

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МАКРОФАГАЛЬНОЙ ВАСКУЛОПОДОБНОЙ МИМИКРИИ В ОЦЕНКЕ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ УВЕАЛЬНОЙ МЕЛАНОМЫ

А.Ю. Шаманова¹, Е.Л. Казачков², И.Е. Панова³, В.В. Саевец⁴, Л.В. Ярина⁵, Т.Н. Шамаева⁶, В.М. Власова⁷

^{1, 2, 4, 5, 6, 7} Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

^{1, 4, 5} Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины, Челябинск, Россия

³ СПб филиал НМИЦ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова, Санкт-Петербург, Россия

¹ anna-sha@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9280-0608>

² doctorkel@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4512-3421>

³ eyeren@mail.ru

⁴ lalili2013@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2572-2408>

⁵ yarina.lubov98@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5162-525X>

⁶ shamtan@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6327-2685>

⁷ vvlasova02@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5550-4466>

Аннотация

Введение. Увеальная меланома (УМ) – злокачественное новообразование сосудистого тракта глаза, склонное к гематогенному метастазированию вне зависимости от вида проведенного лечения. Прогнозирование и предотвращение метастазирования УМ является одной из главных задач онкоофтальмологии. Описан альтернативный способ кровоснабжения опухоли за счет процесса васкулоподобной мимикрии (ВМ) с формированием псевдососудистых структур клетками опухоли. При этом участие микроокружения опухоли в процессах ВМ и метастазирования на сегодняшний день является дискуссионным и актуальным. **Цель работы** – оценить прогностическую роль макрофагальной васкулоподобной мимикрии в прогрессировании меланомы хориоидеи на основе гистологической и иммуногистохимической характеристики операционного материала. **Материалы и методы.** Исследован операционный материал меланомы хориоидеи после энуклеации за период 2013-2018 гг. Проведено гистологическое, гистохимическое (PAS-реакция) и иммуногистохимическое исследование с использованием маркеров CD68 (Macrophage), CD 34, CD31, D2-40 с целью качественной и количественной оценки макрофагов в строме опухоли, кровеносных сосудов и псевдососудов в опухоли. **Результаты.** Обнаружена и описана способность макрофагов к формированию васкулоподобных пространств в меланоме хориоидеи. В опухоли с метастазами статистически значимо больше представительство макрофагов, чем в тканевых образцах неметастазирующей меланомы. Между объемной плотностью сосудов и количеством макрофагов была зарегистрирована обратная средняя по силе корреляционная связь. В группе исследования с метастазами статистически значимо больше преобладает объемная плотность псевдососудистых пространств и количества макрофагов. **Обсуждение.** Макрофагальное микроокружение в опухоли может играть двойственную роль: противоопухолевую и проопухолевую. Описана способность макрофагов к васкулоподобной мимикрии в меланоме хориоидеи. Результаты нашего исследования подтверждают проопухолевую активность макрофагов и важную роль в метастазировании опухоли. **Заключение.** Углубленное исследование путей формирования псевдососудистых пространств не только клетками самой опухоли, но и её микроокружением, помогает открыть новые направления в исследовании предикторов метастазирования УМ и наметить подходы к разработке новых направлений противоопухолевой терапии.

Ключевые слова: меланома хориоидеи, макрофагальная васкулоподобная мимикрия, макрофаги.

Для цитирования: Шаманова А.Ю., Казачков Е.Л., Панова И.Е. с соавт. Прогностическое значение макрофагальной васкулоподобной мимикрии в оценке прогрессирования увеальной меланомы. Уральский медицинский журнал 2023;22(2):56-64. <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-56-64>.

**PROGNOSTIC VALUE OF MACROPHAGE VASCULIFORM MIMICRY
IN THE EVALUATION OF UVEAL MELANOMA PROGRESSION**

A.Y. Shamanova¹, E.L. Kazachkov², I.E. Panova³, V.V. Saevets⁴, L.V. Yarina⁵, T.N. Shamaeva⁶,
V.M. Vlasova⁷

^{1, 2, 4, 5, 6, 7} South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

^{1, 4, 5} Chelyabinsk regional clinical center of Oncology and nuclear medicine, Chelyabinsk, Russia

³ St. Petersburg branch of S.N. Fyodorov Eye Microsurgery Clinic, St. Petersburg, Russia

¹ anna-sha@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9280-0608>

² doctorkel@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4512-3421>

³ eyeren@mail.ru

⁴ lalili2013@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2572-2408>

⁵ yarina.lubov98@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5162-525X>

⁶ shamtan@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6327-2685>

⁷ vvlasova02@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5550-4466>

Abstract

Introduction Uveal melanoma (UM) is a malignant neoplasm of the vascular tract of the eye, prone to hematogenous metastasis, regardless of the type of treatment performed. Prediction and probability of UM metastasis is one of the main tasks of onco-ophthalmology. We described an alternative method of tumor blood supply due to the process of vasculo-like mimicry (VM) with the formation of pseudovascular structures of tumor cells is described. At the same time, the participation of the microenvironment in the processes of VM and metastasis is currently debatable and relevant. **Purpose of the work** was to evaluate the prognostic role of macrophage vasculiform mimicry in the progression of choroid melanoma based on the histological and immunohistochemical characteristics of surgical material. **Materials and methods** The surgical material of choroidal melanoma after enucleation for the period 2013-2018 was studied. Histological, histochemical (PAS reaction) and immunohistochemical studies were carried out using markers CD68 (macrophages), CD 34, CD31, D2-40 for the purpose of qualitative and quantitative assessment of macrophages in the stroma of tumors, large vessels and pseudovessels in the tumor. **Results** The ability of macrophages to form vasculo-like spaces in choroidal melanoma has been discovered and described. In growth with macrometastases, more phage representatives are recorded than in tissue samples of non-metastasizing melanoma. the volume of the macroscopic mass of the ulcer and the growth rate of phages were registered as the inverse average in terms of the strength of the correlation. In group studies with metastases, an increase in the volume of pseudovascular volumes and the number of phages is recorded. **Discussion** The macrophage microenvironment in a tumor can play a dual role: antitumor and protumor. The ability of macrophages for VM in UM has been described. The results of our macrostudy confirm the protumor activity of phages and their important role in tumor metastasis. **Conclusion** In-depth study of the ways of pseudovascular space formation not only by the cells of the tumor itself, but also by its microenvironment, helps to open new directions in the study of predictors of UM metastasis and outline approaches to the development of new directions of anti-tumor therapy.

