

*Спринджук М.В.1,2 Кончиц А.П. 1, Ковалев В.А. 1, Богуш А.Л. 1, Гайко В.А. 1,
Дащинская Н.И.*

Ангиогенез в щитовидной железе
Национальная Академия Наук Беларуси

Объединенный Институт Проблем Информатики

*1Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук
Беларуси*

Краткий обзор современной литературы

В статье обсуждаются вопросы, касающиеся кровоснабжения щитовидной железы на микроскопическом уровне. Рассматривается значение ангиогенеза как ведущего механизма канцерогенеза опухолей щитовидной железы. Сообщается обобщенный опыт исследования процессов ангиогенеза в тканях щитовидной железы, в частности, взаимосвязь плотности микрососудов гистологического препарата тканей железы и экспрессии фактора роста эндотелия сосудов и различных аспектов поведения опухоли.

Ключевые слова: ангиогенез, рак щитовидной железы, плотность микрососудов, фактор роста эндотелия сосудов, карцинома, зоб, image analysis, image processing

Введение: проблема рака щитовидной железы и ангиогенез

Цель статьи – это предоставление читателю возможности получить научную информацию об ангиогенезе в щитовидной железе (ЩЖ) прежде всего с позиции анализа изображений гистологического препарата опухолевой ткани

Рак щитовидной железы составляет менее 1% всех раковых заболеваний человека, но является наиболее распространенным новообразованием желез внутренней секреции. Частота рака ЩЖ составляет 0,5-10/100 000 [17]. Чаще всего встречается папиллярный рак ЩЖ – 80% всех раков этого органа. В 2007 году в США было диагностировано 33 550 случаев рака ЩЖ. Абсолютное число смертей по причине этого заболевания составило 1530 [19].

Рак ЩЖ в два-четыре раза чаще встречается у женщин, чем у мужчин. Факторами риска развития карциномы щитовидной железы являются воздействие ионизирующей радиации, гормональные факторы и отягощенная наследственность.

Различные гистологические типы рака ЩЖ имеют отличительные характерные клинические свойства. Более чем 90% опухолей ЩЖ - это хорошо дифференцированные карциномы, среди которых фолликулярный рак ЩЖ и папиллярный рак ЩЖ. Для двух этих типов рака ЩЖ, лечение может оказаться эффективным, и прогноз часто благоприятен для пациентов, выявленных на ранней стадии болезни. Напротив, анапластический рак ЩЖ это крайне агрессивное заболевание, плохо отвечающее на терапевтические мероприятия, и ассоциируемое с негативным прогнозом (14% 10-летней выживаемостью) [19].

Фолликулярная тиреоидная карцинома стремится распространиться через кровеносное русло, тогда как распространение папиллярных опухолей ЩЖ происходит посредством лимфатической системы (Hsiao и соавт., 2007) [17].

Согласно данным национальной базы данных рака США, для 56 856 пролеченных пациентов, страдающих карциномой ЩЖ, показатель общей относительной 10-летней выживаемости составил 93%, 85%, 76%, и 75% при папиллярном раке, фолликулярном раке, опухоли клеток Hurthle и медуллярном раке соответственно [19].

Зачем изучать А. при раке ЩЖ? Ответом на этот вопрос является относительная безуспешность современных лекарственных средств как для лечения рака ЩЖ, так и огромного количества заболеваний, при которых А. приписывают ключевое патогенетическое значение. А. – это один из многих механизмов васкулогенеза, при котором новые капилляры образуются из уже развившихся, формируя кровоснабжение опухолевых образований. Чтобы доказать на первый взгляд очевидную идею о критическом значении кровоснабжения и А. при канцерогенезе, потребовалось провести сотни экспериментов в течение 40 лет. Эти исследования позволили выявить новые точки приложения медикаментов, некоторые из них нашли свое применения в клинической практике.

