

**Черданцева Т.М., Бобров И.П., Климачев В.В., Брюханов В.М.,
Лазарев А.Ф., Авдалян А.М., Гервальд В.Я., Таранина Т.С.**

*Алтайский государственный медицинский университет,
Алтайский филиал Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН,
г. Барнаул*

ПАТОМОРФОЛОГИЯ ПЕРИТУМОРОЗНОЙ ЗОНЫ ПРИ РАКЕ ПОЧКИ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ

Целью работы было изучение особенностей гистологического строения соединительной ткани перитуморозной зоны (ПЗ) рака почки. Материалом для исследования послужил операционный материал 42 больных раком почки. Применялись гистологический, гистохимический и микроспектрофотометрический методы исследования.

В работе показано, что морфология соединительной ткани ПЗ зависела от биологических свойств опухоли. В опухолях высокой степени злокачественности G3-G4 (I группа), в отличие от раков низкой злокачественности G1-G2 (II группа), ПЗ характеризовалась выраженным склерозом, эластозом, значительной шириной, активностью миофибробластов и плотностью распределения тучных клеток (ТК). Ширина ПЗ коррелировала со стадией опухоли ($r = 0,56$), наличием регионарных и отдаленных метастазов ($r = 0,64$), наличием инвазии в псевдокапсулу ($r = 0,52$), плотностью сосудов в ПЗ ($r = 0,38$), ploидностью опухоли ($r = 0,70$) и активностью AgNOR клеток опухоли ($r = 0,74$). Обнаружены корреляционные взаимосвязи между активностью соединительной ткани ПЗ и важнейшими прогностическими клинико-анатомическими параметрами опухолей.

Результаты исследования показали, что патоморфология ПЗ рака почки была взаимосвязана со степенью злокачественности опухоли, а изученные параметры соединительной ткани ПЗ могут быть использованы в качестве дополнительных критериев прогноза при раке почки.

Ключевые слова: рак почки; степени злокачественности; перитуморозная зона; патоморфология.

**Cherdantseva T.M., Bobrov I.P., Klimachev V.V., Brjuhanov V.M.,
Lazarev A.F., Avdaljan A.M., Gervald V.J., Taranina T.S.**

*Altay State Medical University,
Altay branch «The Russian oncological centre of N.N. Blohina» of the RAMS, Barnaul*

PATHOMORPHOLOGY OF PERITUMOROUS ZONE AT RENAL CARCINOMA OF DIFFERENT DEGREE MALIGNANCY

The aim of our study was to studding the histological structure of peritumorous zone (PZ) connective tissue renal carcinoma. The object of our work are the materials of 42 patients with a renal carcinoma. The methods to have been used during research are histological, histochemical and microspectrophotometrical.

It is shown that the morphology of connecting fiber PZ depended on biological properties of a tumor. In tumors of high degree G3-G4 (I group), unlike cancers low malignancy G1-G2 (II group), PZ was characterized by the expressed sclerosis, elastosis, considerable width, activity myofibroblasts and density of distribution of mast cells (MC). The width PZ correlated with a tumor stage ($r = 0,56$), presence regional and the remote metastasizes ($r = 0,64$), presence invasion in a pseudo-capsule ($r = 0,52$), with density of vessels in ($r = 0,38$), ploidy tumors ($r = 0,70$) and activity AgNOR of cages of a tumor ($r = 0,74$). Also are found out correlation interrelation between activity of cellular elements of connective tissue PZ and the major prognostic clinicopathologic parameters of tumors was correlated.

Results of research have shown that pathomorphology of PZ renal carcinoma has been interconnected with degree malignancy tumors, and the studied parameters of connecting fiber PZ can be used as additional criteria of the forecast at a renal carcinoma.

Key words: renal carcinoma; peritumorous zone; degree malignancy; pathomorphology.

Исследование особенностей строения перитуморозной зоны (ПЗ) рака почки имеет особое значение в связи с разработкой экономных, щадящих методов хирургического лечения путем энуклеации опухолевого узла [1-4]. При этом очень важно, какие клинико-анатомические и биологические параметры опухоли влияют на гистологические характеристики ПЗ рака почки, т.к. наличие инвазии ПЗ опухолевыми клетками ведет к возникновению рецидивов заболевания и метастазированию [5-9].

Цель исследования — изучить особенности морфологии соединительной ткани и морфофункциональной активности клеточных элементов в ПЗ рака почки в зависимости от клинико-анатомических и биологических особенностей опухоли.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исучен операционный материал 42 больных раком почки. Средний возраст пациентов составил $57,4 \pm 1,4$ лет. Мужчин было 25 (59,5 %), женщин 17 (40,5 %). По гистологическому строению опухоли были представлены светлоклеточный рак — 28; зернистоклеточный рак — 8; папиллярный рак — 5 и саркоматоидный рак — 1. Материал забирали из центра опухоли, ПЗ (за ПЗ принимали непосредственно прилежащую к псевдокапсуле опухолевую ткань, саму псевдокапсулу и ткань, расположенную за псевдокапсулой до неизменной ткани почки), из неизменной ткани почки и из максимально отдаленных от опухоли участков.

