ОПЫТ ДИАГНОСТИКИ РЕДКИХ ОПУХОЛЕЙ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ У ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ

В.Н. Манских, О.С. Ганчарова

ГОУ ВПО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», г. Москва 119992, г. Москва, Ленинские горы, стр. 73, e-mail: manskikh@mail.ru

Описаны три случая редко встречающихся опухолей у лабораторных мышей – миоэпителиальная карцинома слюнной железы, злокачественная нейроэндокринная опухоль (карциноид) слепой кишки, инсулярная карцинома поджелудочной железы. Карциноид слепой кишки впервые диагностирован как спонтанное новообразование у мышей без генетических модификаций. Представлен анализ диагностических признаков этих неоплазм и их особенностей в сравнении со случаями, описанными в литературе.

Ключевые слова: опухоли у лабораторных мышей, миоэпителиальная карцинома, злокачественная нейроэндокринная опухоль, инсулярная карцинома.

EXPERIENCE IN DIAGNOSING RARE DIGESTIVE SYSTEM NEOPLASMS IN LABORATORY MICE

V.N. Manskikh, O.S. Gancharova

M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow 73, Leninskie Gory, 119992- Moscow, e-mail: manskikh@mail.ru

Three rare tumors occurring in laboratory mice, namely: myoepithelial carcinoma of the salivary gland, malignant neuroendocrine tumors (carcinoid) of the cecum and insular carcinoma of the pancreas have been described. Carcinoid tumor of the cecum was first diagnosed as a spontaneous neoplasm in mice without genetic modification. Analysis of diagnostic features of these neoplasms and their characteristics in comparison with the published cases has been presented.

Key words: tumors in laboratory mice, myoepithelial carcinoma, malignant neuroendocrine tumor, insular carcinoma.

Патоморфологическая диагностика спонтанных опухолей, возникающих у лабораторных животных, является обязательным элементом в геронтологических и токсикологических экспериментах, при тестировании на канцерогенность и фенотипировании генетически измененных линий. Однако диагностические исследования такого рода существенно отличаются от патологоанатомической диагностики опухолей у человека. С одной стороны, классификации опухолей у животных содержат заметно меньше нозологических единиц, а спектр мажорных неоплазм у мышей широко используемых линий довольно постоянен и хорошо описан. С другой стороны, в случае лабораторных мышей не приходится рассчитывать ни на какую дополнительную клиническую и параклиническую информацию (которая бывает определяющей при постановке диагноза опухолей с неясной морфологической картиной), а также, за исключением редких ситуаций, пользоваться только традиционной патогистологической техникой (хотя иммуногистохимическая верификация опухолей у лабораторных животных активно разрабатывается в настоящее

время). Стоит также отметить, что в России никогда не выпускались руководства по патологии лабораторных животных и не существует никакой системы для подготовки специалистов в этой области. В связи с этим публикация материалов, касающихся различных проблем диагностики новообразований, наблюдаемых у животных в условиях эксперимента, кажется вполне актуальной и оправданной. Одной из таких проблем является верификация спорадических новообразований у мышей, поскольку эти неоплазмы не упоминаются в паспортной характеристике линий, а личный опыт исследователей в отношении данных опухолей всегда очень скуден. Настоящая статья посвящена описанию трех верифицированных авторами случаев редких спонтанных опухолей пищеварительной системы лабораторных мышей, особое внимание обращается на их диагностические особенности.

Материал и методы

Материалом для данной работы послужили сопроводительные документы к гистологическим образцам, протоколы вскрытий, макрофотографии и гистологические препараты, хранящиеся в архиве

СИБИРСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ. 2014. № 4

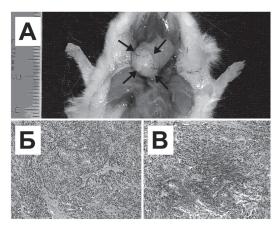


Рис. 1. Миоэпителиальная карцинома поднижнечелюстной железы: A – макроскопическая картина (опухоль указана стрелками); Б – микрофото, эпителиоидный компонент опухоли, окраска гематоксилином и эозином, ×100; В – микрофото, веретеноклеточный компонент опухоли, окраска гематоксилином и эозином, ×100

гистопатологической лаборатории НИИ митоинженерии МГУ им. М.В. Ломоносова. Все исследования, в которых были обнаружены новообразования, производились с соблюдением этических правил Европейской директивы FELASA-2010. Гистологические образцы фиксировались 10 % формалином на фосфатном буфере (рН=7,4) и подвергались стандартной процедуре гистологической проводки (через изопропанол) для заливки в парафин. Срезы толщиной 4 мк окрашивали гематоксилинэозином и, в зависимости от задач, по Ван-Гизону, Массону, ШИК, альциановым синим (рН=2,5), фосфорно-вольфрамовым гематоксилином (РТАН), паральдегид-фуксином по Гомори, импрегнировали серебром по Футу, Фонтана-Массону и Гримелиусу. Диагноз опухолей устанавливали, ориентируясь на критерии ВОЗ [3].

