

DOI: <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2021-61-10-647-654>

УДК 616.24-004-006-057(571.17)

© Коллектив авторов, 2021

Бондарев О.И.^{1,2}, Бугаева М.С.^{1,2}, Михайлова Н.Н.¹

Пневмосклеротические изменения в тканях лёгких как признак опухолевой трансформации у работников основных профессий угольных шахт

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний», ул. Кутузова, 23, Новокузнецк, Россия, 654041;²Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей — филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, пр. Строителей, 5, Новокузнецк, Россия, 654005

Введение. Для работников угольных шахт характерен высокий уровень не только профессиональных заболеваний, но и онкологических. Современные знания в области изучения пневмокониоза содержат много противоречий в оценке патогенетических механизмов поражения лёгких, в частности морфогенеза неопластических изменений в дыхательной системе на финальной стадии заболевания с выраженными склеротическими изменениями. Исследование посвящено возникновению и развитию опухолевой ткани у шахтёров, работающих в подземных условиях. Поставлена задача выявить морфологические триггерные механизмы развития онкологической патологии у шахтёров, опираясь на патоморфологические, иммуногистохимические исследования изменения эпителиальной ткани воздухоносных путей, а также различных клеточных сообществ бронхов, сосудов лёгких и паренхимы лёгочной ткани на примере эпителиально-мезенхимальной трансформации при пылевой нагрузке.

Цель исследования — определить влияние фибропластического процесса на развитие онкологической патологии у шахтёров, работавших в подземных условиях.

Материалы и методы. Осуществлены гистологические, иммуногистохимические и морфометрические исследования дыхательной системы, полученной при проведении 50 аутопсийных работ группы шахтёров Кузбасса, работавших в подземных условиях. У 20 шахтёров ранее выявлен рак различной локализации и гистогенетической принадлежности. Изучению подвергались слизистая бронхов, респираторная ткань лёгких, артерии и вены малого круга кровообращения. Иммуногистохимическое исследование выполнялось с использованием моноклональных антител (маркер пролиферации Ki-67, онкоген проапоптотической активности Bcl-2, факторы роста и неангиогенеза, факторы эндотелиальной функции CD-31 и CD-34, маркер эпителиальной ткани цитокератин (cyt), маркеры мышечной ткани — актин, десмин, виментин, маркеры соединительной ткани — коллаген, ламинин, маркеры межклеточных взаимодействий ЕМА, SMA).

Результаты. Трансформированные фибробласты, миофибробласты являются клеточной популяцией дедифференцированной эпителиальной ткани с различной экспрессией неспецифических маркеров (десмин, актин, виментин), способной к опухолевой трансформации. Склеротические изменения ткани при пневмокониозе являются зонами опухолевой трансдифференцировки. Фибробласты с изменённым фенотипом, а именно миофибробласты, способны давать начало росту недифференцированных мезенхимальных клеточных сообществ (опухолевая ткань), включая атипичные эпителиоциты, адипоциты, хондроциты и эндотелиоциты.

Выводы. Эпителиально-мезенхимальная трансформация может являться пусковым механизмом развития опухолевой трансформации из обширных фиброзированных зон у шахтёров с пылевой патологией лёгких. При этом главным этиологическим фактором опухолевой прогрессии являются активированные клетки фибропластического ряда.

Этика. Все исследования погибших шахтёров основывались на вторичной экспертизе блоков и готовых гистологических микропрепаратов (стёкол) материала бюро судебно-медицинской экспертизы г. Новокузнецка, г. Осинники, г. Прокопьевска. Исследования патоморфологического материала проводились строго на основании Федерального закона от 21.11.2011 г., № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», в частности статьи 67 «Проведение патологоанатомических вскрытий», Федерального закона от 12.01.1996 г., № 8-ФЗ «О погребении и похоронном деле» (статья 5 п. 1, 2), а также в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения от 29 апреля 1994 г. № 82 «О порядке проведения патологоанатомического вскрытия» (приложение к приказу Минздравмедпрома от 29.04.1994 г. № 82), Приказом Министерства здравоохранения России от 24.03.2016 г. № 179н «О правилах проведения патологоанатомических исследований».

Ключевые слова: шахтёры; пылевая патология лёгких; опухолевая трансформация лёгочной ткани; эпителиально-мезенхимальная трансформация; иммуногистохимическое исследование

Для цитирования: Бондарев О.И., Бугаева М.С., Михайлова Н.Н. Пневмосклеротические изменения в тканях лёгких как маркер опухолевой трансформации у работников основных профессий угольных шахт. *Мед. труда и пром. экол.* 2021; 61(10): 647–654. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2021-61-10-647-654>

Для корреспонденции: Бондарев Олег Иванович, старший научный сотрудник лаборатории охраны здоровья работающего населения, ФГБНУ «НИИ КПППЗ», канд. мед. наук. E-mail: gis.bondarev@yandex.ru

Участие авторов:

Бондарев О.И. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка данных, написание текста;

Бугаева М.С. — сбор и обработка данных, редактирование;

Михайлова Н.Н. — редактирование.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Дата поступления: 22.10.2021 / Дата принятия к печати: 25.10.2021 / Дата публикации: 18.11.2021

Oleg I. Bondarev^{1,2}, Maria S. Bugaeva^{1,2}, Nadezhda N. Mikhailova¹

Pneumosclerotic changes in lung tissues as a sign of tumor transformation in workers of the main professions of coal mines

¹Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, 23, Kutuzova Str., Novokuznetsk, Russia, 654041;

