

УДК 616-006.81-08-085.849.19

К.Г. Москалик, Л.Н. Алексеева, О.Ф. Чепик, В.И. Новик,  
Р.И. Вагнер, А.П. Козлов

## Морфологические изменения в меланомах кожи человека при лечении импульсным лазерным излучением

ГУН НИИ онкологии им. проф. Н.Н. Петрова Росздрава, г. Санкт-Петербург

*Ключевые слова: меланома кожи, импульсное лазерное излучение, морфологические изменения*

Импульсное лазерное излучение является эффективным средством лечения плоских или слегка возвышающихся меланом кожи [2, 12]. В литературе имеется ряд сообщений о морфологических изменениях в нормальных тканях и экспериментальных опухолях, облученных воздействием разных типов лазеров [4–6, 10, 11]. В то же время сведений о патоморфологических изменениях в меланомах кожи человека, подвергшихся воздействию импульсного излучения неодимового лазера, вообще нет.

**Цель исследования** – изучение характера морфологических изменений в меланомах кожи человека, появляющихся при их лечении импульсным излучением неодимового лазера.

### Материал и методы исследования

Морфологическое исследование меланом кожи с использованием гистологического и цитологического методов проведено у 12 больных с плоскими или возвышающимися на 2–3 мм над кожей опухолями. В 4 случаях была эпителиоидно-клеточная меланома, в 2 – веретенчатая и в 6 – смешанно-клеточная. Морфологическое изучение меланом кожи проводили до облучения и непосредственно после воздействия на опухоль 1–2 импульсов лазерного излучения, а также через 1 ч, 1, 2 и 3 сут после их лечения по разработанной методике [1] излучением лазерных установок «Пульсар-1000» и «Пульсар-1000М». Длина волны 1060 нм, длительность импульса 1 и 4,5 мс, плотность энергии в импульсе 350–450 Дж/см<sup>2</sup>. Через 2, 3 и 4 мес. после лечения исследовали также рубцы, возникшие на месте меланом кожи, облученных воздействием лазера.

До лечения изучали отпечатки, соскобы с изъязвленной поверхности и пунктаты меланом кожи. После облучения – соскобы и биоптаты, полученные сразу же после воздействия на опухоли лазерным излучением, а при исследовании изменений в динамике – иссеченные хирургическим путем препараты меланом кожи, подвергнутые лечению лучом лазера. Исследовали также соскобы с поверхности ран, возникших после отторжения корки, образовавшейся в результате воздействия на опухоль и окружающую здоровую кожу лазерным излучением. Гистологические и цитологические препараты окрашивали общепринятыми методами.

### Результаты исследования и обсуждение

При гистологическом исследовании меланом кожи, непосредственно подвергнутых облучению в зоне действия луча лазера, определялся некроз ткани с четкими границами. Опухоль полностью теряла структуру и превращалась в детрит, состоящий из скоагулированных клеток с многочисленными щелями и лакунами различных размеров. Вблизи участка некроза определялись разной степени выраженности, в зависимости от расположения по отношению к некрозу, дистрофические изменения клеток, а также повреждения волокнистых структур (рис. а). Дистрофические изменения были обнаружены как в ядрах, так и в цитоплазме клеток. Повреждения клеточных ядер чаще всего проявлялись в пикнозе. Ядра клеток сморщивались, уменьшались в объеме, становились гиперхромными. Многие из них, как и сами клетки, приобретали вытянутую веретенообразную форму. В ядрах можно было наблюдать вакуолизацию, при этом вакуоли были как единичными, так и множественными, сливающимися между собой. Такие ядра клеток не становились гиперхромными, а оставались бледными, форма их обычно была неправильной.

Повреждение цитоплазмы также проявлялось возникновением одиночных или множественных вакуолей, которые часто соединялись между собой, иногда вся цитоплазма запуседала и ядра оказывались как бы «взвешенными» в пустоте, окруженной клеточной оболочкой.

Наиболее типичным изменением цитоплазмы было полное ее исчезновение, особенно вблизи зоны действия лазерного излучения. В ряде случаев ткань меланомы теряла клеточную структуру и состояла из множественных, сливающихся между собой пузырьков. Часть из них была пустая, часть заполнена белковой эозинофильной массой (рис. б).