Результаты и обсуждение

Миоэпителиальная карцинома слюнной железы. Мышь BALB/с, самец, возраст 733 дня, SPF-виварий Института биоорганической химии РАН им. Шемякина и Овчинникова (группа из 400 животных в возрасте от 12 до 30 мес). Спонтанная смерть. При осмотре на шее справа выявлено эластичное подкожное образование, кожа надним слегка напряжена. После рассечения кожи обнаружено, что правая поднижнечелюстная слюнная железа резко увеличена и деформирована за счет узла белого цвета правильной овальной формы, плотно-эластичной консистенции, раз-

мером $0.8\times1\times0.8$ см, с резко полнокровными и извитыми сосудами на поверхности (рис. 1). Узел рыхло спаян с кожей и мягкими тканями шеи. Из сопутствующей патологии на некропсии обнаружены абсцесс (киста) препуциальной железы и минерализация эпикарда, часто встречающиеся у старых мышей линии BALB/c.

На гистологических препаратах опухоли центральную часть занимала киста, заполненная муцинозным содержимым и клеточным дебрисом. Стенка кисты была образована опухолевой тканью, представленной двумя основными морфологическими паттернами, которые переходили друг в друга без резких границ. Первый представлен эозинофильными полигональными эпителиоидными клетками с небольшими пузырьковидными ядрами, имеющими мелкозернистый хроматин, и обширной слабо эозинофильной цитоплазмой. Границы клеток не видны. Клетки формируют нечеткие дольковые структуры, разделяемые фиброзными септами. В части таких долек имеются центральные очаги некрозов. Помимо эпителиоидного, в опухоли присутствует и веретеноклеточный паттерн, представленный полями клеток, похожих на гладкие миоциты, с вытянутыми палочковидными ядрами и эозинофильной цитоплазмой. При окрашивании фосфорно-вольфрамовым гематоксилином (РТАН) в цитоплазме опухолевых элементов выявляются фибриллярные структуры, выраженность которых сильно варьирует. В целом для новообразования характерен значительный клеточный полиморфизм и умеренная митотическая активность. По краю опухоли видна инвазия в ткань слюнной железы. Ацинарные структуры и признаки плоскоклеточной дифференцировки в опухоли отсутствуют.

Частота миоэпителиальных карцином слюнных желез у мышей линии BALB/с составляет, по разным данным, 0,01–0,6 %, причем у самок они встречаются вдвое чаще, чем у самцов, и с большей частотой в околоушных и поднижнечелюстных, чем в подъязычных железах [2]. Эти опухоли имеют очень характерную макроскопическую картину в виде «псевдокисты», заполненной слизистым материалом. Доброкачественные миоэпителиомы у мышей отсутствуют. Дифференциальный диагноз следует проводить с низкодифференцированной плоскоклеточной карциномой, также изредка поражающей слюнные железы у мышей. Отличие этих

опухолей основывается, во-первых, на диморфной гистологической картине миоэпителиальных карцином (участки эпителиоидной ткани и структуры, напоминающие скопления веретеновидных гладких миоцитов), а также на результатах окрашивания железным гематоксилином или РТАН, выявляющего внутрицитоплазматические фибриллы [2, 3, 6]. Оба эти признака были выявлены в настоящем случае. Отсутствие ацинарных структур во всех исследованных участках опухоли (как в данном наблюдении) считается дифференциальным признаком, позволяющем отличать миоэпителиальные опухоли от аденокарцином [3]. Хотя отмечается, что иммуногистохимическое исследование является желательным для диагноза миоэпителиальных карцином, четкого алгоритма ИГХ-диагностики этих опухолей у мышей не представлено (кроме указаний на позитивное окрашивание антителами против цитокератинов) [3].

Нейроэндокринная опухоль (атипичный карциноид) слепой кишки. Мышь BALB/с, самец, возраст 765 дней, SPF-виварий Института биоорганической химии РАН им. Шемякина и Овчинникова (группа из 400 животных в возрасте от 12 до 30 мес). Спонтанная смерть. При некропсии на серозной оболочке слепой кишки виден выбухающий узел розовато-серого цвета, размерами 6×6×4 мм. После рассечения кишки в просвете в проекции серозного узла обнаружено бугристое мягко-эластичное эндофитное образование серого цвета, размером 7×7×3 мм, с пупкообразным западением в центре (рис. 2). Окружающая опухоль слизистая оболочка кишки сочная, полнокровная, ярко-красная, просвет всей кишки заполнен слизью розового цвета. Признаков кишечной непроходимости нет. Мезентериальный лимфатический узел увеличен (12×10×4 мм), серого цвета, с красноватыми пятнами. Сопутствующие заболевания, выявленные при некропсии и гистологическом анализе, - незначительное увеличение селезенки (17×5×3 мм), вызванное поражением ее диффузной крупноклеточной лимфомой без лейкемизации и мелкий (1×1×1 мм) белесоватый узелок в легком, оказавшийся типичной папиллярной аденомой.

