последние десятилетия произошла революция в понимании патогенеза меланомы. Выявление онкогенных мутаций, изучение молекулярной передачи сигналов, возникающих в результате мутаций, понимание иммунологии опухоли позволили изменить стратегии лечения. Новые молекулярно-направленные и иммуноориентированные агенты вошли в клиническую практику, что позволило улучшить показатели общей и безрецидивной выживаемости больных меланомой. Однако, несмотря на достигнутые результаты, многие механизмы прогрессирования меланомы все еще остаются невыясненными [1, 4].

В настоящее время особое внимание сосредоточено на небольших некодирующих последовательностях РНК-микроРНК (миРНК), которые влияют на экспрессию большого числа генов и являются важными регуляторами многих клеточных процессов: пролиферации, дифференцировки, регенерации, миграции, апоптоза). МиРНК имеют стабильный уровень в сыворотке крови, устойчивы к разрушению РНКазой и другими ферментами, обладают высокой специфичностью и чувствительностью, поэтому претендуют на роль идеальных биомаркеров [5].

Основная часть

Научные исследования заключались в изучении морфофункциональных изменений в организме собак и структурных перестроек в коже при меланоме. Объектом исследований служили собаки разных пород и возрастов с диагнозом – меланомой кожи. Гистологическое исследование проводили после полной резекции опухоли. Частичную биопсию не проводили, во избежание распространения раковых клеток. Биоматериал опухолей получали методом эксцизионной биопсии, т.е. иссечение всей опухоли целиком, с шириной захвата окружающих тканей – 2,5–3,0 см. Для проведения исследований использовали аналитические приборы: гематологический анализатор «IDEXX Procite DX», биохимический анализатор «SPOTCHEM ARKRAY ES-SP-4430», анализатор электролитов «SPOTCHEM EL SE-1520», анализатор мочи «POCKETCHEM UA PU-4010».

При осмотре собак с подозрением на меланому акцентировали внимание на подвижности структуры, цвете, наличии патологических повреждений кожи собак. Проводили пальпаторную оценку регионарных лимфатических узлов. Определяли наличие рядом с опухолью мелких пигментированных и беспигментных образований, так называемых – сателлитов. По нашим наблюдениям первичные меланомы вначале развиваются в эпидермальном слое кожи горизонтально, в последующем – в вертикальном направлении. Процесс горизонтального роста длится от нескольких месяцев до нескольких лет. В последующем новообразование становится более плотным (упругим) и выпуклым. Поверхность образования чернеет и приобретает гляцевый блеск. На поверхности пятна образуются очаги некроза, кровоточивость. По итогам дерматоскопических исследований было выделены следующие признаки меланомы: 1) бело-голубой оттенок; 2) структуры в стадии регрессии; 3) атипичное микрососудистое русло; 4) однообразная эксцентричная пигментация; 5) разнокалиберные пигментные гранулы, глобулы, точки. На основании морфологической структуры меланома кожи в 48 % случаев была охарактеризована, как находящаяся в вертикальной фазе роста.

Особенностью перестройки микроциркуляторного русла дермы кожи собак, в частности, в регионе крупной меланомы и узловой меланомы формируются аномальные соустья (шунтов) между артериолами и венами. Мы считаем, что сформированные конструкции обладают высокой скоростью микроциркуляции (high-flow lesions). Сочетание дилатированных (расширенных) и суженных (констрикция) сосудов придает им кавернозную форму (рис. 1). Мы впервые констатируем, что при меланоме кожи у собак формируется аномальное сосудистое русло, сопровождающееся повышенной извитостью, проницаемостью и неравномерностью просветов сосудов.

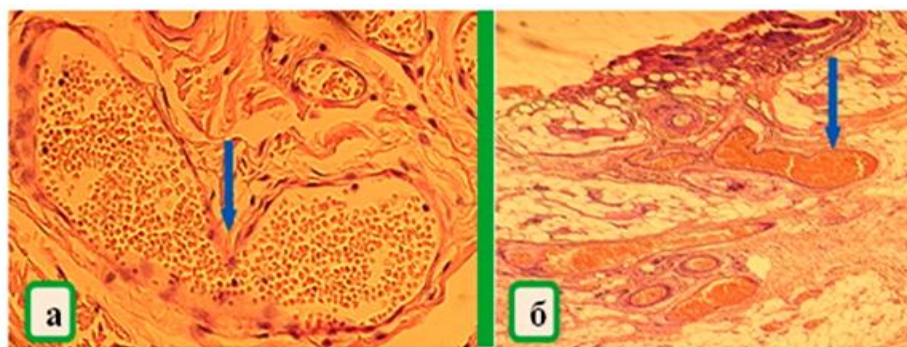


Рис. 1. Изменение морфологии кровеносных сосудов кожи при меланоме; сужение просвета – стрелка (а); ампулообразное расширение просвета сосуда – стрелка (б). Гематоксилин-эозин. Микрофото. Биоскан. Ув.: а х400; б х280