ЩЖ - это подходящий орган для изучения и понимания процессов А. по причине того, что образование и развитие зоба связано с разрастанием фолликулярных и эндотелиальных клеток. Эти процессы регулируются цитокинами, освобождаемыми из фолликулярных клеток в ответ на низкую концентрацию трийодтиронина, и высокую - тиреоид-стимулирующего гормона (ТСТ) [14, 15, 18, 20].

Исследования А. в ЩЖ проводились еще 30 лет назад. Так, Wollman и соавт. в 1978 году выполнили эксперимент, сущность которого состояла в индукции зоба у крыс с помощью назначения животным тироурацила и диеты с низким содержанием йода. Опыт показал, что уже через три дня после такого лечения наблюдается увеличение числа капилляров в тканях ЩЖ, а через 20 дней - они почти полностью окружают фолликул сплошной оболочкой [20].

Вопросам, касающимся общих аспектов А., в частности, его стимуляции и подавления, посвящено огромное количество статей и книжных глав, поэтому в нашей статье этот вопрос не обсуждается. Наверное, наиболее яркие источники литературы это книги и статьи J. Folkman [10-13], N. Ferrara [7-9], Ribatti D. [21], P. Carmeliet [1-4].

Литературных источников, в которых упоминается А. в тканях ЩЖ совсем немного: по данным библиотеки Национального Института США (www.pubmed.gov) – релевантных 37 статей. Все эти источники упоминаются в обзорах литературы зарубежных авторов, только наиболее яркие из них послужили материалом для нашей статьи.

В крупнейших монографиях по А. эти вопросы рассматриваются весьма поверхностно [7, 14, 16, 18, 21]. В русской литературе, по нашим сведениям, А. в ЩЖ как научная тема не сообщался.

Фактор роста эндотелия сосудов и щитовидная железа

Имеются фактические доказательства того, что клеточные линии рака ЩЖ секретируют больше ФРЭС (фактора роста эндотелия сосудов, vascular endothelial growth factor = VEGF), чем нормальные тиреоциты, при этом ТСГ увеличивает секрецию ФРЭС, что обнаруживается тестом ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay – иммуноферментный твердофазный анализ). Определено, что ФРЭС секретируется фолликулярными клетками ЩЖ, вероятно, в ответ на ТСГ, который является одним из активирующих сигналов. Этот цитокин реализует свое влияние на эндотелиоциты внутри ЩЖ посредством рецепторов ФРЭС-1 и -2. На клетках фолликулов ЩЖ рецепторы ФРЭС не определены. Однако, Wang и соавт., 1998, обнаружили мРНК ФРЭС-1 в клетках ЩЖ крыс породы Фишера с помощью ПЦР (полимеразной цепной реакции) (Ramsden, 2000)[20].

В контраст процессам А., молекулярные механизмы регуляции роста и функции лимфатических сосудов малоизученны и непонятны. Общеизвестным является то, что ФРЭС-С является ключевым регулятором ангиогенеза, однако это далеко не единственный фактор роста лимфатической капиллярной сети [5, 6].

Исследование микропрепаратов тканей опухолей

Turner и соавт. (2003) систематизировали исследования плотности микрососудов и экспрессии ФРЭС в тканях ЩЖ при различных заболеваниях органа (см. таб. 1, 2) [23]. Ниже в логическом (не в хронологическом) порядке приводится описание исследований, которые не упоминались этой научной группой, и, более подробно, два эксперимента, которые вошли в таблицу этих авторов. Wong и соавт. (1999) на основе исследования, в котором проводилось изучение гистологических препаратов 15 фолликулярных карцином и 15 аденом ЩЖ с окраской CD34 пришли к выводу, что на основе сравнения площади поверхности сосудов различить этих два типа опухолей не представляется возможным. Khumar Dhar соавт. (1998, см. таб. 1) оценил А. по результатам исследования 71 дифференцированной карциномы ЩЖ. Учёные обследовали 16 пациентов с фолликулярной карциномой, 2 случая папиллярной карциномы (фолликулярный вариант) и 53 случая папиллярной карциномы. Интенсивность А. оценивалась реакцией с анти-CD34 антителами. Распространенность и интенсивность реакции оценивалась полуколичественным подходом, применяя для каждой переменной установленные значения от 0 до 3. Полученные результаты позволили различить два типа новообразований ЩЖ: гиповаскулярные и гипervasкулярные. Последняя группа включала крупные по размерам опухоли (более 3 см в диаметре) с инфильтрацией, выходящей за пределы ЩЖ. Тем не менее, кровоснабжение опухолей в ракурсе его отношения к гистологическому типу в этом исследовании не анализировалось.