Межклеточные пространства в облученных меланомах были заполнены форменными элементами крови – эритроцитами и в меньшем количестве сегментоядерными лейкоцитами, большая часть которых находилась в состоянии распада. Кровеносные и лимфатические капилляры были резко расширены, имели неправильную форму, просвет их был заполнен эритроцитарно-лейкоцитарными стазами (рис. в). Наблюдался некроз мелких артерий и вен с их перфорацией и кровоизлиянием в стенку. Иногда стенки кровеносных



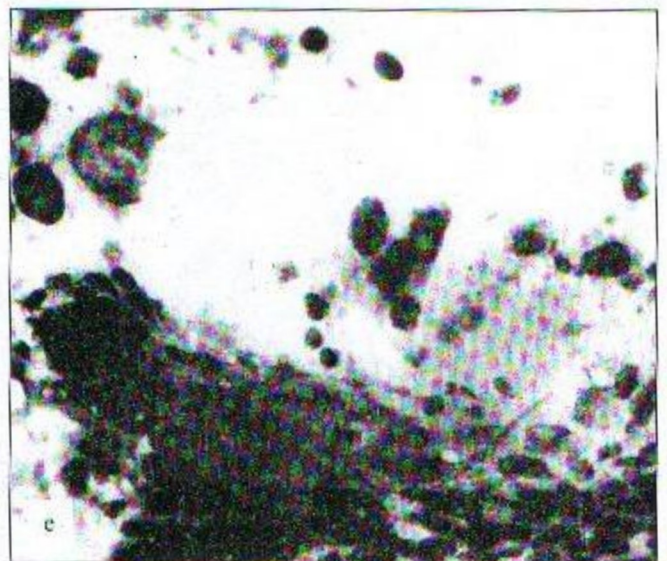
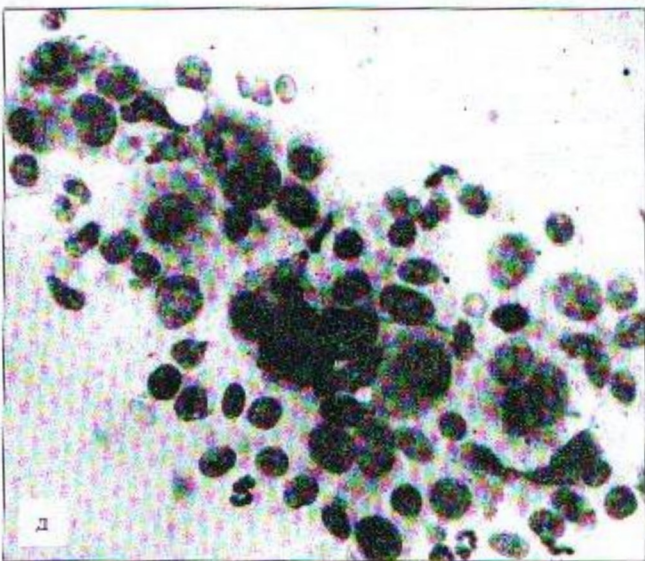
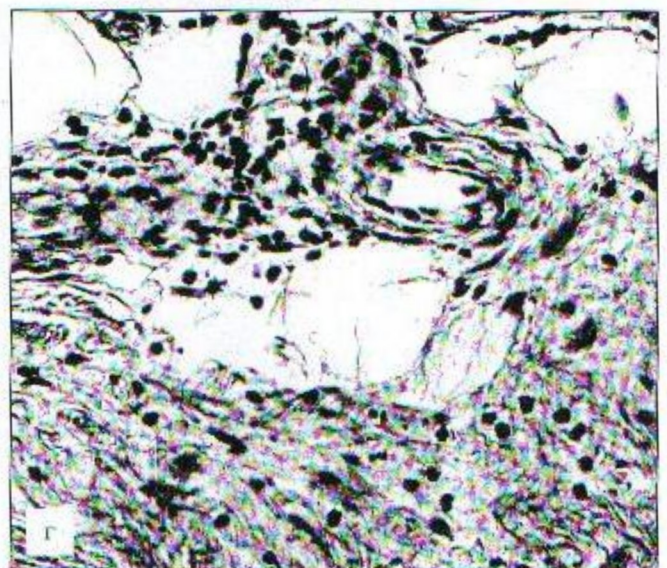
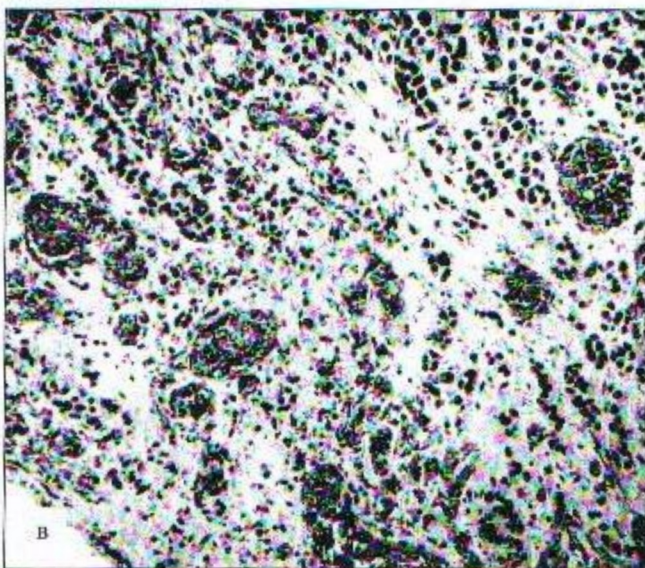
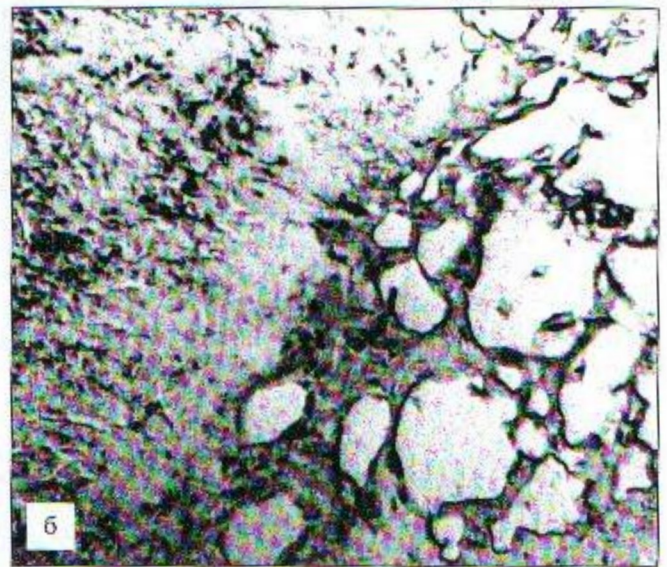
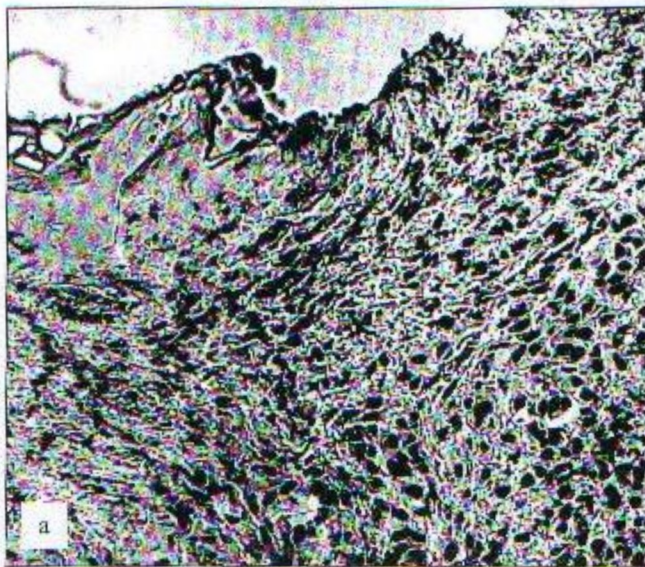