Лимфоцитарный инфильтрат в области меланомы, мы условно подразделили на 3 типа: 1) сливной инфильтрат площадью до 250–367 мкм²; 2) рассеянный инфильтрат, расстояния между отдельными клетками в среднем составляет 37–93 мкм; 3) очаговый инфильтрат, чаще наблюдается вокруг кровеносных сосудов разных калибров. В табл. 1 представлен клеточный состав инфильтрата кожи при меланоме. Клеточная плотность инфильтрата вокруг развивающейся меланомы на 10,4 % ($P < 0,05$) выше по отношению к круп-

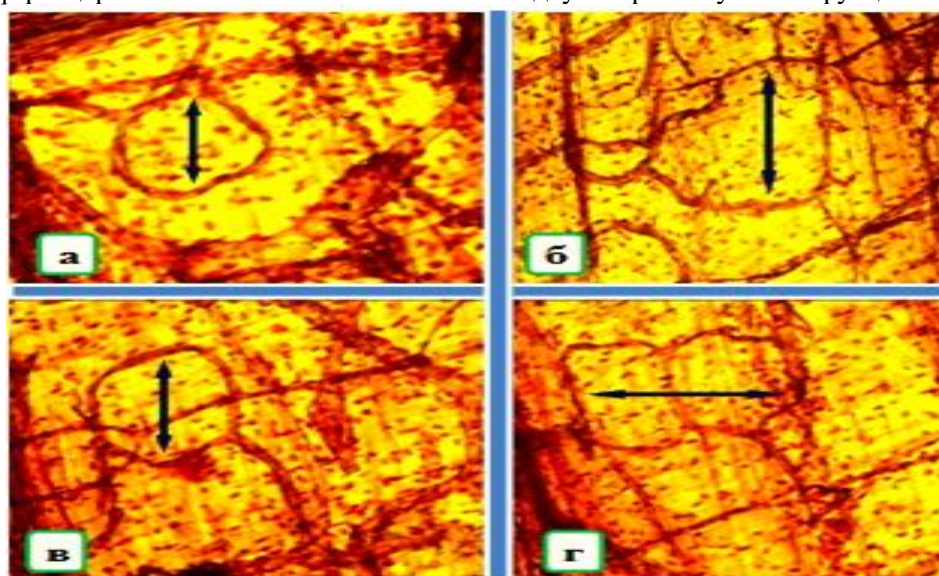
ной опухоли и на 18,2 % ($P<0,05$) меньше в сравнении с узловой меланомой. Содержание лимфоцитов колеблется от 21,84 % до 27,29 для трех групп меланом. Установлен более высокий процент содержания в инфильтрате лейкоцитов у крупной меланомы, что достоверно выше по отношению к развивающейся меланоме на 56,0 ($P<0,01$) и узловой меланомы – на 42,5 % ($P<0,01$).

Таблица 1. Состав клеточного инфильтрата в коже при меланоме

Клеточный состав	Развивающаяся меланома	Крупная меланома	Узловая меланома
Клеточная плотность инфильтрата на 1 мм ²	1968,35±154,32*	1782,34±105,27	2326,14± 156,82*
Лимфоциты, %	23,16±1,25	21,84±0,97	27,29±1,34*
Макрофаги тканевые, %	11,33±0,73	14,17±0,54	9,25±0,38
Фибробласты, %	27,83±0,23	24,18±0,28	28,27±0,31
Лейкоциты, %	4,73 ±0,12	7,38 ±0,26**	5,18 ±0,13

* $P<0,05$; ** $P<0,01$.

