

## MORFOLOGIA TUMORILOR

### STAREA REACȚIEI STROMALE ȘI ANGIOGENEZA ÎN CARCINOMUL DE DIFERITĂ LOCALIZARE

**Iraida Iacovlev – dr. hab., prof. univ., Nina Bogdanscaia – dr. hab., conf. cercet.,  
Natalia Doicov – dr., Inga Chemencedji,  
Laboratorul științific Morfologia tumorilor, IMSP Institutul Oncologic, Moldova  
e-mail: [n.doikova@mail.ru](mailto:n.doikova@mail.ru), t.069837037**

#### Rezumat

Cu ajutorul metodelor histochemice și imunohistochemice (CD34, SD31) de investigare, a fost realizat studiul stromei carcinomului de diverse localizări: carcinomului de col uterin, inclusiv în procesele precanceroase (CINI, II, III), carcinomului mamar, carcinomului vezicii urinare, a stomacului, colonului și pielii. Reacția stromei în procesul de creștere a tumorii apare deja la etapa așa-numitelor procese precanceroase, la displazie și crește pe măsura sporirii gradului de displazie, trecând în carcinomul intraepithelial, apoi și în carcinomul invaziv. Reacția stromei are loc în toate cazurile de apariție a tumorii. Reacția stromei afectează toate elementele acesteia atât a celulelor, cât și a structurilor fibroase. Pentru precizarea prognosticului, este necesar să se ia în considerare schimbările stromale în tumoare.

**Cuvinte-cheie:** carcinom, stroma, angiogeneză, imunohistochimie.

#### Summary. Status stromal reaction and angiogenesis in carcinomas of different localization

Stroma of carcinomas of different locations: carcinoma of cervix, including precancerous processes (CIN I, II, III), breast, bladder, stomach and large intestine, skin, was studied using histochemical and immunohistochemical (CD34, SD31, SD2-40) research methods. The reaction of the stroma during growth of tumor occurs in the step of the so-called precancerous processes with dysplasia and increases with the degree of dysplasia, the transition to intraepithelial and then to invasive carcinoma. Reaction of stroma occurs in all cases of the tumor. Reaction of stroma affects all its elements: cells and fibrous structures. Have to take into account stromal changes in the tumors to determine the prognosis.

**Key words:** carcinoma, stroma, angiogenesis, immunohistochemistry

#### Резюме. Состояние стромальной реакции и ангиогенез при раках разной локализации

Проведено изучение стромы рака различных локализаций: рака шейки матки, включая предраковые процессы (CIN I,II,III), молочной железы, мочевого пузыря, желудка и толстого кишечника, кожи при помощи гистохимических и иммуногистохимических (CD34, CD31) методов исследования. Реакция стромы при опухолевом росте возникает уже на стадии так называемых предраковых процессов, при дисплазии и нарастает по мере увеличения степени дисплазии, перехода в интраэпителиальный, а затем и в инвазивный рак. Реакция стромы происходит во всех случаях возникновения опухоли. Реакция стромы касается всех ее элементов как клеток, так и волокнистых структур. Необходимо учитывать стромальные изменения в опухоли для определения прогноза.

**Ключевые слова:** рак, стroma, ангиогенез, иммуногистохимия

#### Introducere

În procesul de studiere a morfologiei cancerului, accent se pune pe țesutul tumoral, parenchima tumorală, structura sa, gradul de diferențiere a celulelor tumorale, tipul de creștere etc. Însă mai puțin studiată este stroma tumorală cu structurile ei celulare și fibroase. Doar în ultimii ani, datorită studiilor privitor la angiogeneza tumorală, se acordă mai multă atenție structurii stromei și rolului său în progresia tumorii și metastazării.

#### Scopul proiectului

Studierea stromei carcinomului în diverse locali-

zări: carcinom de col uterin, inclusiv a proceselor precanceroase (CIN I, II, III), mamar, a vezicii urinare, gastric, colonului și de piele.

#### Material și metode

Materialul de studiu a fost secționat din centrul tumorii și zonele periferice, precum și din zonele invaziei la hotar cu țesuturile sănătoase. Secțiunile au fost colorate cu hematoxilină-eozină, albastru de toluidină după Hess și Holender, după Hale, albastru alcian după Stidmen, periodic acid – Schiff (PAS) – după McManus, picrofucsină van Gieson, metoda Mallory, fucsină acidă Vergeff (colorație tricromică

Masson), orceină după Unna-Gentser. A fost efectuată reacția imunohistochimică cu anticorpi monoclonali CD34, CD31, CD68.

### Rezultate

Cercetarea relației epitelial-stromale în cancerul cu diferită localizare a arătat că, stroma nu rămânea intactă, ci era supusă unor schimbări atât la nivel de celule cât și la nivel de structuri fibroase. Gradul de manifestare a acestor modificări structurale nu sunt identice, ci depind în mare parte, de structura organului în care s-a dezvoltat tumora, gradul de diferențiere și invazia acesteia [4,7].