Рис. Морфологические (а–z) и цитологические (д, е) изменения в меланоме кожи человека, облученной импульсным воздействием неодимового лазера. Окраска гематоксилином п эозином: а – некроз и дистрофические изменения опухолевых клеток.  $\times 150$ ; б – потеря опухолевой тканью клеточной структуры и образование пузырьков.  $\times 57$ ; в – расширенные кровеносные и лимфатические сосуды, стазы.  $\times 150$ ; z – некротизированные коллагеновые волокна дермы.  $\times 200$ ; д – изолированное расположение клеток меланомы в мазке до лечения.  $\times 450$ ; е – цитологическая картина после облучения лазером: расположение опухолевых клеток в виде пучков, наличие голых ядер.  $\times 450$ .



сосудов превращались в гомогенную эозинофильную бесструктурную массу. В просвете многих кровеносных сосудов имелись свежие тромбы, представляющие собой свертки фибрина с распадающимися лейкоцитами и эритроцитами.

На гистологических препаратах, полученных через 1 ч после облучения меланом лазерным излучением, опухолевые клетки не обнаруживались. В зоне лазерного воздействия эпидермис отсутствовал, а в дерме — умеренный отек. Были видны коллагеновые волокна дермы с явлениями коагуляционного некроза (рис. г), между ними встречались единичные макрофаги с меланином. Сосуды как дермы, так и подкожной жировой клетчатки расширены, с кровоизлияниями вокруг и эритроцитарно-лейкоцитарными стазами. Сальные и потовые железы, а также волосяные фолликулы в состоянии некробиоза. По периферии придатков кожи и сосудов наблюдалась умеренная инфильтрация из малых лимфоцитов с примесью сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов. Для прилежащего к очагу поражения участка эпидермиса характерны явления атрофии и дезорганизации структуры за счет фиброза сопочкового слоя дермы.

Спустя 1 сут после воздействия на меланому кожи лазерным излучением эпидермис на большом протяжении отсутствовал. Под ним коллагеновые волокна и придатки кожи в состоянии коагуляционного некроза. Сосуды расширены и переполнены кровью, в отдельных из них — свежие тромбы. Периваскулярно определялась незначительная инфильтрация из малых лимфоцитов и небольшого количества нейтрофильных лейкоцитов. В одном случае в некротических массах определялись очаги дистрофически измененных опухолевых клеток. Под этими опухолевыми зонами располагался слой дермы с некротизированными коллагеновыми волокнами и полями отека. Эпидермис на границе с очагом повреждения атрофичен, слои дермы не различимы.

При исследовании через 2 сут после облучения меланомой кожи воздействием лазера на месте опухоли выявлялся коагуляционный некроз эпидермиса, дермы и придатков кожи с геморрагическим пропитыванием поврежденных структур и кровоизлияниями. Кровеносные сосуды переполнены кровью, отдельные из них с разрывами стенок. Незначительная инфильтрация из малых лимфоцитов по периферии сосудов. Прилежащий к очагу поражения участок эпидермиса в состоянии атрофии.

На гистологических препаратах через 3 сут после лечения меланомой кожи лазерным излучением определялся участок коагуляционного некроза, захватывающий все слои кожи, а также частично подкожную жировую клетчатку. В од-

ном наблюдении в крупном сосуде подкожной жировой клетчатки определялся свежий тромб. В глубоких отделах дермы и в подкожной жировой клетчатке преимущественно вокруг сосудов и придатков кожи выявлялась умеренная инфильтрация из малых лимфоцитов, сегментоядерных нейтрофильных лейкоцитов и плазмочитов. В одном случае в струпье были обнаружены комплексы клеток меланомы с дистрофическими изменениями. В поверхностных отделах коагуляционного некроза было большое количество бурого пигмента.

С целью изучения структурных изменений, возникающих в меланомах под влиянием импульсного лазерного излучения, производили также цитологическое исследование опухолей. Анализ морфологических повреждений проводили в сравнении с исходным материалом у одного и того же больного. При сопоставлении цитологической картины мазков до лечения и непосредственно после облучения меланомой кожи воздействием лазера отмечались значительные изменения в клеточном составе мазка и структуре опухолевых клеток. В препаратах, приготовленных после облучения, заметно снижалось количество меланобластов, наблюдалось преимущественное расположение их в виде скоплений и пучков, в то время как до лечения опухолевые клетки большей частью располагались изолированно (рис. д, е). Обнаруживались волокнистые структуры. Клетки имели различные признаки повреждения: обеднение ядер хроматином и их просветление, окраска цитоплазмы становилась также более бледной, выявлялось много «голых» ядер. В отдельных опухолевых клетках, наоборот, наблюдалось уплотнение и более интенсивное окрашивание клеточной субстанции, появление множественных вакуолей в цитоплазме, придающих ей ажурный «пенистый» вид. Обращает на себя внимание изменение формы опухолевых клеток. При эпителиоидно-клеточных и смешанных меланомах кожи после воздействия лазерного излучения в мазках обнаруживали веретенообразные клетки, содержащие вытянутые, овальные и палочковидные ядра. Фон препарата был представлен гемолизированными эритроцитами, лейкоцитами, бесструктурными массами, гранулами пигмента.