²Novokuznetsk State Institute for Further Training of Physicians — Branch Campus of the "Russian Medical Academy of Continuous Professional Education", 5, Stroiteley Ave., Novokuznetsk, Russia, 654005

Introduction. The workers of coal mines are characterized by a high level of not only occupational diseases, but also oncological diseases. Modern knowledge in the field of studying pneumoconiosis contains many contradictions in the assessment of the pathogenetic mechanisms of lung damage, in particular, the morphogenesis of neoplastic changes in the respiratory system at the final stage of the disease with pronounced sclerotic changes. The study is devoted to the occurrence and development of tumor tissue in the miners working in the underground conditions. The task is to identify morphological trigger mechanisms for the development of oncological pathology in miners, relying on pathomorphological, immunohistochemical studies of the changes in the epithelial tissue of the airways, as well as various cellular communities of the bronchi, blood vessels of the lungs and lung tissue parenchyma using the example of epithelial-mesenchymal transformation under dust load.

The purpose of this study was to determine the influence of the fibroplastic process on the development of oncological pathology in miners who worked in underground conditions.

Materials and methods. Histological, immunohistochemical and morphometric studies of the respiratory system obtained during 50 autopsy works of a group of Kuzbass miners working in underground conditions was carried out. Cancer of various localization and histogenetic affiliation was previously diagnosed in 20 miners. The mucous membrane of the bronchi, respiratory tissue of the lungs, arteries and veins of the pulmonary circulation were studied. Immunohistochemical study was performed using monoclonal antibodies (marker of proliferation Ki-67, oncogene of proapoptotic activity Bcl-2, growth and neoangiogenesis factors, endothelial function factors CD-31 and CD-34, marker of epithelial tissue cytokeratin (cyt), muscle tissue markers — actin, desmin, vimentin, connective tissue markers — collagen, laminin, markers of intercellular interactions EMA, SMA).

Results. Transformed fibroblasts, myofibroblasts are a cell population of dedifferentiated epithelial tissue with different expressions of nonspecific markers (desmin, actin, vimentin), capable of tumor transformation. Sclerotic tissue changes in pneumoconiosis are the areas of tumor transdifferentiation. Fibroblasts with an altered phenotype, namely myofibroblasts, are able to give rise to the growth of undifferentiated mesenchymal cell communities (tumor tissue), including atypical epithelial cells, adipocytes, chondrocytes and endotheliocytes.

Conclusions. Epithelial-mesenchymal transformation can be a triggering mechanism for the development of tumor transformation from extensive fibrosed zones in miners with dust lung pathology. In this case, the main etiological factor of tumor progression is activated fibroplastic cells.

Ethics. All studies of the dead miners were based on a secondary examination of blocks and ready-made histological micro-preparations (glasses) of the material of the Bureau for Forensic Medical Expert Examination in Novokuznetsk, Osinniki, Prokopyevsk. The studies of the pathomorphological material were carried out strictly on the basis of the Federal Law of November 21, 2011, No. 323-FZ "On the Fundamentals of Health Protection of Citizens in the Russian Federation", in particular Article 67 "Carrying out pathological and anatomical autopsies", Federal Law of January 12, 1996, No. 8-FZ "On burial and funeral business" (Article 5, paragraphs 1, 2), as well as in accordance with the Order of the Ministry of Health dated April 29, 1994, No. 82 "On the procedure for conducting pathological and anatomical autopsy" (Annex to the Order of the Ministry of Health and Medical Industry dated 04.29.1994, No. 82), the Order of the Ministry of Health of Russia dated 03.24.2016, No. 179n "On the rules for conducting pathological and anatomical examinations".

Keywords: miners; dust lung pathology; tumor transformation of lung tissue; epithelial-mesenchymal transformation; immunohistochemical study

For citation: Bondarev O.I., Bugaeva M.S., Mikhailova N.N. Pneumosclerotic changes in lung tissues as a marker of tumor transformation in workers of the main professions of coal mines. *Med. truda i prom. ecol.* 2021; 61(10): 647–654. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2021-61-10-647-654>

For correspondence: Oleg I. Bondarev, senior researcher of the working population health protection laboratory of the Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, Cand. of Sci. (Med.). E-mail: gis.bondarev@yandex.ru

Information about the authors: Bondarev O.I. <https://orcid.org/0000-0002-5821-3100>
Bugaeva M.S. <https://orcid.org/0000-0003-3692-2616>
Mikhailova N.N. <https://orcid.org/0000-0002-1127-6980>

Contribution:

Bondarev O.I. — concept and design of the study, Collection and processing of material, writing the text;

Bugaeva M.S. — collection and processing of material, editing;

Mikhailova N.N. — editing.

Funding. The study had no funding.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Received: 22.10.2021 / Accepted: 25.10.2021 / Published: 18.11.2021

Введение. Для работников угольных шахт и разрезов характерен высокий уровень не только профессиональных заболеваний, но и онкологических [1–4]. Современные знания в области изучения пневмокониоза (ПК) содержат много противоречий в оценке патогенетических механизмов поражения лёгких, в частности морфогенеза неопластических изменений в дыхательной системе на финальной стадии заболевания с выраженными склеротическими изменениями. Учёными выдвинуты различные теории развития как фиброза, так и опухолевой трансформации при данной патологии, однако большая часть склоняется к точке зрения неясности этиологии и запутанному пато-

генезу. При анализе литературы и результатов собственных исследований отмечено, что фиброзирование и опухолевая трансформация лёгочной ткани при воздействии неблагоприятных производственных факторов способны развиваться сочетано и взаимосвязано при отсутствии таких механизмов, как бактериальное воспаление, дистрофия и пр. [5–9]. При этом главными клеточными маркерами опухоли в условиях повреждающих факторов являются фибробласты.