Schimbările stromale s-au caracterizat prin infiltrare limfoidă cu diferite grade de severitate, prezența elementelor celulare histiocitare și macrofage, uneori cu urme de mastocite plasmatică. În caz de inflamație erau prezente și leucocite polimorfonucleare, mai ales în organele cavitare, în caz de necroză și ulceratii (intestin, vezica urinară, col uterin).

Printre limfocitele din infiltrat predominau limfocitele-T CD8-pozitive, densitatea cărora este foarte mare în comparație cu limfocitele-B, numeroase celule prismatice, uneori acestea constituiau până la  $\frac{1}{4}$  -  $\frac{1}{2}$  din toate elementele celulare din infiltrat. Histiocitele CD68-pozitive în stroma tumorii au fost mai numeroase decât în afara focarelor de malignizare.

Paralel cu infiltrarea limfoidă marcată, în aceste focare s-au observat modificări distructive în toate structurile fibroase: de colagen, fibrele reticulare și elastice. Adesea se atesta o descompunere a fibrelor. În același timp erau observate focare de formare a stromei, cu acumularea de glicozaminoglicani acizi și apariția unui număr mare de celule mastocitare. În focarele de infiltrare limfoidă, prin metode imunohistochimice (CD34, CD31) s-a relevat o anumită cantitate de vase sanguine nou-formate, de tip capilar. Acestea din urmă aveau lumen îngust, uneori lărgit, de tip sinusoidal. Densitatea vaselor-CD34 pozitive a fost mai pronunțată la periferia țesutului tumoral, în zonele de creștere invazivă, decât în centrul tumorii. Cu toate acestea, densitatea vasculară depindea și de stroma tumorilor. Astfel, în piele, vezica urinară, în caz de creștere mai compactă a cancerului și numărului vaselor sanguine, densitatea este mai puțin pronunțată decât în cazul dispunerii libere a focarelor tumorale printre elementele stromale.

Mulți autori atribuie aceste modificări stromale unui proces inflamator, dar nu am observat infiltrare leucocitară, care de obicei însoțește un proces inflamator. Infiltratul apărea în tumoră numai în caz de necroză, ulceratii, infecție secundară, adesea remarcată în caz de carcinom de intestin, stomac și alte organe. În aceste cazuri, într-adevăr, ulcerul a fost acoperit cu mase necrotice și infiltrate de leucocite polimorfonu-

cleare, care, împreună cu limfocitele și histiocitele, se răspândeau în țesuturile tumorale adiacente. Ar fi mai corect de atribuit modificările stromale neoplazice, unor procese imunologice reactive. Odată cu creșterea tumorii, în stromă au loc procese foarte diverse și complexe. Pe de o parte, apariția celulelor imuno-competente în stroma tumorală este un semn de prognostic favorabil. Limfocitele-T activează macrofagii și limfocitele-B, care la rândul lor produc anticorpi, provocând fagocitoza celulelor tumorale. Pe de altă parte, celulele imuno-competente pot cauza toleranța imună la tumori, ce promovează creșterea și metastazarea, prin stimularea angiogenezei și invazia lor în matricea extracelulară [1,8].

Este cunoscut faptul că celulele țesutului conjunctiv produc o varietate de factori de creștere, care stimulează proliferarea celulelor de origine mezenchimală, facilitând eliberarea de enzime proteolitice, ceea ce duce la degradarea matricei extracelulare. Procesele care au loc în stroma tumorilor sunt destul de controversate. Se poate face o analogie între lupta dintre bine și rău, moartea și renașterea elementelor tumorale sub influența mediului interstițial, cu participarea nemijlocită a celulelor tumorale.

Astfel, matrix extracelular este nu numai o carcasă pentru tumori, dar totodată poate regla comportamentul celulelor tumorale, afecta micromediul tumorii, promova invazia tumorală, migrarea și angiogeneza [6]. Conform unui studiu realizat de Salo T. și coaut., (2014), micromediul tumorii este în permanentă corelație cu celulele canceroase, conține celule ale sistemului imun, fibroblaști, vase sanguine, celule vasculare [1].

Faptul că modificările stromei tumorale reprezintă o reacție de răspuns și, în primul rând, reacție imunologică de protecție, și nu doar inflamație, se urmărește simplu prin exemplul stadiilor succesive de dezvoltare a stării precanceroase în colul uterin, de la CIN I la CIN III, cancer „in situ”, până la microinvazie [3, 5].

În caz de CIN I al epitelului stratificat scuamos al colului uterin, țesutul conjunctiv subepitelial diferă de zonele în care nu existau semne de displazie ușoară, unde epitelul de suprafață avea o histologie normală, obișnuită.