Key words: choroid melanoma, macrophage vasculature-like mimicry, macrophages.

For citation:

Shamanova AY, Kazachkov EL, Panova IE et al. Prognostic value of macrophage vasculiform mimicry in the evaluation of uveal melanoma progression. Ural medical journal 2023;22(2):56-64. (In Russ.). <http://doi.org/10.52420/2071-5943-2023-22-2-56-64>

ВВЕДЕНИЕ

Уvealная меланома (УМ) – злокачественное новообразование сосудистого тракта глаза, к которому относятся радужная оболочка, цилиарное тело и хориоидея. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), на долю меланомы радужной оболочки приходится 5%, на меланому

хориоидеи и цилиарного тела – 95% наблюдений УМ [1]. При этом половая предрасположенность к развитию УМ отсутствует [1].

На сегодняшний день предотвращение метастазирования УМ является одной из главных задач, решение которой позволит обеспечить увеличение показателей безрецидивной выживаемости

пациентов. Известно, что УМ метастазирует гематогенным путем наиболее часто в паренхиматозные органы (печень), реже – в легкие и кости [1]. При этом появление депозитов УМ возможно вне зависимости от вида проведенного лечения.

Прогнозирование отдаленных метастазов УМ и выживаемости пациентов во многом базируется на клинико-морфологических особенностях этого новообразования, анализ которых позволил обозначить факторы неблагоприятного прогноза УМ. К ним относят размер опухоли, экстрасклеральный рост, периневральная инвазия опухоли, вовлечение цилиарного тела. По мнению экспертов ВОЗ, особенности ангиогенеза и характеристики сосудистой сети являются важными прогностическими факторами при УМ [1]. Ранее показано, что различные васкулярные паттерны в опухоли и обильная васкуляризация ассоциированы с повышенным риском метастазирования [2, 3]. При этом установлено, что высокая микроваскулярная плотность в УМ ассоциируется с низкими показателями выживаемости [4–6].

Ангиогенез является важнейшим фактором, обуславливающим рост и метастазирование опухоли, поскольку позволяет обеспечить новообразование кислородом и питательными веществами. В ходе ангиогенеза ряд проангиогенных факторов (фактор роста эндотелия сосудов, VEGF и пр.) секретируются опухолевыми клетками для индуцирования собственной васкуляризации через процесс активации уже существующего эндотелия организма-опухоленосителя.

Вместе с тем показано, что ключевым альтернативным механизмом васкуляризации опухоли является васкулоподобная мимикрия (ВМ), при которой новообразования создают особую систему кровоснабжения, индуцируемую дефицитом кислорода и питательных веществ [7–9]. Данный механизм аутоваскуляризации опухоли тесно связан с прогрессированием заболевания и негативным прогнозом, в частности, при злокачественных опухолях эпителиального генеза (при карциномах яичников, молочной железы, мелкоклеточном раке легкого) [10–12]. Отмечено, что сами клетки УМ склонны к ВМ и формированию пространств, подобных сосудам, по которым возможно распространение клеток опухоли с формированием метастазов [13]. A.J. Maniotis et al. описали псевдососудистые каналы при высокоагрессивных УМ, образованные клетками опухоли, и обозначили этот феномен васкулогенной мимикрией [14].

Последние десятилетия активно изучается вопрос влияния клеточного микроокружения на рост и метастазирование опухолей различных локализаций (карциномы почки, яичника, толстой кишки, гортани) [15, 16]. M.M. Stei et al. описали факторы неблагоприятного прогноза УМ, к которым отнесли пожилой возраст пациентов, а также появление туморинфильтрирующих макрофагов (ТИМ) и вы-

сокую плотность кровеносных сосудов в опухоли [17]. При этом показано, что на прогрессирование опухоли могут влиять макрофаги популяции M2 и уровень экспрессии их цитокинов. Авторами установлено, что прогрессирование опухоли достоверно коррелирует с количеством макрофагов M2 in vivo и in vitro [17].

Некоторые авторы утверждают, что при УМ количество макрофагов, инфильтрирующих опухоль, влияет на прогноз, ассоциируется с типом клеток новообразования и плотностью микрососудов [18]. Большое количество макрофагов было связано с наличием эпителиоидных клеток ($p = 0,025$), выраженной пигментацией ($p = 0,001$) и высокой плотностью микрососудов ($p = 0,001$). При этом характер и тип ТИМ не был статистически значимо связан со смертностью [18]. Всё это диктует необходимость дальнейшего анализа биологической роли макрофагов при УМ.

На основании вышеизложенного уместно предположить, что сосудистая сеть в УМ, в том числе и псевдососудистые коммуникации, а также клеточные элементы микроокружения опухоли, в особенности макрофаги, способны оказывать влияние на усиление риска метастазирования. При этом данные об участии ТИМ в возможном созидании псевдососудистой сети опухоли встречаются в единичных исследованиях [19].