Слизистая оболочка воздухоносных путей лёгких достаточно полно изучена в плане её гистоструктурных элементов, процессов эмбриогенеза и филогенеза её клеточ-

ных дериватов, а также способности к адаптивным процессам со стороны составляющих элементов. Компенсаторно-приспособительные процессы при воздействии различных патогенных факторов, включая производственные, подразумевают возможность глубокой структурной перестройки в необходимом и достаточном диапазоне для продолжения функциональной устойчивости всей системы в целом.

Несмотря на различные теоретические и практические подходы к проблеме возникновения опухолевой ткани в лёгких, природа многочисленных факторов происхождения последней до конца остаётся неясной. Большинство исследователей причинными факторами развития опухолевой ткани в лёгких считают бактериальную и вирусную инфекцию в сочетании с аутоиммунными реакциями. Имеются также указания на наследственный характер заболевания, которое встречается в нескольких поколениях одной семьи [10–12]. Важную роль играют иммунологические нарушения, что подтверждается нередким выявлением в крови больных ревматоидных и антигуклеарных факторов, повышенного содержания g-глобулинов и циркулирующих иммунных комплексов, а также обнаружением в интерстиции лёгких гистиолимфоцитарной инфильтрации. Среди многочисленных теорий возникновения опухолевой ткани, от механистических воззрений до иммунологических теорий, есть такие относительно редкие научные представления, как лекарственные повреждения.

Наша работа посвящена возникновению и развитию опухолевой ткани у работников угольной промышленности. В проведённом исследовании поставлена задача выявить морфологические триггерные механизмы развития онкологической патологии у шахтёров, опираясь на патоморфологические, иммуногистохимические исследования изменений эпителиальной ткани воздухоносных путей, а также различных клеточных сообществ бронхов, сосудов лёгких и паренхимы лёгочной ткани на примере эпителиально-мезенхимальной трансформации (ЭМТ) при пылевой нагрузке у работников угольной промышленности.

Общезвестно, что главным патоморфологическим фактором в дыхательной системе, приводящим к развитию ПК, а также опухолевой ткани, является фиброз всех структурных компонентов лёгочной ткани.

Фибропластические изменения в лёгких, по мнению некоторых учёных, обусловлены ЭМТ, при которой эпителиальные клетки реверсируют в фенотип клеток своих предшественников — фибробластов и миофибробластов, что в дальнейшем приводит к склерозу лёгочной ткани [13–15]. Сама фиброзная ткань является источником для формирования на её основе опухолевой ткани [16, 17]. На основании новейших научных исследований можно говорить об основном патологическом процессе при ПК, которым является фиброз тканевых структур, а формирование неопластических процессов рассматривать как закономерное продолжение развития фиброзной ткани при воздействии угольно-породной пыли (УПП). Различные биохимические и молекулярные механизмы регуляции способны определять направление клеточной дифференцировки из статически оседлых клеточных генераций в клетки миграционного типа с последующим развитием законченной статической оформленной ткани различной гистогенетической принадлежности, в том числе и опухолевой.

Как известно, у человека наиболее распространёнными вариантами «рака в рубце» являются следующие опухоли:

периферический рак лёгкого, рак печени на фоне цирроза, рак из хронической язвы желудка и двенадцатиперстной кишки, заболевания щитовидной железы.

Повышенный риск развития рака в зоне фиброзной трансформации может быть объяснён влиянием на процессы канцерогенеза клеточных генераций фиброзной ткани, в частности активированных фибробластов. При этом данные клетки становятся продуцентами для различных компонентов опухолевой ткани. Фибробласты играют роль в создании внеклеточного матрикса, а также перепрограммировании клеточного метаболизма тканей. Многие промышленные аэрозоли являются выраженным «стрессующим пусковым фактором», приводящим к развитию многочисленных механизмов повреждения с формированием и накоплением вредных метаболитов, токсического повреждения тканевых элементов и мембран клеток, нарушению проницаемости и мембранного переноса, выраженной тканевой гипоксии, коагуляционным нарушениям, склерозу и ремоделированию органов [13, 18, 19, 20, 21].

На сегодняшний день стало совершенно очевидно, что развитие злокачественной опухоли зависит от автономных нарушений клетки [14, 15, 22, 23]. В связи с этим нам предоставляется возможным рассмотреть механизмы формирования опухолевой ткани на основе склеротических изменений в лёгких у шахтёров с позиции ЭМТ.

Цель исследования — определить влияние фибропластического процесса на развитие онкологической патологии у шахтёров, работавших в подземных условиях.

Материалы и методы. Осуществлено гистологическое и морфометрическое исследование дыхательной системы, полученной при проведении 50 аутопсийных работ группы шахтёров Кузбасса (ГШ), работавших в подземных условиях. Профессии погибших относились к основным в угледобывающей отрасли (проходчик, горнорабочий очистного забоя, горнорабочий подземный, подземный электрослесарь, машинист горновыемочных машин, мастер участка). Набор материала проходил в период действия приказа № 302н «Об утверждении перечней вредных и(или) опасных производственных факторов и работ, при выполнении которых проводятся обязательные предварительные и периодические медицинские осмотры (обследования), и Порядка проведения обязательных предварительных и периодических медицинских осмотров (обследований) работников, занятых на тяжёлых работах и на работах с вредными и(или) опасными условиями труда». Все шахтёры на профосмотрах были признаны годными к работе и считались практически здоровыми. Вредный стаж работы шахтёров находился в диапазоне 6–35 лет. Среди всех аутопсийных исследований было зарегистрировано 20 случаев рака различной локализации и гистогенетической принадлежности. Рак лёгких был выявлен в 12 случаях, 4 случая рака желудка, 2 — рака печени, 2 — рака кишечника. Исходя из международной классификации *TNM* онкологических опухолей, все опухоли относились к IV стадии опухолевой прогрессии. Все случаи в качестве основного заболевания имели нозологическую принадлежность к II классу МКБ-10.