При микроскопическом исследовании было обнаружено, что опухоль кишки образована мелкими мономорфными клетками с относительно узкой бесструктурной цитоплазмой и небольшим темным ядром, в котором только в некоторых случаях разли-

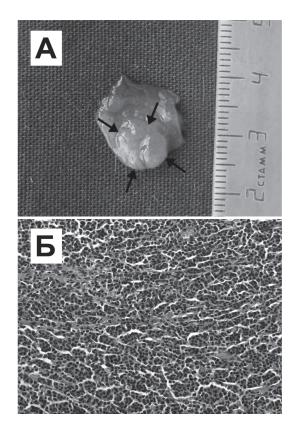


Рис. 2. Злокачественная нейроэндокринная опухоль (атипичный карциноид) слепой кишки: А – макроскопическая картина опухоли со стороны слизистой оболочки (опухоль указана стрелками); Б – микрофото, окраска гематоксилином и эозином, ×100

чимы ядрышки. Эти клетки собраны в отчетливые лобулярные структуры, разделенные стромальными септами. Границы между клетками не различимы. При импрегнации по Футу периферия долек оказывается оплетенной ретикулиновыми волокнами без оплетения индивидуальных клеток. Митозы крайне редки, очагов некроза нет. Реакции ШИК, с альциановым синим и с серебром по Гримелиусу в клетках опухоли негативны, а импрегнация по Фонтана-Массону выявила аргентаффинную зернистость (вероятно, серотониновой природы), которая импрегнировалась значительно слабее, чем зернистость в нейроэндокринных клетках в неизмененной слизистой оболочке слепой кишки. Опухолевая масса располагалась в слизистой оболочке и в подслизистой основе и пролабировала через истонченные мышечную оболочку и серозу. Со стороны просвета слизистая оболочка разрушена, и опухоль непосредственно соприкасается

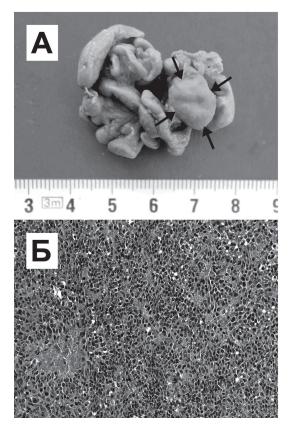


Рис. 3. Островковая карцинома поджелудочной железы: А – макроскопический вид (опухоль указана стрелками); Б – микрофото, окраска гематоксилином и эозином, ×100

с пищевыми массами. Все структуры мезентериального лимфатического узла оказались замещены опухолевой тканью того же строения и с теми же тинкториальными свойствами, что и в слепой кишке.

Всего у мышей описано около двух десятков спонтанных нейроэндокринных опухолей (у гибридов В6СЗF1, аутбредной линии CD-1 и у полосатых полевых мышей) [5]. Все эти новообразования были найдены в желудке, тогда как в нашем случае неоплазма была обнаружена в слепой кишке, в которой также имеются нейроэндокринные элементы [7, 8]. Типичными признаками карциноидов служат характерный морфологический паттерн (мелкие клетки с гиперхромными ядрами, сложенные в солидные, лобулярные и трабекулярные структуры с оплетением по периферии ретикулиновыми волокнами), присутствие аргирофильных или аргентаффинных гранул в цитоплазме и негативные реакции на по-

лисахариды (ШИК и альциановый синий). Все перечисленные признаки были верифицированы в описанном случае, что позволяет диагностировать нейроэндокринную опухоль, несмотря на наличие у того же животного диффузной крупноклеточной лимфомы (опухоли, которая может давать инфильтраты в кишечнике, симулирующие нейроэндокринные новообразования). Вопрос о злокачественном характере опухоли решается на основании обнаружения метастазирования в мезентериальный лимфатический узел, поскольку морфологически доброкачественные и злокачественные нейроэндокринные неоплазмы различаются не всегда [3]. Из иммуногистохимических маркеров для карциноидов у мышей рекомендуется использовать нейрон-специфическую енолазу, хромогранин А и синаптофизин [3, 5].