Scarpino и соавт. (2003) исследовали ангиогенез на препаратах 31 папиллярной карциномы. Проводился мониторинг экспрессии фактора вон Виллебранда. Исследователи обнаружили в три раза большую плотность микрососудов плотно прилегающей к карциноме неопухолевого ткани ЩЖ. Учёные выделили отдельный тип кровоснабжения папиллярной карциномы. Его

паттерн представляет собой комплексы сосудов, напоминающие гломерулоиды в строме соединительной ткани папиллярного рака ЩЖ. Авторы предложили гипотезу о том, что в папиллярных карциномах ЩЖ, кровоснабжение опухоли первоначально активируется распространенными сосудистыми пустотами с мышечными волокнами, расположенными в фиброзной ткани вокруг опухоли.

К похожим выводам пришли Akslen и соавт. (2000, см. таб. 1), которые обследовали 128 пациентов, страдающих папиллярной карциномой ЩЖ. Выводом учёных явился тот факт, что А., оценка которого выполнялась на основе измерения интенсивности экспрессии фактора VIII и посредством вычисления площади цветовой реакции, был в три раза активнее в тканях папиллярной карциномы по сравнению с окружающими тканями, непораженными опухолью. Они также обнаружили обратную корреляцию между интенсивностью А. с одной стороны, и возрастом пациента, размером опухоли, гистологической стадией патологического очага и прогрессией новообразования с другой. Согласно выводам этой научно-исследовательской группы, развитый А. ассоциировался с лучшим прогнозом заболевания. Lewy-Trenda & Wierzchniewska-Lawska (2002) исследовали экспрессию ФРЭС на примере 69 микропрепаратов различных, в том числе опухолевых заболеваний ЩЖ. Положительная иммуноцитохимическая реакция наблюдалась только в небольшой группе микропрепаратов. Полуколичественно определялась интенсивность цветовой реакции, а также её тип: диффузный или местный. Авторы обнаружили низкую интенсивность реакции в небольших по площади областях узловых патологических образований (аденоме, узловом зобе) и значительную экспрессию в злокачественных опухолях ЩЖ, однако, кроме случаев медуллярной карциномы [22].

Rzeszutko и соавт. (2004), в статье, в которой упоминались обсуждаемые выше в тексте исследования А. ЩЖ, провели вычисление числа микрососудов и площади поверхности сосудов на препаратах узлового зоба (n=10), фолликулярной аденомы (n=8), фолликулярной карциномы (n=9), папиллярной карциномы (n=23), медуллярной карциномы (n=4). На гистологических срезах определялась экспрессия антигена CD34. Наблюдалось относительное увеличение числа сосудов в доброкачественных очагах патологии. Среди злокачественных заболеваний, наибольшее число сосудов отмечалось в тканях папиллярной карциномы. Так как папиллярные карциномы весьма неоднородны по степени клеточного дифференцирования, этот аспект препятствует получению достоверных выводов в исследованиях А. В исследовании Rzeszutko и соавт. объектами микроскопического исследования были высокодифференцированные папиллярные карциномы, в тканях которых, в отличие от менее дифференцируемых опухолей, наблюдаются многочисленные папиллярные вкрапления, содержащие сероповидные участки с большим количеством сосудов в составе своей структуры. Данные этого исследования, позволили учёным сделать интересный вывод: А. в доброкачественных гипертрофических патологических очагах выражается в образовании многочисленных сосудов малого диаметра, тогда как для А., развивающегося в злокачественных опухолях ЩЖ, характерно доминирование более крупных по диаметру сосудов, которых обнаруживается значительно меньше, чем при неинвазивных неопухолевых заболеваниях ЩЖ [22].