Предметом исследования были количественные гистологические, иммуногистохимические и морфометрические изменения слизистой бронхов, респираторной ткани лёгких с признаками ПК и опухолевой трансформации, доступные исследованию световой микроскопии. В исследование также были включены артерии и вены малого круга кровообращения. Иммуногистохимическое

исследование выполнялось с использованием моноклональных антител (маркер пролиферации *Ki-67*, онкоген проапоптотической активности *Bcl-2*, факторы роста и не-оангиогенеза, факторы эндотелиальной функции *CD-31* и *CD-34*, маркер эпителиальной ткани цитокератин (сyt), маркеры мышечной ткани: актин, десмин, виментин; маркеры соединительной ткани: коллаген, ламинин; маркеры межклеточных взаимодействий: *EMA*, *SMA*) по принятой методике. При проведении иммуногистохимического исследования бронхиального эпителия и фиброзной зоны лёгких шахтёров при ПК и опухолевой трансформации определялись неспецифические для нормальной ткани лёгких маркеры. Данный фактор явился весомой аргументацией в пользу фиброзной трансформации ткани лёгких как триггера развития опухолевой ткани.

В работе использовался стандартный иммуногистохимический метод с применением мультимерной безбиотин-новой системы детекции — *REVEAL Biotin-Free Polyvalent DAB* (производитель *Spring Bioscience*, США).

Результаты иммуногистохимической реакции оценивались по количественному проценту хромоген позитивных клеток в 10 полях зрения микроскопа, по 100 клеток в каждом, при различном увеличении. Количество клеток до «7» и не менее, чем в двух полях зрения, оценивали как слабо выраженную реакцию, от «10 до 15» в двух полях зрения — как умеренную реакцию, более «25» в двух полях зрения — резко выраженную реакцию. На основании имеющихся данных каждое свойство оценивалось по четырехбалльной шкале, (+) означал минимальное проявление признака, (+++++) — максимальное.

Морфометрическое измерение прямо- и криволинейных размеров структурных компонентов и их площадей проводилось на микроскопе *Nikon Eclipse E 200* с цифровой видеокамерой *Nikon digital sight — Fi1 (Japan)* с использованием компьютерной программы фирмы *West Medica HandelsgmbH — Bio Vision 4.0*, определяющей линейные размеры с точностью до 0,5 микрон (мкм). Оценивали диаметр каждого сосуда и бронха, на основании полученных результатов исследуемые структуры были разделены на группы. Измерялась толщина перибронхиального и периваскулярного фиброза. Линейные размеры в гистологических образцах измеряли многократно, в среднем — 10 раз, в связи с чем, количество измерений в несколько раз превышало количество исследуемых объектов. Морфометрически оценивалась площадь анаплазированных опухолевых клеток эпителия у шахтёров в зоне фиброзной трансформации.

Статистическая обработка данных проведена с использованием программного обеспечения *IBM SPSS Statistics 22* (лицензионный договор № 20/604/3–1 от 22.04.2016 г.). Нормальность распределения количественных признаков оценивали с помощью показателей эксцесса и асимметрии. Полученные данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (*Me* (25%;75%)). При отклонении распределения от нормального использовали непараметрический *U*-критерий Манна–Уитни для попарного сравнения стажированных групп шахтёров с группой контроля. Критический уровень значимости (*p*) для отклонения нулевой гипотезы принимали равным 0,05.

В соответствии с поставленными задачами исследования был определен круг вопросов, определяющий тематику нашего исследования, а именно: на основании проводимых морфологических и иммуногистохимических

исследований изучить особенности фиброза в процессах реверсивного превращения клеток ткани лёгкого в опухолевые; определить гистогенетические превращения фибробластов в миофибробласты, миграционные пути фенотипически изменённых эпителиальных клеток в легочном гистионе; выявить дегенеративные изменения коллагена базальных мембран как «тоннельные» трансмембранные пути в формировании склеротических изменений с последующим развитием опухолевой ткани; установить на основании иммуногистохимического метода участие фенотипически инверсионных эндотелиальных клеток сосудов, на основе изменений моноклональных антител *CD31(+)* и *CD34(+)*, в процессах фибропластической ремодуляции сосудов при ПК; определить количественное соотношение эндотелиальных клеток в сосудах лёгких в зависимости от степени морфологических изменений при ПК; выявить степень пролиферативной активности и миофибропластическую трансдифференцировку клеток бронхиального эпителия; выявить спектр межклеточных взаимосвязей и патоморфологические изменения пневмокониотических процессов на основе изучения экспрессии моноклональных антител *E* и *N* — кадгеринов у шахтёров; изучить пролиферативную активность клеточных сообществ при помощи определения антител к *Ki-67*, предназначенных для определения делящейся фракции клеток фазы *G1*, *S*, *M* и *G2* цикла; определить соединительнотканьные компоненты коллагена I и III, эластина в мышечной ткани бронхов и сосудов с использованием антител к *EMA*, *SMA*, фенотипическую инверсию эпителиальной ткани в фиброгенотипическую (онконаправленную) основу при помощи моноклональных антител десмина, виментина и актина.