В мазках, взятых со дна раны, образовавшейся после отторжения корки, содержались лейкоциты, гистиоциты, макрофаги, «голые» ядра, отдельные клетки с трудноразличимыми контурами — «тени» клеток. Подобная цитологическая картина свидетельствовала о радикальности излечения опухоли. Однако в единичных случаях (на этапе выработки показаний к импульсной лазерной терапии меланомой кожи) в мазках с поверхности раны обнаруживались опухолевые клетки без выраженных де-



генеративных изменений, что служило основанием для проведения второго сеанса облучения.

При серийном гистологическом исследовании препаратов эпителизированной раны спустя 2 мес. после лечения меланомы кожи импульсным лазерным излучением в рубцовой ткани определялись очаговые лимфоидные инфильтраты, располагающиеся преимущественно вокруг сосудов [7]. В рубцах, иссеченных через 3 и 4 мес. после облучения лазером меланомой кожи, в дерме и подкожной жировой клетчатке выявлялся грубоволокнистый фиброз с очаговыми лимфоплазматическими инфильтратами и единичными гигантскими клетками инородных тел. При этом ни в одном из срезов опухолевых клеток обнаружено не было.

Характер патоморфологических изменений, возникающих под влиянием импульсного излучения неодимового лазера, до сих пор был изучен лишь в эксперименте [4–6]. Изучению подвергались перевивные и индуцированные опухоли, а также кожа, мышцы, печень и другие органы лабораторных животных. Наблюдавшиеся нами гистоморфологические изменения в облученных импульсным лазерным воздействием меланомой кожи человека идентичны тем изменениям, которые появляются под влиянием этого вида излучения в экспериментальных опухолях и нормальных тканях.

Морфологические изменения в тканях, вызванные импульсным лазерным излучением, во многом подобны термическому некрозу [3, 5]. Возникающие под влиянием лазерного излучения изменения формы клеток и ядер, окруженных «пустыми» пространствами, аналогичны изменениям, вызванным термическим ожогом. Это обусловлено тем, что противоопухолевое действие импульсного лазерного излучения, примененного для лечения меланомой кожи человека, в основном определяется термическим и кинетическим эффектами. Однако благодаря кратковременности действия импульса и его высокой энергетической плотности повреждения, возникающие под влиянием лазерного излучения, имеют ряд особенностей, отличающих их от обычных термических повреждений. Очагам лазерного поражения свойственны строгая локализованность и четкая отграниченность от соседних участков ткани. Отличительной особенностью лазерного излучения является также его способность вызывать тромбоз и коагуляцию кровеносных и лимфатических сосудов, что ведет к снижению вероятности диссеминации опухолевых клеток. При плотностях энергии в импульсе, применяемых для лечения меланомой кожи, наблюдается полное их разрушение с некрозом дермы и поверхностных слоев подкожной жировой клетчатки. Однако в двух случаях среди некротизированной ткани меланомой, подвергнутой лечению лазерным излучением, определялись очаги

дистрофически измененных опухолевых клеток. Аналогичные комплексы бластомных клеток с дистрофическими изменениями в некротических массах были выявлены в облученной воздействием неодимового лазера меланомой Гардинга–Пасси, перевитой подкожно мышам. Наименее поврежденными лазерным излучением были наиболее бедные меланином опухолевые клетки. В дальнейшем они также оказались нежизнеспособными [6].