Цель исследования – оценить прогностическую значимость макрофагальной васкулоподобной мимикрии в прогрессировании увеальной меланомы на основе гистологической, гистохимической и иммуногистохимической характеристики операционного материала.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено ретроспективное морфологическое исследование 299 энуклеированных глаз от 299 пациентов, оперированных по поводу УМ в 2013–2018 гг. в Челябинском областном клиническом центре онкологии и ядерной медицины (ГАУЗ ЧОКЦО и ЯМ).

Критериями включения являлась верификация на операционном материале УМ после энуклеации глаза, наличие или отсутствие отдаленных метастазов опухоли, гистологически подтвержденная беспигментная или слабо пигментированная меланома. Критерии невключения: гистологически подтвержденная умеренно и выраженно пигментированная опухоль, какая-либо терапия, проведенная по поводу УМ, наличие второго злокачественного новообразования у пациента.

В соответствии с рекомендациями ВОЗ в процессе гистологического исследования операционного материала все случаи УМ были разделены на эпителиоидные, веретеночлеточные и смешанные (эпителиоидно-веретеночлеточные) с оценкой процента веретеночлеточного компонента в новообразовании по отношению к общему объёму УМ

[1].

В соответствии с критериями включения и исключения были сформированы две группы исследования: в 1-ю группу вошли наблюдения УМ без отдаленных метастазов ($n=30$), во 2-ю группу – случаи оперированной УМ с верифицированными отдаленными метастазами (в печень) ($n=20$). Проведены гистологическое, гистохимическое и иммуногистохимическое исследование (ИГХ) тканевых образцов с антителами к CD68 (Macrophage) для идентификации макрофагального звена клеточного микроокружения УМ, маркеры к эндотелию кровеносных сосудов (CD 34, CD31) и к эндотелию лимфатических сосудов (D2-40). Гистохимическое исследование с применением ШИК-реакции было выполнено с целью выявления структурных компонентов псевдососудистых пространств в сочетании с интерпретацией экспрессии ИГХ-маркеров на ступенчатых гистологических срезах [20].

Анализ полученных данных проведен с использованием математико-статистической обработки результатов исследования, выполненной с помощью пакета статистических программ IBM SPSS Statistics 19. Во всех случаях распределение признаков не соответствовало нормальному закону распределения. Количественные (интервальные) и порядковые (ординальные) показатели обрабатывались с использованием методов описательной статистики и представлены в виде медианы (Me) и квартилей (Q1; Q3). Значимость различий по количественным и порядковым данным оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Проверка статистических гипотез проводилась при критическом уровне значимости 0,05. Достоверными считались различия $p<0,05$. В случаях метастазирующих УМ проведено исследование корреляционных связей с оценкой показателя Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследовано 299 энуклеированных глаз от 299 пациентов (145 мужчин, 154 женщины, средний возраст 61 [52; 70]). На первом этапе группировки выборки были сформированы 2 группы. В 1-ю группу исследования вошли пациенты с УМ без отдаленных метастазов ($n=258$) (медиана времени наблюдения за больными с констатацией отсутствия отдаленных метастазов составила 57 [38;60] месяцев), 2-я группа включала верифицированные отдаленные метастазы УМ (в печень) ($n=24$) (медиана времени от момента верификации до появления метастазов - 42 [30;54] месяца).

На втором этапе группировки материала проведен отбор слабо пигментированных и беспигментных УМ с целью улучшения восприятия пероксида-ассоциированных меток ИГХ-маркёров. В итоге выборки 1-ю группу исследования сформировали 30 наблюдений УМ без отдаленных метастазов (16 мужчин, медиана возраста 51 [41; 59]; 14 женщин,

медиана возраста 54 [48; 71]), 2 группу – 20 случаев УМ (12 мужчин, медиана возраста 48 [38; 56]; 8 женщин, медиана возраста 52 [44; 68]). Следует отметить, что возраст пациентов исследуемых групп статистически значимо не отличался ($p=0,432$).

Во всех случаях верифицированы либо эпителиоидноклеточный либо веретенкоклеточный варианты УМ.

При исследовании микропрепаратов УМ методом световой микроскопии при обзорной окраске гематоксилином и эозином были обнаружены пространства в строме опухоли, которые были заполнены эритроцитами и напоминали кровеносные сосуды. Размеры обнаруженных пространств варьировали от нескольких до десятков мкм в поперечнике. Формы просветов этих псевдососудистых коммуникаций также варьировали: от узких овально-округлых либо извитых до широких неправильных. На серийных срезах в обзорной окраске гематоксилином и эозином данные пространства сохранялись, то есть не являлись артефициальными (рис. 1).