Результаты и обсуждение. При проведённом исследовании было обнаружено, что в структуре лёгочной ткани шахтёров имела отчётливо прогрессирующая динамика морфологических изменений склеротического характера всех структурных составляющих лёгочного гистиона. Со стороны слизистой бронхов отмечались признаки субатрофических изменений, в мышечной ткани бронхов имелись выраженные гипертрофические изменения, в сосудах лёгких выявлялись гипертрофические и склеротические константы с неуклонным увеличением объёмных показателей эндотелиальной выстилки. В лёгких на фоне пылевых отложений различного объёма формировались крупноочаговые участки ателектазов и дистелектазов с тенденцией к формированию зон пневмосклероза. В зону фиброзной трансформации были вовлечены бронхи, средние и мелкие сосуды лёгких, а также плевра. На этом фоне при исследовании 12 аутопсий отмечались признаки метаплазии бронхиального эпителия, а также появление признаков атипии и анаплазии с формированием опухолевых конгломератов различного размера (*табл. 1*).

Все опухолевые случаи относились к IV стадии развития. В слизистой бронхов имело место усиление экспрессии виментина в цитоплазме бронхиального эпителия не только с положительной хромогенной окраской, но и с морфологическими признаками изменением формы клеток, потерей межклеточных контактов, изменением полярности клеток. Интенсивность экспрессии виментина была неоднородной не только в различные сроки профессиональной деятельности, но и в топографическом распределении. Умеренная экспрессия виментина наблюдалась в центральных отделах лёгких, более высокая отмечалась в дистальных зонах. В крупных долевых бронхах лёгко-

Таблица 1 / Table 1

Периваскулярный фиброз в сосудах различного калибра в группах контроля и шахтёров, мкм
Perivascular fibrosis in vessels of various sizes in the control and miner groups, micron

Группа шахтёров, n=15 (стаж работы 6–11 лет)		Группа шахтёров n=15 (стаж работы 12–20 лет)		Группа шахтёров n=20 (стаж работы более 20 лет)		Контрольная группа, n=25
Me (25%; 75%)	U-критерий Манна-Уитни, p	Me (25%; 75%)	U-критерий Манна-Уитни, p	Me (25%; 75%)	U-критерий Манна-Уитни, p	Me (25%; 75%)
Сосуды диаметром до 50 мкм						
9,62 (7,75; 12,01)	U=-5,14 p=0,001	9,72 (8,19; 14,53)	U=-4,88 p=0,001	12,69 (10,7; 14,82)	U=-4,88 p=0,001	2,49 (2,07; 3,02)
Сосуды диаметром от 100 до 250 мкм (артерии)						
16,21 (12,1; 26,95)	U=-7,19 p=0,001	33,1 (24,35; 40,96)	U=-7,19 p=0,001	18,6 (16,74; 24,89)	U=-6,77 p=0,001	2,32 (1,86; 3,33)
Сосуды диаметром от 100 до 250 мкм (артерии)						
36,24 (25,25; 46,7)	U=-7,03 p=0,001	38,58 (33,29; 44,68)	U=-6,61 p=0,001	23,4 (14,48; 27,81)	U=-6,07 p=0,001	2,95 (1,71; 5,63)

го экспрессия виментина была умеренной независимо от стажа работы, с незначительным увеличением в поздних стадийных группах. При этом имелось определенное снижение окрашивания цитоплазматических рецепторных зон (EMA и SMA в проекции фенотипически изменённых клеточных сообществ с положительной реакцией). В стенках крупных бронхов имелись признаки замещения части мышечных волокон соединительнотканью элементами (положительная детекция антител ЕМА для определения коллагенизации мышечной ткани).

С целью определения различных гистогенетических механизмов заместительного фиброза в тканях, наряду с общепринятыми маркерами, мы исследовали функцию апоптоза, а также маркеры пролиферативной активности в ткани лёгких. Для определения проапоптотической и пролиферативной функций нами были использованы моноклональные антитела к Bcl-2, Ki-67. В круг исследования были взяты эпителиальные элементы бронхов, клетки мышечного массива и перимизия, элементы сосудистого гистиона, стромальных элементов лёгких. В результате проведённых исследований была отмечена экспрессия Ki-67 в структурных элементах лёгкого и только в очагах метаплазии бронхиального эпителия с хромогенной прокраской клеток. В зоне опухолевой трансформации экспрессия Ki-67 была умеренно выраженной. Трансформированные при опухолевом росте клетки бронхиального эпителия составляли от 166,1 мкм² до 524,3 мкм², в среднем имея значения 360,1 мкм². Изменённые пылевой патологией имели размеры от 95,1 мкм² до 125,2 мкм², в среднем 158,2 мкм². Таким образом, в среднем площадь анаплазированных опухолевых клеток эпителия у шахтёров в зоне фиброзной трансформации при пылевой нагрузке была увеличена в 2,2 раза при сравнении этих показателей с метаболически и дистрофически изменённым эпителием в зоне фиброза у шахтёров без опухолевой ткани. Данный показатель свидетельствовал о повышении функциональной активности метаплазированных клеток и переходе их в качественно новые опухолевые клеточные типы. Усиление экспрессии хромоген-позитивного материала, в зонах опухолевой ткани, а также количественные изменения объёма клеток были характерной особенностью при опухолевой прогрессии у работников угольной промышленности.