Возрастание количества макрофагов мы связываем с тем, что клетки играют немаловажную роль в ангиогенезе и способны влиять на ангиогенез тремя путями: 1) активировать ангиогенез; 2) модифицировать экстрацеллюлярный матрикс в результате секреции металлопротеиназ; 3) супрессировать ангиогенез. Впервые нами обнаружены особенные конструкции микроциркуляторного русла в меланоме. В сосудистом звене формируются разнообразные по форме и размерам кольцевидные (петлевидные) образования (рис. 2). Петлевидные сосуды, по мере развития обменного звена, постепенно специализируются в средствах доставки и отведения крови от опухоли. Возникшая хаотичная капиллярная сеть в процессе онкологического ремоделирования и дифференцировки не способна восстановить исходную нормальную конструкцию сосудов.



а – петля в виде «капли»; б – продолговато-овальная петля с изгибом стенки сосуда;

в – петля наподобие «теннисной ракетки»; г – сдвоенные две петли с отходящим одним сосудом.

Рис. 2. Петлеобразные (кольцеобразные) структуры в микроциркуляторном русле кожи при меланоме.

Импрегнация азотнокислым серебром по Бильшовскому-Грос. Микрофото. Olympus IX71. Ув.: а, б, в, г x280

При гематологическом исследовании была установлена повышенная фагоцитарная активность моноцитов периферической крови. Появление в крови моноцитов с сильной степенью активности кислой фосфатазы, в свою очередь, характеризуются высокой цитолитической и миграционной способностью и, по нашему мнению, направлено на интенсивное пополнение пула тканевых макрофагов. Цитохимическую реакцию для выявления фермента кислой фосфатазы (КФ 3.1.3.2) в периферической крови собак проводили по методу A. F. Golgberg et al. [1962], оценку результатов цитохимических реакций в мононуклеарных фагоцитах – по методу L. S. Kaplov [1955]. Количество клеток, не проявляющих цитохимическую активность, составляло 22,19 %, с низкой степенью активностью – 65,28 %, со средней степенью активностью – 10,24 % и высокой степенью активностью – 2,29 %.

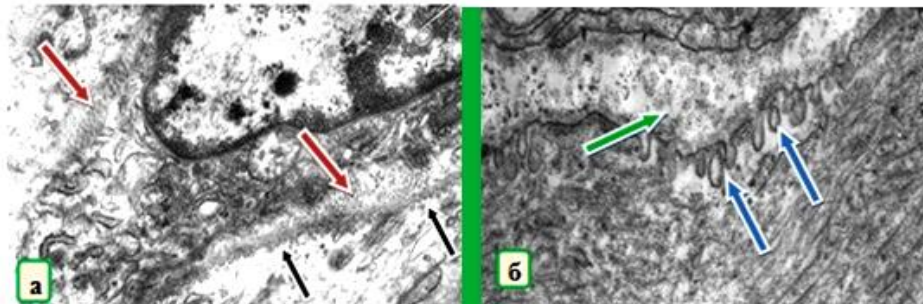
При онкологическом процессе нами обнаружен интенсивный гистогенез соединительной ткани, который обусловлено пролиферацией фибробластов и активной синтетической функцией клеток. По данным электронной микроскопии, среди популяции фибробластов обнаруживались клетки с расширенными профилями цистерн гранулярной эндоплазматической сети, повышенной плотностью расположения рибосом на их внутренней мембране.

С функциональной точки зрения фибробласты синтезируют углеводно-белковых компонентов основного вещества (протеогликанов, гликопротеинов), образование коллагеновых, ретикулярных и эластических волокон. За счет фибробластов осуществляется регуляция метаболизма и структурной

стабильности клеточных компонентов в слоях кожи. Таким образом, фибробласты формируют структуру организацию соединительной ткани при меланоме кожи у собак.

При электронно-микроскопическом исследовании установлено, что в 56 % случаев встречаются фибробласты с гипертрофированным синтетическим аппаратом белка и хорошо развитым аппаратом Гольджи. Аппарат Гольджи сформирована спазмированными цистернами и гиперплазированными везикулярными элементами. Везикулы неравномерно заполнены гранулярным материалом различной электронной плотности. Описанные клетки, по нашему мнению, консолидируют в себе признаки фибробластов и фиброцитов. Наш анализ показал, что в условиях развития меланомы кожи данных клеток насчитывалось в пределах 45–57 %.

Об высокой синтетической активности фибробласта свидетельствует обилие секреторных везикул на границе с межклеточным веществом. Гирляды везикул локализируются вдоль цитолеммы фибробласта (рис. 3).