Необходимо отметить, что в гистологических препаратах меланомой кожи, облученных импульсным лазерным излучением и исследуемых в динамике, в соскобах с раны, образовавшейся после отпадения струпа, и в рубцах, возникших на месте излеченных меланомой, определялась различной степени выраженности лимфоидно-гистиоцитарная инфильтрация, отражающая состояние местных иммунных реакций [9]. Увеличение по периферии от эпикентра воздействия общего количества свободных клеток стромы кожи и изменение их соотношения в сторону повышения числа лимфоцитов, макрофагов и лейкоцитов имели место также в эксперименте при облучении меланомой  $V_{16}$  импульсным лазерным воздействием [7]. Наличие лимфоидно-гистиоцитарной инфильтрации в ране было также зарегистрировано у людей, у которых воздействие излучением неодимового лазера применяли для удаления татуировки кожи [4]. Увеличение количества макрофагов и гистиоцитов наблюдалось также при лечении внутрикожных метастазов меланомой непрерывным излучением  $CO_2$ -лазера [8]. При термическом ожоге, в отличие от воздействия лазерным излучением, преобладала лейкоцитарная инфильтрация [3]. Небольшой процент появления рецидивов при лечении меланомой кожи импульсным лазерным излучением (из 302 больных меланомой кожи 1-й стадии по Сильвену, подвергнутых импульсной лазеротерапии, рецидивы появились лишь в 2 (0,25%) случаях, возможно, обусловлен действием местной иммунологической защиты.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что импульсное излучение неодимового лазера, применяемое для лечения меланомой кожи, вызывает коагуляционный некроз опухоли, дермы с придатками кожи и поверхностных слоев подкожной жировой клетчатки. Очаги лазерного поражения опухоли имеют ряд особенностей, отличающих их от обычных термических повреждений.

#### Литература

1. Вагнер Р.И., Москалик К.Г., Козлов А.П. О возможности выполнения инцизионной биопсии меланомой кожи при лечении импульсным лазерным излучением // *Вопр. онкол.* – 1990. – № 7. – С. 859–862.



2. Вагнер Р.И., Москалик К.Г., Козлов А.П. Противоопухолевое действие импульсного лазерного излучения // Мед. академ. журн. – 2003. – № 4. – С. 47–53.
3. Вишневский А.А., Цыганова Н.В. Динамика изменения рыхлой соединительной ткани при воздействии ОКГ // Экспер. хир. – 1972. – № 5. – С. 13–17.
4. Вишневский А.А., Харитон А.С., Музыкант Л.И., Шернуптовская К.Е. Морфологические изменения кожи после облучения ее импульсным лазером с целью удаления тагуировки // Арх. пат. – 1973. – Вып. 4. – С. 59–63.
5. Гамалея Н.Ф. Лазеры в эксперименте и клинике. – М.: Медицина, 1972. – 232 с.
6. Козлов А.П., Москалик К.Г., Акимов А.А. О влиянии величины энергии импульса и ритма облучения на противоопухолевый эффект лазерного излучения // Вопр. онкол. – 1972. – № 6. – С. 65–70.
7. Москалик К.Г. Реакция свободных клеток стромы кожи при лечении меланом импульсным лазерным излучением // Вопр. онкол. – 1983. – № 9. – С. 11–15.
8. Плетнев С.Д., Гордилова В.В., Агамова К.А. и др. Морфологические изменения в опухолях человека под действием излучения лазера // Вопр. онкол. – 1974. – № 4. – С. 3–10.
9. Шварцман Я.С., Хазексон Л.Б. Местный иммунитет. – Л.: Медицина, 1978. – 223 с.
10. Goldman L., Blaney D.J., Kindel D.J., Franke E.K. Effect of the laser beam on the skin // J. Invest. Derm. – 1963. – Vol. 40. – № 1. – P. 121–122.
11. McGuff P., Deterling R., Gottlieb L. et al. Effects of laser radiation on tumor transplants // Fed. Proc. – 1965. – Vol. 20. – № 1. – Suppl. 14. – P. 150–154.
12. Moskalik K.G., Vagner R.I., Kozlov A.P. Treatment of skin melanoma with pulsed radiation from a neodymium laser // J. Biomedical Optics. – 1996. – Vol. 1. – № 4. – P. 448–454.

#### **Morphological changes in human skin melanoma treated by impulse laser radiation**

*K.G. Moskalik, L.N. Alekseeva, O.F. Chepik, V.I. Novik, R.I. Vagner, A.P. Kozlov*

Pulsed neodymium laser irradiation used for treating flat or eminence (2–3 cm above skin) melanomas cause coagulation necrosis in the tumor, in the derma with skin appendages and also in the superficial layers of subcutaneous fatty tissue. Foci of laser destruction are characterized by strict locality and precise separation from neighboring fields of tissue, stasis, thrombosis and coagulation of blood and lymphatic vessels that are different from usual thermal lesions.