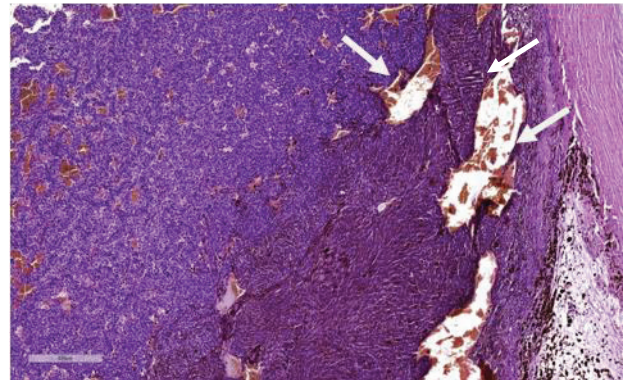
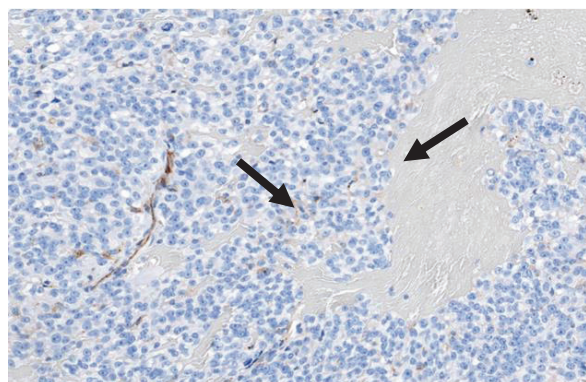


Рис. 1. Гистологическая картина увеальной меланомы с обильной васкуляризацией крупными, средними и мелкими просветами сосудов, заполненных эритроцитами. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 4,8$.

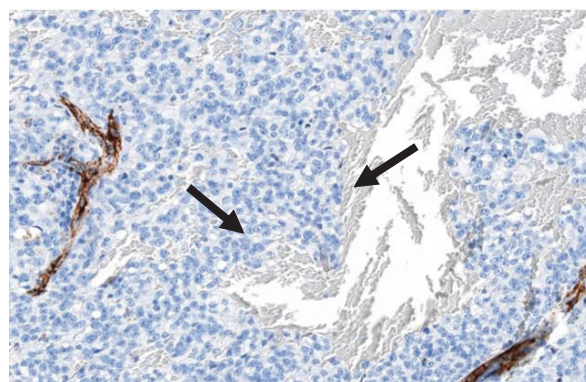
При ИГХ-исследовании микропрепаратов методом световой микроскопии был обнаружен феномен формирования макрофагами васкулоподобных пространств в строме УМ (рис. 2).

При окраске материала реактивом Шиффа (ШИК-реакция) в стенках псевдососудистых пространств в УМ идентифицировалась ШИК-позитивная субстанция, напоминающая сосудистую базальную мембрану (рис. 3).

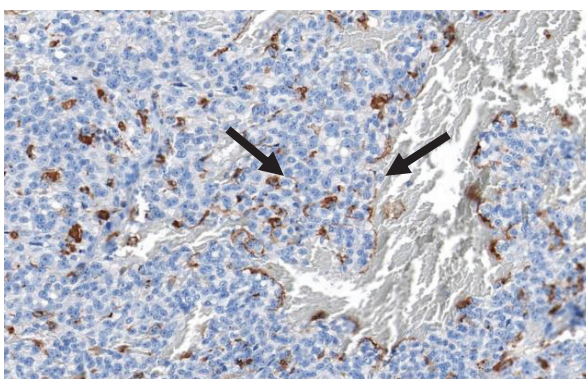
В ходе проведения морфометрического анализа материала установлено, что в опухолях пациентов 2-й группы исследования уровень представительства ТИМ был статистически значимо выше, чем в тканевых образцах неметастазирующей УМ (таблица 1): 204,3 [150,4; 248,3] против 115 [68,4; 142,3] во 2-й и 1-й группах соответственно ($p=0,006$). Кроме того, в тканевых срезах УМ боль-



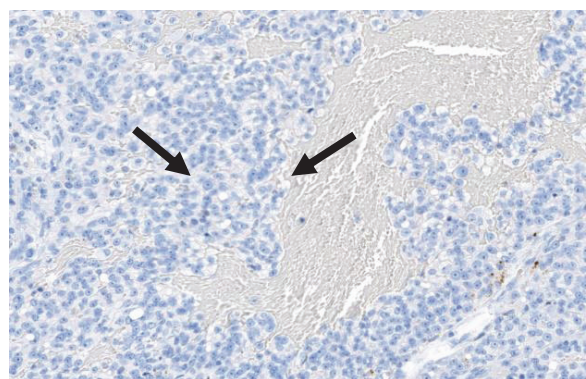
а



б



в



г

Рис. 2. Иммуногистохимическая характеристика истинных и псевдососудистых пространств в увеальной меланоме: а – CD34-положительная экспрессия эндотелиальными клетками капилляров в опухоли; б – CD31-метки в клетках эндотелия кровеносных сосудов новообразования; в – CD68(Macrophage)-положительные клетки, выстраивающиеся в ряд и формирующие псевдососудистые пространства (васкулоподобная мимикрия макрофагов); г – псевдососудистые пространства в опухоли, лишённые экспрессии D2-40 (отсутствие в регионе лимфатических капилляров). Окраска – иммуногистохимический метод, полимерная тест-система; а-г – $\times 200$.

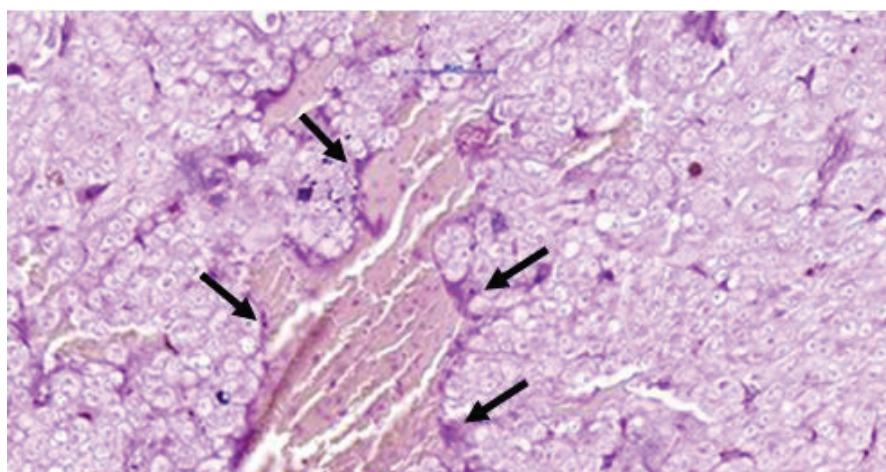


Рис. 3. ШИК-положительные элементы стенки псевдососудистых пространств. Псевдососудистое пространство в УМ с чётко определяемой мембраноподобной ШИК-положительной субстанцией, напоминающей базальную мембрану сосуда (указано стрелками). Окраска – ШИК-реакция, $\times 400$.