Островковая карцинома поджелудочной железы. Мышь СВА, самец, возраст 725 дней, конвенциональный виварий Института экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ им. Н.Н. Блохина, спонтанная смерть. При вскрытии были обнаружены повышенная упитанность животного (масса тела – 37 г) и небольшое количество геморрагической жидкости в брюшной полости. Вблизи двенадцатиперстной кишки в поджелудочной железе виден крупный плотный узел, размером 18×15×8 мм, желтоватого цвета, с крупными геморрагическими кистами на разрезе (рис. 3). Кроме этой опухоли, на некропсии и при гистологическом исследовании была установлена типичная гистиоцитарная саркома с поражением печени и селезенки.

Микроскопически опухоль оказалась образована полиморфными клетками с узкой эозинофильной цитоплазмой и круглыми ядрами с мелкозернистым хроматином. Клеточные элементы формируют структуры типа лент, полей и гнезд, причем в центре гнездных образований располагаются сосудистые полости, заполненные кровью. Митотические фигуры довольно многочисленны, встречаются и очаги некроза. Опухоль окружена отчетливой капсулой, отделяющей ее от ацинарных структур поджелудочной железы. В отдельных местах заметна инвазия капсулы опухолевыми элементами. При окраске паральдегид-фуксином по Гомори в клетках опухоли заметна отчетливая позитивная реакция.

Эти опухоли встречаются, по разным данным, у 0–0,2 % животных, причем у BALB/с не было най-

дено ни одной такой опухоли среди 30000 мышей в возрасте от 7 до 24 мес [2, 4]. Самки поражаются примерно вдвое чаще самцов. Большинство таких опухолей продуцирует инсулин, хотя и без признаков гипогликемии у животных [3]. Иммуногистохимическая диагностика инсулярных карцином у мышей не разработана, диагностические критерии основываются на локализации, характерной морфологии клеток (полиморфизм, многочисленные митозы, обширная эозинофильная или бесцветная цитоплазма, везикулярные ядра с хорошо заметными ядрышками) и ткани в целом (рост в виде гнезд с сосудистыми полостями или некрозами в центре, инвазия в капсулу и стенку сосудов) [1–4]. Мы использовали для подтверждения диагноза окрашивание паральдегид-фуксином по Гомори, который, как известно, позволяет выявлять секреторные гранулы в цитоплазме инсулин-секретирующих бета-клеток островков Лангерганса (другие клетки островков при этом не окрашиваются). Этот метод дал отчетливый позитивный результат (несмотря на продолжительное хранение материала в формалине), хотя окрашивание было значительно слабее, чем реакция в интактных островках поджелудочной железы. Несмотря на отсутствие указаний в литературе, мы не исключаем, что ожирение у

данного животного было связано с гормональной активностью опухоли.

В заключение мы хотели бы высказать благодарность проф. В.М. Перельмутеру за важные замечания при обсуждении сложных и нетривиальных случаев дифференциальной диагностики опухолей у лабораторных животных.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Frith C.H., Sheldon W.D. Hyperplasia, Adenoma, and Carcinoma of Pancreatic Islets, Mouse // Monographs on Pathology of Laboratory Animals. Endocrine System. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg, 1996. P 361–367
- 2. Maronpot R.R., Boorman G.A., Gaul B.W. et al. Pathology of the Mouse: Reference and Atlas. Cache River Press. Saint Louis, 1999. 699 p.
- 3. Mohr U., Capen C.C., Dungworth D.I. et al. International Classification of Rodent Tumors. The Mouse. Springer-Verlag, Heidelberg-Berlin-NewYork, 2001. 496 p.
- 4. Mohr U., Ďungworth Ď.I., Capen C.C. et al. Pathobiology of Aging Mouse, Vol.2. ILSI Press. Washington D.C., 1996. 505 p.
- 5. Okimoto K., Matsumoto I., Kuroki K., Tanaka K. Spontaneous Gastric Carcinoid Tumor in a Male B6C3F1 Mouse // J. Toxicol. Pathol. 2003. Vol. 16. P.175–178.
- 6. Percy D.H., Barthold S.W. Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits, 3nd ed. Iowa State University Press. Ames, IA, 2007. 325 p.
- 7. Mills S.E. Histology for pathologists. 4th ed. Lippincott Williams&Wilkins, 2012. 1328 p.
- 8. *Treuting P.M., Dintzis S.M., Frevert C.W. et al.* Comparative Anatomy and Histology: A Mouse and Human Atlas. Elsevier, Amsterdam–Boston–Heilderberg–London–NewYork–Oxford–Paris–SanDiego–SanFrancisco–Singapore–Sydney–Tokyo, 2012. 461 p.

Поступила 25.02.14