В просвете альвеол имелись признаки макрофагально-го воспаления и скопления гемосидерофагов, что может

служить диагностическими признаками формирующихся гранул при ПК как предвестника предфибротического изменения ткани. Межальвеоларные перегородки были резко утолщены за счёт фиброзной ткани и отложений пылевых частиц. В лёгких имелась перикалировка сосудов с резким изменением количественных показателей всех составляющих её элементов. Утолщение стенок как артерий, так и вен было обусловлено выраженной гипертрофией гладкомышечной ткани, значительно в сосудах артериального типа, а также склеротическими изменениями. Гладкомышечные волокна достоверно утолщены с наложением части мышечных волокон друг на друга и формированием элементов повышенной клеточности составляющего мышечного компонента. Ядра мышечных клеток были гиперхромные, достоверно увеличены в объёме. Вокруг сосудов в периваскулярной зоне имелись выраженные признаки периваскулярного фиброза с частичной деформацией просветов сосудов лёгочного и бронхиального типа, с отложением пылевых частиц в этих пространствах. Характерной особенностью у шахтёров было наличие типичного резко выраженного периваскулярного склероза. В зонах склероза, выходящих за пределы сосудистого гистиона, при иммуногистохимическом исследовании чётко определялись отдельные клетки, а также группы клеток с положительной детекцией маркеров эндотелия CD-31 и CD-34, с признаками повышенной функциональной активности фибробластов (табл. 2). CD+ позитивные клеточные элементы отличались по видовой характеристике от клеточных элементов воспалительного и иммунологического типа. Клетки имели характерную вытянутую форму, различное направление без определенной гистиотопграфии, острые апикальные клеточные края. Клетки CD+ положительной детекции в соединительнотканых участках по ходу бронхов и сосудов лёгкого были в умеренном количестве без формирования фолликулярных структур, характерных для иммунологических реакций. Сам фиброзный каркас был склонен к изменению своей основы с признаками новообразования и дегенерации части каркасной структуры соединительной ткани. CD+ позитивные клетки формировали крупноочаговые зоны, их форма соответствовала зрелым типичным коллаген-продуцирующим элементам, т. е. активным фибробластам. Сосуды всех калибров с резко утолщёнными стенками. В сосудах диаметром 50–100 мкм фиброз имел значительные характеристики (табл. 3).

Таблица 2 / Table 2

Иммуногистохимические маркеры опухолевой ткани в зонах фиброза
Immunohistochemical markers of tumor tissue in the areas of fibrosis

Элементы гистиона	Цитокекратин (СК-7, СК-8, СК-18, СК-20) маркеры эпителиальной ткани	Bcl-2 — белки проапоптотической активности	ЕМА и SMA — фиброз в мышечной ткани бронхов и сосудов	Антитела к коллагену III типа	Ki-67 индекс пролиферативной активности	Антигены мышечно-го профиля (виментин, десмин, актин)	CD34 и CD31 — факторы эндотелиальной функции
Базальная мембрана бронхов	+	—	—	++++	—	—	—
Перебронхиальный склероз	++	+	++	—	+	++++	+
Периваскулярный склероз	+	++	++	—	++	+	+++
Зоны очагового склероза	++	+	++	+	+	++	++

Таблица 3 / Table 3

Перибронхиальный фиброз в бронхах различного калибра в группах контроля и шахтёров, мкм
Peribronchial fibrosis in the bronchi of various sizes in the control and miner groups, micron

Группа шахтёров, n=15 (стаж работы 6–11 лет)		Группа шахтёров n=15 (стаж работы 12–20 лет)		Группа шахтёров n=20 (стаж работы более 20 лет)		Контрольная группа, n=25
Me (25%; 75%)	U-критерий Манна–Уитни, p	Me (25%; 75%)	U-критерий Манна–Уитни, p	Me (25%; 75%)	U-критерий Манна–Уитни, p	Me (25%; 75%)
Бронхи диаметром до 500 мкм						
36,46 (13,71; 63,09)	U=–6,91 p=0,001	36,27 (21,05; 56,99)	U=–6,9 p=0,001	38,01 (34,04; 43,62)	U=–5,41 p=0,000	7,61 (6,26; 8,36)
Бронхи диаметром от 500 до 1500 мкм						
70,66 (56,57; 100,4)	U=–5,48 p=0,001	150,07 (112,26; 182,79)	U=–4,44 p=0,001	101,26 (71,68; 128,67)	U=–6,94 p=0,001	8,63 (6,58; 11,7)

Кроме зон склероза в периваскулярных пространствах имелись частицы пыли с циркулярным характером «луковичных» структур. Пылевые частицы в виде крупных солидных зон располагались между соединительнотканскими элементами, тесно прилегали к адвентициальным элементам сосудов. Часть пылевых частиц встречались непосредственно в просветах сосудов. В 12 случаях с опухолевыми изменениями в лёгких участки фиброза входили в тесные взаимоотношения друг с другом. Эндотелиальные клетки значительно изменены в сторону увеличения ядерного компонента с пролабированием некоторых ядер в просвет сосудов, с изменением их объёма в сосудах диаметром до 50 мкм. Бронхи дилатированные с резким утолщением стенок за счёт гипертрофии мышечного слоя. Мышечные волокна извитой формы, увеличены в объёме, утолщены. Между отдельными мышечными волокнами отмечалось разрастание фиброзных прослоек, формирующих петлистую структуру соединительного межмышечного каркаса. Наряду с формированием соединительнотканских процессов, в бронхах отмечались признаки дезорганизации фиброзного каркаса с дегенеративными процессами коллагеновых волокон. Специфические окраски на степень зрелости соединительной ткани по Касону выявляли признаки прогрессирования соединительнотканной сети. В части бронхов имелись признаки плоскоклеточной метаплазии. Базальная мембрана характеризовалась нечёткими контурами с изменением окраски основного элемента коллагеновой основы. На отдельных участках базальная мембрана была гомогенизирована, ча-