ных 2-й группы объёмная плотность псевдососудистых пространств, сформированных макрофагами, статистически значимо превышала одноимённый параметр в опухолях пациентов 1-й группы (7,1

[4,4; 9,2] против 3,3 [1,0; 4,0]) ($p=0,05$). Вместе с тем, при сравнении значений объёмной плотности истинных кровеносных сосудов установлено статистически значимое преобладание этого по-

казателя в неметастизирующих УМ (1-я группа) 5,0] против 6,4 [4,43; 7,6] соответственно ($p=0,05$) над аналогичным параметром 2-й группы (3,4 [2,3; 5,0] (табл. 1).

Таблица 1.

Сравнительная характеристика объемной плотности кровеносных сосудов, псевдососудистых пространств и количества макрофагов в опухоли в зависимости от наличия (mts+) или отсутствия (mts-) отдаленных метастазов в печени

Оцениваемые параметры	Me (Q1%; Q3%)		p (критерий Манна-Уитни)
	1-я группа (mts-), n=30	2-я группа (mts+), n=20	
Кровеносные сосуды, объемная плотность (%)	6,4 (4,43; 7,6)	3,4 (2,3; 5,0)	=0,05
Макрофаги (количество клеток)	115(68,4; 142,3)	204,3 (150,4; 248,3)	=0,006
Псевдососудистые пространства, объемная плотность, %	3,3 (1,0; 4,0)	7,1 (4,4; 9,2)	=0,05

Между значениями объемной плотности кровеносных сосудов и количеством макрофагов нами зарегистрирована обратная средняя по силе корреляционная связь, означающая, что чем выше уровень объемной плотности сосудов в опухоли, тем статистически значимо меньше количество макрофагов в новообразовании

(табл. 2). При этом следует отметить, что в УМ преимущественно веретенноклеточного строения васкуляризация была более выражена, чем при эпителиоидноклеточном варианте опухоли, в то время как количество ТИМ, напротив, преобладало в УМ эпителиоидноклеточного строения.

Таблица 2.

Корреляционные связи (P_0 Спирмена) показателей объемной плотности кровеносных сосудов, количества макрофагов, % веретенноклеточного компонента в метастазирующей УМ

P_0 Спирмена	Кровеносные сосуды	Макрофаги (количество)	% веретенноклеточного компонента в опухоли
Кровеносные сосуды (объемная плотность)	-	-0,349, $p=0,04$	0,371, $p=0,02$
Макрофаги (количество)	-0,349, $p=0,04$	-	-0,600, $p=0,02$
% веретенноклеточного компонента в опухоли	0,371, $p=0,02$	-0,600, $p=0,02$	-

ОБСУЖДЕНИЕ

Макрофаги относятся к клеткам врожденной иммунной системы, формируют один из первых противомикробных барьеров, играют важную роль в заживлении ран при воспалении и ангиогенезе. Эти клетки представляют собой гетерогенную клеточную популяцию с различными фенотипическими характеристиками в зависимости от тканей, на территории которых они располагаются, и состояния системы их активации. Макрофаги играют важную защитную роль в различных тканях глаза (роговице, сосудистой оболочке), активно участвуя в противоопухолевых иммунных реакциях [17].

Ангиогенез является фундаментальным процессом, который обеспечивает опухоль кислородом и питанием, необходимыми для их роста [21–24]. Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и его рецепторы (VEGFR) являются основными маркерами ангиогенеза опухоли. При этом VEGFR продуцируется как самими опухолевыми клетками, так их микроокружением, в частности, ТИМ, что приводит к повышению проницаемости сосудов и, вероятно, стимулирует процесс внедрения клеток опухоли в просветы периферических сосудов [25].

Ингибиторы VEGF и VEGFR широко используются для лечения солидных опухолей [26]. При этом показано, что антиангиогенная терапия не всегда приводит к искомым результатам. Это позволяет

предположить, что возможным механизмом резистентности к антиангиогенным препаратам может быть активация альтернативных путей неоваскуляризации опухоли [27–29].

Помимо VEGF, ТИМ высвобождает набор проангиогенных факторов, включающих фактор некроза опухоли α (TNF α), основной фактор роста фибробластов (bFGF), тимидинфосфорилазу (TP), активатор плазминогена урокиназного типа (uPA), аденомедуллин (ADM) и семафорин 4D (Sema4D) [30, 31]. Участие ТИМ в опухолевом ангиогенезе не ограничивается самопродукцией ангиогенных факторов. Эти клетки способны экспрессировать цитокины, которые косвенно способствуют ангиогенезу опухоли путем индукции проангиогенной программы в опухолевых клетках. Так, установлено [32–33], что моноциты и макрофаги человека индуцируют продукцию проангиогенных факторов IL-8 и VEGF из клеток меланомы и глиомы во время совместного культивирования. ВМ при этом в основном присутствует в тканях высокозлокачественных опухолей и ассоциирована со способностью опухоли метастазировать, рецидивировать и, тем самым, влиять на прогноз течения страдания [34–35]. Показано, что появление ВМ трактуется как неблагоприятный прогностический фактор при карциноме яичников [10], глиобластоме [36].