Începând cu focarele CIN II, și în special displazia de grad înalt (CIN III), s-a observat o reacție locală a țesutului conjunctiv subepitelial, care rezultă din structurile celule, cât și cele non-celulare. Reacția emergentă sub epitelul scuamos stratificat cu displazie, era exprimată în primul rând prin infiltrare limfoidă, cu un amestec de celule plasmatică și mastocite. Severitatea acestui infiltrat creștea proporțional cu gradul de displazie (exprimată-moderată). Infiltrarea

era mai pronunțată în caz de carcinom ”in situ” și trecere la carcinom invaziv (microinvazie). Întreaga regiune intraepitelială și, mai ales în focarul de invazie, denotă un infiltrat limfoid foarte gros și dens, cu adaos de histiocite și celule plasmatiche. În unele cazuri, în aceste focare se formează foliculi limfoizi. Alături de elementele celulare indicate, se atestă distrugerea progresivă a structurilor fibroase, ce duce la descompunerea lor. În paralel, apar vase de sânge noi, numărul cărora crește concomitent cu infiltrarea limfoidă. Vasele au pereții subțiri, cu lumen îngust, uneori de tip sinusoidal. În regiunea infiltratului, în special la periferie, la hotar cu derma intactă și țesutul subcutanat, are loc formarea de fibre și acumularea de mucozaminoglicani acizi.

Cu toate acestea, dacă în regiunea infiltratelor celulare are loc moartea structurilor fibroase, atunci la hotarele cu țesutul sănătos se atestă concentrarea lor, care rulează în paralel cu proliferarea activă a celulelor din seria fibroblastică, ce derivă țesut conjunctiv tânăr. Despre activarea fibroblastelor vorbesc acumulările de nucleoproteide.

### Concluzie

Corelațiile epitelio-stromale în cazul creșterii tumorale sunt extrem de complexe și este dificilă evaluarea rolului modificărilor stromale în procesul de dezvoltare și progresie tumorală. Reacția stromei în cazul creșterii tumorale apare la momentul așa-numitor procese precanceroase, cu displazie și crește paralel cu gradul de displazie, cu trecerea la cancer intraepitelial și apoi la cancer invaziv. Reacția stromei are loc în toate cazurile de tumoare și se referă la toate elementele stromale, atât celulare, cât și fibroase. Se creează un anumit mediu, în care persistă, în primul rând, infiltrate de celule limfoide de diferită gravitate, cu un adaos de histiocite, celule plasmatiche și mastocite. Apariția celulelor imunocompetente modifică microstructura, promovează invazia tumorii și angiogeneza. Proliferarea diferitor celule din infiltrat și celulelor tumorale, care produc diferiți factori de creștere, duce la degradarea și formarea lor din nou. Gravitatea activității stromale depinde de mulți fac-

tori: structura organului în care a apărut tumora, gradul de diferențiere a tumorii, prevalența ei etc.

Oricare ar fi evaluarea modificărilor stromale în procesul de creștere a tumorii, procesul tumoral nu poate fi studiat ignorând stroma, pentru a stabili un prognostic trebuie să se ia în considerație modificările stromale ale tumorii.

### Bibliografie

1. Salo T., Vered M., Bello I.O., Nyberg P., Bitu C., Zlotogorski Hurvitz A., Dayan D. Insights into the role of components of the tumor microenvironment in oral carcinoma call for new therapeutic approaches. *Exp Cell Res.* 2014 Jul 15;325(2):58-64.
2. Шендерова Т.С. Состояние эпителия и соединительной ткани шейки матки при возникновении и развитии рака. Реферат диссертации. Кишинев, 1974, p.1-16.
3. Шаптефраць А.А., Черный А.П., Яковлева И.А. Особенности стромальных капилляров в процессе прогрессии рака шейки матки. IV Съезд онкологов и радиологов СНГ 28 сентября-октября Баку 2006, с. 69.
4. Cernîi A., Iacovlev I., Bogdanscaia N., Doicov N., Chemencedji I., Caraman I., Şaptefraţi L. Tranziția epiteliu-mezenhimala în carcinoame: date proprii și din literatura. *Buletinul societății științifico-practice a oncologilor din R.Moldova*, 1/1, p. 51-55.
5. Яковлева И., Кеменчеджи И., Дойков Н., Богданская Н. Иммуногистохимическое исследование маркеров эндотелия капилляров при неоплазиях шейки матки *Евроазиатский онкологический журнал* №3(03)2014 том 2, Тезисы VIII съезда онкологов и радиологов СНГ и Евразии, 16-18 сентября, 2014, с.13.
6. Fang M<sup>1</sup>., Yuan J., Peng C., Li Y. Collagen as a double-edged sword in tumor progression. *Tumour Biol.* 2014 Apr; 35(4):2871-82.
7. Должиков А.А. Чурносов М.И. Быков П.М. Ангиогенез в раке молочной железы: клинико-морфологические и прогностические аспекты. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»* Выпуск № 4 / 2010, с. 148-155.
8. Chanmee T., Ontong P., Konno K., Itano N. Tumor-associated macrophages as major players in the tumor microenvironment. *Cancers (Basel)*. 2014 Aug 13;6(3):1670-90.