стично расслоена с появлением фенестрированных зон и единичными фибробластоподобными элементами. Неясность контуров и метакромазия базальной мембраны, вероятнее всего, являлись единым патогенетическим звеном в формировании как склеротических изменений в лёгких, так и опухолевой прогрессией, связанной с появлением феномена ЭМТ. Изменения в тканевом гистионе у шахтёров характеризовались выраженными обменно-дистрофическими процессами со стороны соединительнотканного каркаса в условиях воздействия УПП и прогрессирующими признаками дезорганизации коллагеновой основы базальных мембран. При иммуногистохимическом исследовании как в самой фиброзной ткани, так и опухолевой зоне, мы наблюдали положительную экспрессию цитокератинов, а также маркеров эндотелиальной ткани, что могло свидетельствовать о гистогенетической принадлежности фибробластов и миофибробластов из трансформированной ткани бронхов либо сосудов на основе ЭМТ (табл. 2).

Выводы:

1. Трансформированные фибробласты, миофибробласты являются клеточной популяцией дедифференцированной эпителиальной ткани с различной экспрессией неспецифических маркеров (десмин, актин, виментин), способной к опухолевой трансформации.

2. Выраженные склеротические изменения ткани при пневмокониозе являются зонами повышенной активности клеток фибропластического ряда, способных к опухолевой трансдифференцировке.

3. Фибробласты с изменённым фенотипом, а именно миофибробласты, способны давать начало росту недифференцированных мезенхимальных клеточных сообществ (опухолевая ткань), включая атипические эпителиоциты, адипоциты, хондроциты и эндотелиоциты.

4. Эпителиально-мезенхимальная трансформация может являться пусковым механизмом развития опухолевой трансформации из обширных фиброзированных зон у шахтёров с пылевой патологией лёгких. Главным этиологическим фактором опухолевой прогрессии являются активированные клетки фибропластического ряда.

Список литературы

- Ханин А.А., Чернушенко Т.И., Морозова Г.В., Савельева И.А. Распространённость респираторных симптомов и возможности выявления хронической обструктивной болезни лёгких в шахтерском городе Кузбасса. *Пульмонология*. 2012; (3): 59–62. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2012-0-3-59-62>
- Петров Г.П., Петров А.Г., Семенихин В.А. Методические подходы к оценке индивидуального качества жизни работающих в угольной отрасли. *Мед. труда и пром. экол.* 2015; (5): 22–5.
- Рогалис В.С., Павленко М.В., Шилов А.А. Сочетание воздействия угольной пыли и радиации на здоровье шахтёров. *Горн. инф.-анал. бюл.* 2016; (3): 109–20.
- Ханин А.А., Андреева М.А., Шутникова Г.А. Анализ распространённости общесоматической патологии и профессиональной патологии у рабочих угольных шахт и разрезов шахтёрского города Кузбасса. *Вестн. соврем. клин. мед.* 2016; 9(5): 56–60.
- Величковский Б.Т. Патогенез и классификация пневмокониозов. *Мед. труда и пром. экол.* 2003; (7): 8–13.
- Савченко Я.А., Минина В.И., Баканова М.Л., Глушков А.Н. Генотоксические и канцерогенные эффекты воздействия факторов производственной среды угледобывающей и углеперерабатывающей индустрии. *Генетика*. 2019; 55(6): 643–54. <https://doi.org/10.1134/S0016675819060158>
- Екимовских А.В., Данцигер Д.Г., Чурляев Ю.А., Епифанцева Н.Н., Херингсон Л.Г., Золоева О.С. и др. Содержание маркеров дисфункции сосудистого эндотелия у шахтёров. *Политравма*. 2012; (1): 59–64.
- Моргункова А.А. Семейство генов p53: контроль клеточной пролиферации и программ развития организма. *Биохимия*. 2005; 70(9): 1157–76.
- Thiery J.P., Acloque H., Huang R.Y.J. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*. 2009; 139(5): 871–90. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.11.007>
- Путов Н.В., Илькович М.М. *Фиброзирующие альвеолиты*. Л.: Медицина; 1986.
- Yang I.A., Holloway J.W., Fong K.M. Genetic susceptibility to lung cancer and co-morbidities. *J Thorac Dis*. 2013; 5(5): 454–62. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2072-1439.2013.08.06>
- Хоменко А.Г., Мюллер Ст., Шиллинг В., ред. *Экзогенный аллергический альвеолит*. М.: Медицина; 1987.
- Tomasek J.J., Gabbiani G., Hinz B., Chaponnier C., Brown R.A. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002; (3): 349–63. <https://doi.org/10.1038/nrm809>
- Василенко И.В., Брук Б.Б., Гуляков Ю.К., Кондратюк Р.Б., Запорожченко Н.В., Щукина Е.В. Эпителиально-мезенхимальная и другие трансформации в норме и патологии. *Патология*. 2009; 6(2): 4–10.
- Разумов В.В., Бондарев О.И. *Методологические проблемы изучения пневмокониоза и пылевого бронхита: прошлое и настоящее*. Новокузнецк; 2012.
- Kalluri R., Zeisberg M. Fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2006; 6(5): 392–401. <https://doi.org/10.1038/nrc1877>
- Öhlund D., Elyada E., Tuveson D. Fibroblast heterogeneity in the cancer wound. *J Exp Med*. 2014; 211(8): 1503–23. <https://doi.org/10.1084/jem.20140692>
- Grum-Schwensen B., Klingelhofer J., Berg C.H., El C., Grigorian M., Lukanidin E. et al. Suppression of tumor development and metastasis formation in mice lacking the S100A4(mts1) gene. *Cancer Res*. 2005; 65(9): 3772–80. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-4510>
- Dominici M., Blanc K.L., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F.C., Krause D.S. et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The international Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006; 8(4): 315–7. <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>
- Dvorak H.F. Tumors: wounds that do not heal-redux. *Cancer Immunol Res*. 2015; 3(1): 1–11. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-14-0209>
- Darby I.A., Laverdet B., Bonté F., Desmoulière A. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2014; (7): 301–11. <https://doi.org/10.2147/CCID.S50046>
- Kalluri R., Weinberg R.A. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest*. 2009; 119(6): 1420–8. <https://doi.org/10.1172/JCI39104>
- Scheel C., Weinberg R.A. Cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transition: Concepts and molecular links. *Semin Cancer Biol*. 2012; 22(5–6): 396–403. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2012.04.001>