Несмотря на то, что механизмы образования ВМ до сих пор полностью не раскрыты, указано

на участие в процессах ВМ-формирования клеток эпителиально-мезенхимального перехода, эмбриональных и стволовых клеток, гипоксии различного происхождения, потенцирующей активацию сосудо-созидающих сигнальных молекул [37–39].

Кроме того, микроокружение опухоли создает своеобразную клеточную нишу, оказывающую разнонаправленное влияние на пластичность новообразования, и во многом определяющую объясняющие морфологическую и функциональную гетерогенность злокачественных опухолей [40]. В частности, недавнее исследование [41] показало, что фибробласты могут индуцировать ВМ при легочной карциноме и наряду с иными стромальными факторами играют существенную роль в трансформации клеток опухоли и приобретении ими эндотелиально-подобного фенотипа.

Макрофагальное микроокружение в опухоли может играть двойственную роль. С одной стороны, макрофаги как фагоциты играют защитную роль, в том числе в течение опухолевого процесса. С другой стороны, M. Jager et al. показали, что при УМ человека высокая плотность макрофагов в строме опухоли связана с *плохим* прогнозом для пациента [42]. Как уже упоминалось, макрофаги играют роль в развитии ангиогенеза и, таким образом, могут стимулировать рост опухоли. Кроме того, было обнаружено, что макрофаги подавляют иммунные реакции организма против меланомы. Таким образом, актуально понимать двойственного значения этих клеток в организме.

Несмотря на сходство между ангиогенезом и ВМ, современные антиангиогенные подходы не могут воздействовать на сосудистые структуры ВМ, и действительно, было показано, что использование антиангиогенной терапии (бевацизумаб) увеличивает ВМ при раке яичников и молочной железы [34, 43]. Это может объясняться тем, что при подавлении образования и количества истинных кровеносных сосудов в опухоли нарастает гипоксия, индуцирующая в свою очередь процессы формирования ВМ.

Кроме того, гетерогенность истинных и псевдососудистых коммуникаций, когда сосуд может быть выстлан эндотелиоцитами, а псевдососудистая структура – опухолевыми клетками, ведёт к образованию гибридных сосудистых структур, способствующих интравазации новообразования

и системной диссеминации клеток опухоли [44]. Некоторые авторы рекомендуют принимать во внимание то обстоятельство, что сформированная ВМ повышает риск метастазирования новообразования после проведенного антиангиогенного лечения и считают, что исследования в области этого феномена в онкоморфологии несомненно позволят модифицировать подходы к данной терапии злокачественных опухолей [45].

С учётом изложенного полагаем, что макрофагальное микроокружение в опухоли может играть двойственную роль: про- и противотуморозную. Полученные в ходе настоящего исследования материалы указывают на способность макрофагов к васкулоподобной мимикрии на территории УМ, на вероятное значение этих клеток в генезе метастазирования опухоли и, тем самым, подтверждают возможность проопухолевой активности макрофагов.

Таким образом, более углубленное исследование путей формирования псевдососудистых пространств не только клетками самой опухоли, но и её микроокружением, помогает открыть новые направления в исследовании предикторов метастазирования УМ и наметить подходы к оптимизации терапии этих новообразований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нами обнаружено и доказано, что макрофаги из клеточного микроокружения УМ способны к ВМ. Результаты проведенного иммуноморфологического, морфометрического и статистического исследований элементов самой УМ и её микроокружения убедительно показывают, что такие характеристики новообразования, как объемная плотность кровеносных сосудов и количество ТИМ, макрофагов в УМ могут быть использованы в качестве прогностических маркеров метастазирования опухоли. В ходе прогрессирования УМ васкуляризация опухоли кровеносными сосудами сменяется на макрофагальные псевдососудистые структуры. Полученные результаты изучения сосудов УМ, клеточного микроокружения опухоли и образованных клетками микроокружения псевдососудистых пространств с использованием иммуногистохимических маркеров могут быть использованы для оценки прогрессирования опухоли и прогнозирования появления отдаленных метастазов УМ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ / REFERENCES

1. Grossniklaus HE, Eberhart CG, Kivela TT. WHO Classification of tumours of the eye. 4th edition. Lyon : IARC; 2018 pp. 87–93.
2. Folberg R, Rummelt V, Parys-Van Ginderdeuren R et al. The prognostic value of tumor blood vessel morphology in primary uveal melanoma. *Ophthalmology* 1993;100(9):1389–1398. [https://doi.org/10.1016/s0161-6420\(93\)31470-3](https://doi.org/10.1016/s0161-6420(93)31470-3).
3. Mäkitie T, Summanen P, Tarkkanen A, Kivelä T. Microvascular loops and networks as prognostic indicators in choroidal and ciliary body melanomas. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91(4):359–367. <https://doi.org/10.1093/jnci/91.4.359>.
4. Mäkitie T, Summanen P, Tarkkanen A, Kivelä T. Microvascular density in predicting survival of patients with choroidal and ciliary body melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(11):2471–2480.
5. Chen X, Maniotis AJ, Majumdar D et al. Uveal melanoma cell staining for CD34 and assessment of tumor vascularity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(8):2533–2539.