Заключение и выводы

Ангиогенез в тканях щитовидной железы – область науки, которая нуждается в проведении ряда экспериментальных исследований, направленных на выяснение роли в канцерогенезе клеточного микроокружения опухоли, в частности кровеносных и лимфатических сосудов, макрофагов, лимфоцитов, клеток соединительной ткани. По данным литературы, однозначно установлена корреляция между повышением уровня тиреоид-стимулирующего гормона и увеличением количества сосудов в щитовидной железе. Однако, большое количество сосудов не означает их полноценную функциональность. Этот факт подтверждается единичными сообщениями о наличии сравнительно крупных, но немногочисленных сосудов в тканях злокачественных опухолей щитовидной железы. Можно предположить, что более специфичная, чем площадь поверхности сосудов и их количество количественная и качественная характеристика таких объектов гистологического препарата как перициты, эндотелиоциты, макрофаги откроет новую ступень осознания ангиогенеза как ведущего элемента развития опухолевого процесса. Можно ожидать, что результаты таких экспериментов укажут на новые мишени воздействия лекарственных средств, что в свою очередь приведет к созданию новых терапевтических методов лечения ряда заболеваний.



Рис. 1. Упрощенная клиническая классификация рака ЩЖ [19].



Рис. 2. TSH-опосредованная сигнальная трансдукция, модулирующая секрецию VEGF (ФРЭС) (По Hoffman и соавт., 2004, с сокращениями) [15].

AC – adenylate cyclase – аденилат циклаза

Gs – guanine triphosphate-binding protein S – гуанин трифосфат-связывающий протеин G

Gq – guanine triphosphate-binding protein Q – гуанин трифосфат-связывающий протеин Q

PKA – protein kinase A – протеин киназа A

PKC – protein kinase C - протеин киназа C

PLC-beta – phospholipase C-beta – фосфолипаза C-бета

VEGF – vascular endothelial growth factor – фактор роста эндотелия сосудов (стрелка означает динамику его секреции)

TSH – thyroid – stimulating hormone – тиреоид-стимулирующий гормон

TSH - thyroid – stimulating hormone receptor – рецептор тиреоид-стимулирующего гормона