а – ультраструктура фибробласта с высокой синтетической активностью, вдоль цитолеммы секреторные везикулы (черные стрелки), видны поперечные срезы коллагеновых волокон (красные стрелки); б – активный секреторный процесс (синие стрелки) на границе интерстициального пространства (зеленая стрелка) и разрушенных коллагеновых волокон.

Рис. 3. Секреторные и формообразовательные процессы при меланоме кожи. Электронограммы. Ув.: а х20000, б х30000

В отличие от эпителиоцитов, фибробласты выделяет секрет не через строго определенную зону цитолеммы на свободную поверхность, по всей цитолемме. В конечном итоге фибробласты синтезируют три категории веществ, а именно, проколлаген, гликозаминогликаны и проэластин.

Заключение

Проведенный дифференцированный анализ показал, что микроциркуляторное русло кожи собак зависит от топографического положения сосудов по отношению к опухоли. Сосуды, имеющие близкий контакт с меланомой, обладают более высокой функциональной потенцией. Микрососуды в меланоме являются нестабильными, «незрелыми», не образуют сформированной базальной мембраны, перicyтов и межэндотелиальные поры значительно увеличены. В отличие от нормального микроциркуляторного русла опухолевые сосуды не формируют венул, артериол и капилляров, а образуют хаотичную сеть из сосудов всех типов одновременно.

При сравнительном анализе лимфоцитарного инфильтрата выделено три типа: сливной, рассеянный и очаговый инфильтрат. Структурно-функциональные изменения в меланоцитах кожи являются одной из причин нарушений межклеточных коммуникаций при опухолевом росте. Структурные изменения затрагивают все клеточные компоненты: ядро, кариолемму, цитоплазматическую мембрану, межклеточные соединения, цитоскелет, митохондрии, лизосомы, аппарат Гольджи и др. структуры.

В динамике разрушения коллагена выделено при меланоме кожи два процесса: первый процесс – детрит, который образуется при распаде коллагена и разрушенных клеток фагоцитируются макрофагами; второй процесс – сформированные коллагеновые волокна de novo влияют на цитолемму фибробластов. В результате этого процесса замедляется биосинтеза коллагена и усиливается фиброплазия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Роль и механизмы эпителиально-мезенхимального перехода в прогрессировании меланомы / С. В. Чулкова [и др.] // Рос. биотерапевт. журнал. – 2020. – Т. 19, № 4. – С. 8–17.
2. Роль стволовых опухолевых клеток в канцерогенезе и прогнозе меланомы / С. В. Чулкова [и др.] // Вестник Рос. науч. центра рентгенодиагностики. – 2018. – Т. 18, № 4. – С. 100–106.
3. Banerjee, S. S. Morphological and immunophenotypic variations in malignant melanoma / S. S. Banerjee, M. Harris // Histology. – 2000. – Vol. 36, № 5. – P. 387–402. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2559.2000.00894.x>.
4. BRAF and epithelial-mesenchymal transition in primary cutaneous melanoma: a role for SNAIL and E-cadherin? / B. Mitchell [et al.] // Hum. Pathol. – 2016. Vol. 52. – P. 19–27. DOI: 10.1016/j.humpath.2015.12.030.
5. Circulating MicroRNA biomarkers in melanoma: tools and challenges in personalized medicine / S. L. Mumford [et al.] // Biomolecules. – 2018. – Vol. 8, N 2. – P. 21. doi:10.3390/biom8020021.
6. Different subsets of tumor infiltrating lymphocytes correlate with NPC progression in different ways / Y. L. Zhang [et al.] // Mol. Cancer. – 2010. – Vol. 9. – P. 4–11. doi:10.1186/1476-4598-9-4.
7. Hadrup, S. R. Effector CD4 and CD8 T cells and their role in tumor microenvironment / S. R. Hadrup, D. Marco, P. Straten // Cancer Microenviron. – 2013. – Vol. 6, № 2. – P. 123–133. doi:10.1007/s12307-012-0127-6.
8. Intratumoral FOXP3+VEGFR2+ regulation T cells are predictive markers for recurrence and survival in patients with colorectal cancer / H. Suzuki [et al.] // Clin. Immunol. – 2013. – Vol. 146, N 1. – P. 26–33. doi:10.1007/s00262-009-0781-9.
9. Molecular pathways mediating liver metastasis in patients with uveal melanoma / S. Bakalian [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2008. – Vol. 15, N 14. – P. 956–966.