- 6.Foss AJ, Alexander RA, Jefferies LW et al. Microvessel count predicts survival in uveal melanoma. *Cancer Res* 1996;56(13):2900–2903.
- 7.Sun W, Shen ZY, Zhang H et al. Overexpression of HIF-1 α in primary gallbladder carcinoma and its relation to vasculogenic mimicry and unfavourable prognosis. *Oncol Rep* 2012;27(6):1990–2002. <https://doi.org/10.3892/or.2012.1746>.
- 8.Liu K, Sun B, Zhao X et al. Hypoxia induced epithelial-mesenchymal transition and vasculogenic mimicry formation by promoting Bcl-2/Twist1 cooperation. *Exp Mol Pathol* 2015;99(2):383–391. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2015.08.009>.
- 9.Zhou TJ, Huang XH, Gong L, Xiang L. Vasculogenic mimicry and hypoxia-inducible factor-1 α expression in cervical squamous cell carcinoma. *Genet Mol Res* 2016;15(1):15017396. <https://doi.org/10.4238/gmr.15017396>.
- 10.Lim D, Do Y, Kwon BS et al. Angiogenesis and vasculogenic mimicry as therapeutic targets in ovarian cancer. *BMB reports*. 2020;53(6):291–298. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2020.53.6.060>.
- 11.Park Y, Kim J. Regulation of IL-6 signaling by miR-125a and let-7e in endothelial cells controls vasculogenic mimicry formation of breast cancer cells. *BMB Rep* 2019;52(3):214–219. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2019.52.3.308>.
- 12.Williamson SC, Metcalf RL, Trapani F et al. Vasculogenic mimicry in small cell lung cancer. *Nat Commun* 2016;7:13322. <https://doi.org/10.1038/ncomms13322>.
- 13.Cong R, Sun Q, Yang L et al. Effect of Genistein on vasculogenic mimicry formation by human uveal melanoma cells. *J Exp Clin Cancer Res* 2009;28(1):124. <https://doi.org/10.1186/1756-9966-28-124>.
- 14.Maniotis AJ, Folberg R, Hess A et al. Vascular channel formation by human melanoma cells in vivo and in vitro: vasculogenic mimicry. *Am J Pathol* 1999;155(3):739–752. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65173-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65173-5).
- 15.Райхлин Н.Т., Букаева И.А., Смирнова Е.А. с соавт. Пролиферативная активность, степень злокачественности и прогноз при карциноидных опухолях легких. *Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН*. 2012;23(4):17–24.
- Rajhlin NT, Bukaeva IA, Smirnova EA et al. Proliferative activity, degree of malignancy and prognosis in lung carcinoid tumors. *Bulletin of the N. N. Blokhin Russian Research Center of the Russian Academy of Sciences = Vestnik RONC im. N. N. Blohina RAMN* 2012;23(4):17–24. (In Russ.).
- 16.Черданцева Т.М., Бобров И.П., Климачев В.В. Патоморфология перитуморозной зоны при раке почки разной степени злокачественности. *Медицина в Кузбассе* 2012;11(1):27–31.
- Cherdanceva TM, Bobrov IP, Klimachev VV. Pathomorphology of the peritumorous zone in kidney cancer of varying degrees of malignancy. *Medicine in Kuzbass = Medicina v Kuzbasse* 2012;11(1):27–31. (In Russ.).
- 17.Stei MM, Loeffler KU, Kurts C et al. Impact of macrophages on tumor growth characteristics in a murine ocular tumor model. *Exp Eye Res* 2016;151:9–18. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2016.07.008>.
- 18.Makitie T, Summanen P, Tarkkanen A, Kivelä T. Tumor-infiltrating macrophages (CD68(+) cells) and prognosis in malignant uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(7):1414–1421.
- 19.Barnett FH, Rosenfeld M, Wood M et al. Macrophages form functional vascular mimicry channels in vivo. *Sci Rep* 2016;6:36659. <https://doi.org/10.1038/srep36659>.
- 20.Foss AJ, Alexander RA, Hungerford JL et al. Reassessment of the PAS patterns in uveal melanoma. *Br J Ophthalmol* 1997;81(3):240–248. <https://doi.org/10.1136/bjo.81.3.240>.
- 21.Bouck N, Stellmach V, Hsu SC. How tumors become angiogenic. *Adv Cancer Res* 1996;69:135–174. [https://doi.org/10.1016/s0065-230x\(08\)60862-3](https://doi.org/10.1016/s0065-230x(08)60862-3).
- 22.Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D. Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. *Nature* 1989;339(6219):58–61. <https://doi.org/10.1038/339058a0>.
- 23.Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996;86(3):353–364. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80108-7](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80108-7).
- 24.Folberg R, Mehaffey M, Gardner LM et al. The microcirculation of choroidal and ciliary body melanomas. *Eye* 1997;11(2):227–238. <https://doi.org/10.1038/eye.1997.57>.
- 25.De Palma M, Biziato D, Petrova TV. Microenvironmental regulation of tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer* 2017;17:457–474. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.51>.
- 26.Shibuya M. Vascular endothelial growth factor-dependent and independent regulation of angiogenesis. *BMB Rep* 2008;41(4):278–286. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2008.41.4.278>.
- 27.Ribatti D, Annese T, Ruggieri S et al. Limitations of anti-angiogenic treatment of tumors. *Transl Oncol* 2019;12(7):981–986. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2019.04.022>.
- 28.Dunleavy JM, Dudley AC. Vascular mimicry: concepts and implications for anti-angiogenic therapy. *Curr Angiogenesis* 2012;1(2):133–138. <https://doi.org/10.2174/2211552811201020133>.
- 29.Maniotis AJ, Folberg R, Hess A et al. Vascular channel formation by human melanoma cells in vivo and in vitro: vasculogenic mimicry. *Am J Pathol* 1999;155(3):739–752. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65173-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65173-5).
- 30.Sierra JR, Corso S, Caione L et al. Tumor angiogenesis and progression are enhanced by Sema4D produced by tumor-associated macrophages. *J Exp Med* 2008;205(7):1673–1685. <https://doi.org/10.1084/jem.20072602>.
- 31.Chen P, Huang Y, Bong R et al. Tumor-associated macrophages promote angiogenesis and melanoma growth via adrenomedullin in a paracrine and autocrine manner. *Clin Cancer Res* 2011;17(23):7230–7239. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-1354>.
- 32.Toritsu H, Ono M, Kiryu H et al. Macrophage infiltration correlates with tumor stage and angiogenesis in human malignant melanoma: possible involvement of TNF α and IL-1 α . *Int J Cancer* 2000;85(2):182–188.
- 33.Hong TM, Teng LJ, Shun CT et al. Induced interleukin-8 expression in gliomas by tumor-associated macrophages. *J Neurooncol* 2009;93(3):289–301. <https://doi.org/10.1007/s11060-008-9786-z>.
- 34.Cao Z, Bao M, Miele L et al. Tumour vasculogenic mimicry is associated with poor prognosis of human cancer patients: a systemic review and meta-analysis. *Eur J Cancer* 2013;49(18):3914–3923. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2013.07.148>.