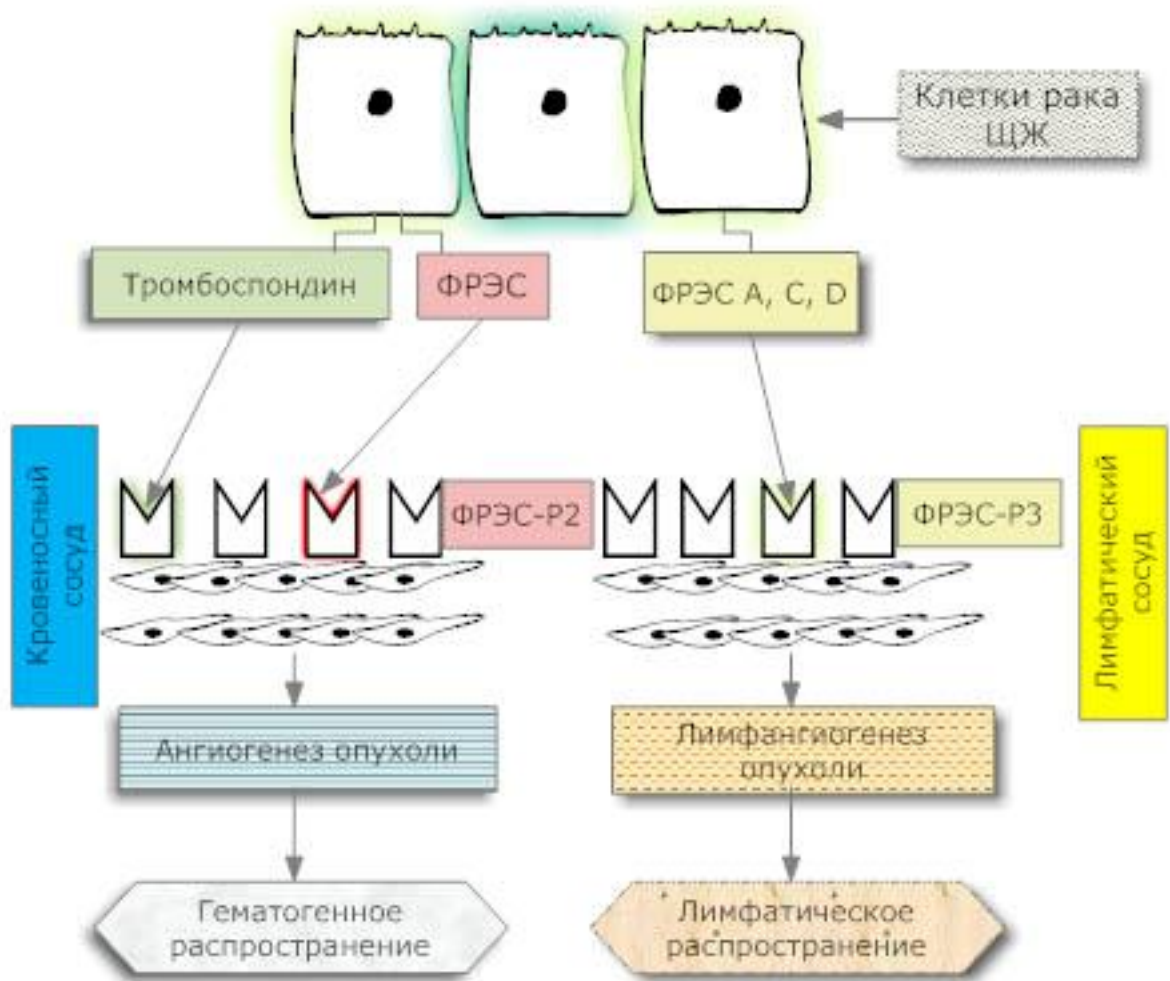


Рис. 3. Патогенез рака ЩЖ с позиции ангио- и лимфангиогенеза. Рисунок авторов по источникам [5, 23]. ФРЭС-Р – рецептор фактора роста эндотелия сосудов.

Таблица 1.

Плотность микрососудов опухолей (ПМС) ЩЖ и взаимосвязь с поведением опухоли [23].

	ПМС	Методика измерения
Злокачественные опухоли по сравнению с тканями нормальной железы	Более высокое значение ПМС в папиллярных карциномах (n=128) по сравнению с нормальной ЩЖ (n=71) (Akslen&Livolsi, 2000)	F8, число сосудов в областях их максимальной концентрации
	Более высокое значение ПМС в дифференцированных карциномах (n=38) по сравнению с нормальной окружающей тканью ЩЖ (n=71) (Goldenberg и соавт.1998)	CD34 число сосудов в областях их максимальной концентрации
Доброкачественные опухоли в сравнении со злокачественными	Более высокое значение ПМС в злокачественных фолликулярных опухолях (n=15) (Segal и соавт., 1996)	F8, число сосудов
Дифференцирование	Менее высокое значение ПМС в менее дифференцированных опухолях (n=75) по сравнению с фолликулярными и анапластическими карциномами (Hertman и соавт., 1994)	CD31, общее число сосудов