References

- Khanin A.L., Chernushenko T.I., Morozova G.V., Savelyeva I.A. Prevalence of respiratory symptoms and detection of chronic obstructive pulmonary disease in a mining town of Kuzbass region. *Pulmonologiya*. 2012; (3): 59–62. <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2012-0-3-59-62> (in Russian).
- Petrov G.P., Petrov A.G., Semnikhin V.A. Methodic approaches to evaluation of individual life quality of coal industry workers. *Med. truda i prom. ekol.* 2015; (5): 22–5 (in Russian).
- Rogalis V.S., Pavlenko M.V., Shilov A.A. Combination of exposure to coal dust and radiation on the health of miners. *Gornyy informatsionno-analiticheskiy byulleten'*. 2016; (3): 109–20 (in Russian).
- Khanin A.L., Andreyanova M.A., Shutnikova G.A. The distribution of somatic and occupational diseases in colliers of Kuzbass. *Vestnik sovremennoy klinicheskoy meditsiny*. 2016; 9(5): 56–60 (in Russian).
- Velichkovskiy B.T. Pathogenesis and classification of dust diseases. *Med. truda i prom. ekol.* 2003; (7): 8–13 (in Russian).
- Savchenko Y.A., Minina V.I., Bakanova M.L., Glushkov A.N. Genotoxic and carcinogenic effects of exposure to factors of the working environment of the coal mining and coal processing industry. *Genetika*. 2019; 55(6): 643–54. <https://doi.org/10.1134/S0016675819060158> (in Russian).
- Yekimovskikh A.V., Dantsiger D.G., Churlyayev Yu.A., Yepifantseva N.N., Kheringson L.G., Zoloeva O.S. et al. Contents of markers of dysfunction of vascular endothelium in miners. *Politramma*. 2012; (1): 59–69 (in Russian).
- Morgunkova A.A. The p53 gene family: control of cell proliferation and developmental programs. *Biochemistry (Moscow)*. 2005; 70(9): 955–71. <https://doi.org/10.1007/>

- s10541-005-0210-4
9. Thiery J.P., Acloque H., Huang R.Y.J. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell*. 2009; 139(5): 871–90. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.11.007>
10. Putov N.V., Il'kovich M.M. *Fibrosing Alveolitis*. Leningrad: Meditsina; 1986 (in Russian).
11. Yang I.A., Holloway J.W., Fong K.M. Genetic susceptibility to lung cancer and co-morbidities. *J Thorac Dis*. 2013; 5(5): 454–62. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2072-1439.2013.08.06>
12. Khomenko A.G., Müller St., Schilling W., eds. *Exogenous Allergic Alveolitis*. Moscow: Meditsina; 1987 (in Russian).
13. Tomasek J.J., Gabbiani G., Hinz B., Chaponnier C., Brown R.A. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002; (3): 349–63. <https://doi.org/10.1038/nrm809>
14. Vasilenko I.V., Bruk B.B., Gulkov Yu.K., Kondratyuk R.B., Zaporozhchenko N.V., Shchukina E.V. Epithelial-mesenchymal and other transformations in norm and pathology. *Patologia*. 2009; 6(2): 4–10 (in Russian).
15. Razumov V.V., Bondarev O.I. *Methodological problems of studying pneumoconiosis and dust bronchitis: past and present*. Novokuznetsk; 2012 (in Russian).
16. Kalluri R., Zeisberg M. Fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2006; 6(5): 392–401. <https://doi.org/10.1038/nrc1877>
17. Öhlund D., Elyada E., Tuveson D. Fibroblast heterogeneity in the cancer wound. *J Exp Med*. 2014; 211(8): 1503–23. <https://doi.org/10.1084/jem.20140692>
18. Grum-Schwensen B., Klingelhofer J., Berg C.H., El-Naaman C., Grigorian M., Lukanidin E. et al. Suppression of tumor development and metastasis formation in mice lacking the S100A4(mts1) gene. *Cancer Res*. 2005; 65(9): 3772–80. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-4510>
19. Dominici M., Blanc K. Le., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F.C., Krause D.S. et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The international Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006; 8(4): 315–7. <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>
20. Dvorak H.F. Tumors: wounds that do not heal-redux. *Cancer Immunol Res*. 2015; 3(1): 1–11. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-14-0209>
21. Darby I.A., Laverdet B., Bonté F., Desmoulière A. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2014; (7): 301–11. <https://doi.org/10.2147/CCID.S50046>
22. Kalluri R., Weinberg R.A. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest*. 2009; 119(6): 1420–8. <https://doi.org/10.1172/JCI39104>
23. Scheel C., Weinberg R.A. Cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transition: Concepts and molecular links. *Semin Cancer Biol*. 2012; 22(5–6): 396–403. <https://dx.doi.org/10.1016/j.semcancer.2012.04.001>