- 35.Cao Z, Shang B, Zhang G et al. Tumor cell-mediated neovascularization and lymphangiogenesis contrive tumor progression and cancer metastasis. *Biochim Biophys Acta* 2013;1836(2):273–286. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2013.08.001>.
- 36.Angara K, Borin TF, Arbab AS. Vascular mimicry: A novel neovascularization mechanism driving anti-angiogenic therapy (AAT) resistance in glioblastoma. *Transl Oncol* 2017;10(4):650–660. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2017.04.007>.
- 37.Liu Q, Qiao L, Liang N et al. The relationship between vasculogenic mimicry and epithelial-mesenchymal transitions. *J Cell Mol Med* 2016;20(9):1761–1769. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12851>.
- 38.Sun H, Yao N, Cheng S et al. Cancer stem-like cells directly participate in vasculogenic mimicry channels in triple-negative breast cancer. *Cancer Biol Med* 2019;16(2):299–311. <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2018.0209>.
- 39.Delgado-Bellido D, Serrano-Saenz S, Fernández-Cortés M, Oliver FJ. Vasculogenic mimicry signaling revisited: focus on non-vascular VE-cadherin. *Mol Cancer* 2017;16(1):65. <https://doi.org/10.1186/s12943-017-0631-x>.
- 40.Denton AE, Roberts EW, Fearon DT. Stromal Cells in the Tumor Microenvironment. *Adv Exp Med Biol* 2018;1060:99–114. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78127-3_6.
- 41.Tsai YM, Wu KL, Liu YW et al. Cooperation Between Cancer and Fibroblasts in Vascular Mimicry and N2-Type Neutrophil Recruitment via Notch2-Jagged1 Interaction in Lung Cancer. *Front Oncol* 2021;11:696931. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.696931>.
- 42.Jager MJ, Ly LV, El Filali M, Madigan MC. Macrophages in uveal melanoma and in experimental ocular tumor models: Friends or foes? *Prog Retin Eye Res* 2011;30(2):129–146. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2010.11.004>.
- 43.Sun H, Zhang D, Yao Z et al. Anti-angiogenic treatment promotes triple-negative breast cancer invasion via vasculogenic mimicry. *Cancer Biol Ther* 2017;18(4):205–213. <https://doi.org/10.1080/15384047.2017.1294288>.
- 44.Silvestri VL, Henriët E, Linville RM et al. A Tissue-Engineered 3D Microvessel Model Reveals the Dynamics of Mosaic Vessel Formation in Breast Cancer. *Cancer Res* 2020;80:4288–4301. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-19-1564>.
- 45.Xu Y, Li Q, Li XY et al. Short-term anti-vascular endothelial growth factor treatment elicits vasculogenic mimicry formation of tumors to accelerate metastasis. *J Exp Clin Cancer Res* 2012;31(1):16. <https://doi.org/10.1186/1756-9966-31-16>.

Информация об авторах:

Анна Юрьевна Шаманова – кандидат медицинских наук;
 Евгений Леонидович Казачков – доктор медицинских наук, профессор;
 Ирина Евгеньевна Панова – доктор медицинских наук, профессор;
 Валерия Владимировна Саевец – кандидат медицинских наук;
 Любовь Владимировна Ярина – ординатор;
 Татьяна Николаевна Шамаева – кандидат педагогических наук;
 Вероника Михайловна Власова – студент.

Information about authors:

Anna Yu. Shamanova – Ph.D. in medicine;
 Evgenij L. Kazachkov – Doctor of Science (Medicine), Professor;
 Irina E. Panova – Doctor of Science (Medicine), Professor;
 Valeriya V. Saevets – Ph.D. in medicine;
 Lyubov' V. Yarina – Ph.D. in pedagogical;
 Tat'yana N. Shamaeva – Ph.D. in medicine;
 Veronika M. Vlasova – Student.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflicts of interests The authors declare no conflicts of interests.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Funding source This study was not supported by any external sources of funding.

Этическая экспертиза. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России.

Ethics approval The study was approved by the local Ethics Committee of the South Ural State Medical University.

Информированное согласие было подписано всеми пациентами.

Informed consent was signed by all patients.

Статья поступила в редакцию 17.02.2023; одобрена после рецензирования 22.02.2023; принята к публикации 01.04.2023.

The article was submitted 17.02.2023; approved after reviewing 22.02.2023; accepted for publication 01.04.2023.