	Менее высокое значение ПМС в менее дифференцированных опухолях (Akslen&Livolsi, 2000)	F8, число сосудов в областях их максимальной концентрации
Прогноз	Более высокое значение ПМС ассоциировалось с повышенным риском рецидива и меньшим сроком выживания, без заболевания у пациентов с папиллярной карциномой (n=100) (Ishiwata и соавт., 1998)	F8, число сосудов в областях их максимальной концентрации
	Более высокое значение ПМС ассоциировалось с меньшим сроком выживания без рецидивов у пациентов с карциномой ЩЖ (n=71) (Dha и соавт., 1998)	CD34 число сосудов в областях их максимальной концентрации
	Не наблюдалось взаимосвязи между значением ПМС и рецидивами у пациентов, страдающих дифференцированным раком ЩЖ (Goldenberg и соавт. 1998)	CD34 число сосудов в областях их максимальной концентрации
	Более высокое значение ассоциировалось с лучшей выживаемостью (Goldenberg и соавт. 1998)	CD34 число сосудов в областях их максимальной концентрации
	Более высокое значение ПМС ассоциировалось с уменьшением срока выживаемости у больных медуллярной карциномой (n=52) (Akslen&Livolsi, 2000)	F8, число сосудов в областях их максимальной концентрации
	Не наблюдалось корреляции между ПМС и выживаемостью пациентов с папиллярной и фолликулярной карциномой (Fontanini и соавт., 1996) <i>ПМС – плотность микрососудов</i> <i>F8 – фактор коагуляции VIII</i>	CD34 число сосудов в областях их максимальной концентрации

Таблица 2.

Взаимосвязь между экспрессией VEGF и поведением опухоли ЩЖ [23].

Изучаемый аспект поведения опухоли ЦЖ	Взаимосвязь экспрессии VEGF и поведения опухоли
<i>Размер опухоли</i>	<p>Более крупные опухоли ассоциируются с повышенной экспрессией VEGF и VEGFR-1 в папиллярных и фолликулярных опухолях взрослых и детей (Vunope и соавт., 1999; Felmer и соавт., 1999)</p> <p>Подавление VEGF антисенсорным воздействием приводит к уменьшению размеров анапластических опухолей (Belletti и соавт., 1999)</p>
<i>Распространение</i>	<p>Не было выявлено различий между экспрессией мРНК VEGF в первичных и метастатических опухолях ЦЖ (Soh и соавт., 1997)</p> <p>Наблюдается более высокий уровень уровня белка VEGF в опухолях с метастазами по сравнению с неметастатическими (Klein и соавт., 1999)</p> <p>Повышение уровня VEGF-C ассоциировалось с лимфатическим распространением (Vunope и соавт., 1999)</p> <p>Повышение уровня VEGF-C в папиллярных карциномах по сравнению с фолликулярными опухолями ассоциировалось с распространением через лимфатическую систему (Felmer и соавт., 1999)</p>
<i>Рецидив</i>	<p>Меньший уровень экспрессии VEGF ассоциировался с отсутствием рецидивов у пациентов с папиллярной карциномой ЦЖ у детей (Felmer и соавт., 1999)</p>

Источники, содержащие полезную научную информацию и программное обеспечение:

<http://cancertrials.nci.nih.gov/news/angio/index.html>

<http://www.vlib.org>

<http://www.angio.org>

<http://www.angioworld.com>

<http://www.ibl.fr/angiogenese/angiogenese.shtml>

<http://www.med.unibs.it>

<http://www.angiogenese.de/>

<http://highwire.stanford.edu/>

<http://patentgenius.com/>

<http://ru-patent.info/>

<http://scirus.com/>

<http://scopus.com/>

<http://freemedicaljournals.com>

<http://pubmed.gov>

<http://googlescholar.com>

<http://lib.med.by/d.aspx>

<http://www.plos.org/index.php>

<http://search.nap.edu>

<http://www.bioone.org>

<http://www.biomedcentral.com/>

<http://www.mendeley.com/>

<http://www.brothersoft.com/>

<http://skyscape.com/>

<http://universal-share-downloader.en.malavida.com/>

<http://www.usbmis.com/store/home.php?cat=26>

<http://statpages.org/javasta2.html>

Ссылки по теме ангиогенеза заимствованы из статьи Philippe O. Van Trappen и Michael S. Pepper (The Lancet Oncology, Vol.3, January 2003)

Литература

1. Carmeliet, P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis / P. Carmeliet // Nature medicine. 2000. Vol. 6, № 4. P. 389–395.
2. Carmeliet, P. Angiogenesis in life, disease and medicine / P. Carmeliet // Nature. 2005. Vol. 438, № 7070. P. 932–936.
3. Carmeliet, P. Angiogenesis in health and disease / P. Carmeliet // Nature medicine. 2003. Vol. 9, № . P. 653–660.
4. Carmeliet, P. Angiogenesis in cancer and other diseases / P. Carmeliet, R. Jain // Nature. 2000. Vol. 407, № 6801. P. 249–257.
5. Cursiefen, C. VEGF-A stimulates lymphangiogenesis and hemangiogenesis in inflammatory neovascularization via macrophage recruitment / C. Cursiefen [et al.] // J Clin Invest. 2004. Vol. 113, № 7. P. 1040–1050.
6. de la Torre, N. G. Angiogenesis and lymphangiogenesis in thyroid proliferative lesions: relationship to type and tumour behaviour / N. G. de la Torre [et al.] // Endocr Relat Cancer. 2006. Vol. 13, № 3. P. 931–944.
7. Ferrara, N. Angiogenesis : from basic science to clinical applications / N. Ferrara. Boca Raton:CRC/Taylor & Francis, 2007, 287 p.
8. Ferrara, N. The Biology of Vascular Endothelial Growth Factor / N. Ferrara, T. Davis-Smyth // Endocr. Rev. 1997. Vol. 18, № 1. P. 4–25.
9. Ferrara, N. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer / N. Ferrara [et al.] // Nature Reviews Drug Discovery. 2004. Vol. 3, № 5. P. 391–400.
10. Folkman, J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent / J. Folkman. Edited by © Oxford University Press, 1990, 244 p.
11. Folkman, J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease / J. Folkman // Nature medicine. 1995. Vol. 1, № 1. P. 27–30.
12. Folkman, J. Clinical applications of research on angiogenesis / J. Folkman // New England Journal of Medicine. 1995. Vol. 333, № 26. P. 1757–1763.
13. Folkman, J. Angiogenesis / J. Folkman. 2006. 654 p.
14. Forough, R. New frontiers in angiogenesis / R. Forough. Dordrecht:Springer, 2006, 205 p.
15. Hoffmann, S. Thyrotropin (TSH)-induced production of vascular endothelial growth factor in thyroid cancer cells in vitro: evaluation of TSH signal transduction and of angiogenesis-stimulating growth factors / S. Hoffmann [et al.] // J Clin Endocrinol Metab. 2004. Vol. 89, № 12. P. 6139–6145.
16. Hoying, J. B. Genetics of angiogenesis / J. B. Hoying. Oxford: BIOS Scientific Pubs., 2003. 220 p.
17. Hsiao, P. J. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms in thyroid cancer / P. J. Hsiao [et al.] // J Endocrinol. 2007. Vol. 195, № 2. P. 265–270.
18. Murray, J. C. Angiogenesis protocols / J. C. Murray. New Jersey:Humana Press, 2001, 267 p.

19. Pinchot, S. N. Multi-targeted approach in the treatment of thyroid cancer / S. N. Pinchot, R. S. Sippel, H. Chen // *Ther Clin Risk Manag.* 2008. Vol. 4, № 5. P. 935–947.
20. Ramsden, J. D. Angiogenesis in the thyroid gland / J. D. Ramsden // *J Endocrinol.* 2000. Vol. 166, № 3. P. 475–480.
21. Ribatti, D., ebrary Inc.: History of research on tumor angiogenesis / D. Ribatti. Edited by Dordrecht, Springer Netherlands, 2009, 125 p.
22. Rzeszutko, M. The morphological analysis of vasculature in thyroid tumours: immunoexpression of CD34 antigen / M. Rzeszutko, W. Rzeszutko, P. Dziegiel // *Folia Histochem Cytobiol.* 2004. Vol. 42, № 4. P. 235–240.
23. Turner, H. E. Angiogenesis in endocrine tumors / H. E. Turner [et al.] // *Endocr Rev.* 2003. Vol. 24, № 5. P. 600–632.