При группировке опухолей по клиническим стадиям (I-IV) было выделено: I стадии (T1N0M0) соответствовали 22 наблюдения (52,4 %); II стадии (T2N0M0) — 1 наблюдение (2,4 %); III стадии (T1N1M0, T2N1M0, T3N0M0, T3N1M0) — 8 (19 %); IV стадии (T4N0M0, T4N1M0, TлюбаяN2M1, TлюбаяNлюбаяM1) — 11 наблюдений (26,2 %). Степень злокачественности клеток опухоли оценивали по Fuhrman S.A. et al. [8]. В нашем материале было 2 опухоли (4,8 %) степени анаплазии G1, 11 опухолей (26,2 %) степени анаплазии G2, 22 опухоли (52,4 %) степени анаплазии G3 и 7 опухолей (16,7 %) степени G4.

Корреспонденцию адресовать:

ЧЕРДАНЦЕВА Татьяна Михайловна,
656045, г. Барнаул, ул. Парковая, 53/3.
Тел.: 8 (3852) 26-08-64; +7-905-083-10-37.
E-mail: drakon@agmu.ru

Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином; на коллаген — по Ван Гизону; на эластические волокна — резорцин-фуксином по Вейгерту; на аргирофильные волокна — серебрением по Гомори. Нейтральные гликозаминогликаны (ГАГ) выявляли ШИК-реакцией по Мак-Манусу, кислые ГАГ — альциановым синим по Стилдену и коллоидным железом по Хейлу, на ДНК ставили реакцию по Фельгену. На активность аргирофильных белков, ассоциированных с областью ядрышковых организаторов (AgNOR), проводили реакцию по Daskal Y. et al. [10] в нашей модификации [11]. В каждом случае на масляной иммерсии при увеличении $\times 1000$ определяли количество микрососудов в 20 произвольно выбранных полях зрения. Тучные клетки (ТК) выявляли основным коричневым по М.Г. Шубичу в модификации В.Ю. Голофеевского и соавт. [12] и 0,1 % водным раствором толуидинового синего (Нр — 3,9). Исследовали плотность распределения ТК при увеличении $\times 1000$ под масляной иммерсией в 20 произвольно выбранных полях зрения, а также форму, площадь и процентное соотношение ТК с компактным расположением гранул в цитоплазме и в состоянии дегрануляции.

Морфометрические и микроспектрофотометрические исследования проводили с использованием системы компьютерного анализа изображений, состоящей из микроскопа Leica DME, цифровой камеры Leica EC3, персонального компьютера и программного обеспечения ВидеоТест-Морфология 5.2. Пloidометрию ДНК проводили на гистологических срезах, окрашенных по Фельгену. Среднее содержание ДНК в ядрах малых лимфоцитов принимали за диплоидное (2c) и использовали в качестве стандарта. Для получения стандарта в каждом срезе оценивали 25-30 лимфоцитов. Затем в исследуемых эпителиальных клетках высчитывали содержание генетического материала в единицах плоидности (c) и строили гистограммы клонального распределения клеток по количеству генетического материала в процентах.

Статистическую обработку материала проводили при помощи статистического пакета Statistica 6.0. При нормальном распределении данных при проверке статистических гипотез применяли методы параметрической статистики (t — test Стьюдента), а если полученные данные не соответствовали критериям нормального распределения (критерий Шапиро-Уилка $W = 0,89$, $p < 0,01$), то применяли тест Колмогорова-Смирнова или U-тест Манна-Уитни. Данные считали достоверными при $p < 0,05$. Ана-

лиз зависимости между признаками проводили с помощью χ^2 — критерия Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенного исследования показали, что гистологическое строение соединительной ткани ПЗ при раках почки, прежде всего, зависело от их морфологии, поэтому пациенты были разделены нами на две группы.

В I группу вошли 18 больных (42,9 %) с полиплоидными и анеуплоидными (в среднем плоидность составила 5,6 с) опухолями большого размера (> 7 см) с высокими значениями AgNORs и с наличием метастазов (G3-G4 степени злокачественности). Во II группу были отнесены 24 больных (57,1 %) с G1-G2 степенями злокачественности с диплоидными, триплоидными (в среднем плоидность составила 3,4 с) опухолями небольшого размера (< 7 см) с низкими значениями AgNORs и отсутствием метастазов.

Ширина ПЗ в I группе больных составила в среднем $1320,3 \pm 73,6$ мкм (рис. 1).

При окраске по Ван Гизону отмечалась выраженная фуксинофилия коллагеновых волокон, волокна давали интенсивную ШИК-реакцию при окраске по Мак-Манусу на нейтральные ГАГ. При окрашивании резорцином-фуксином по Вейгерту отмечено большое число тонких эластических извитых волокон интенсивной сиреневой окраски, также отмечались толстые эластические мембраны на границе между опухолевой тканью и ПЗ. Кислые ГАГ в значительном количестве отмечали в зонах обнаружения эластических волокон. Аргирофильные волокна выглядели утолщенными, на границе ПЗ с опухолью были видны их сплетения и мембраны. В соединительной ткани отмечали умеренную или высокую лимфо-плазмоцитарную инфильтрацию, часто были видны фолликулоподобные структуры. У больных II группы исследования ширина ПЗ составила в среднем $520,4 \pm 43,2$ мкм (рис. 2).

Коллагеновые волокна при окраске по Ван Гизону в таких ПЗ окрашивались в розоватый цвет с участками желтого, но, в то же время, волокна коллагена были ШИК-позитивны при реакции по Мак-Манусу на нейтральные ГАГ. Кислые ГАГ в соеди-

Рисунок 1
Широкая склерозированная перитуморозная зона (показана стрелками) у пациентов I группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 40$

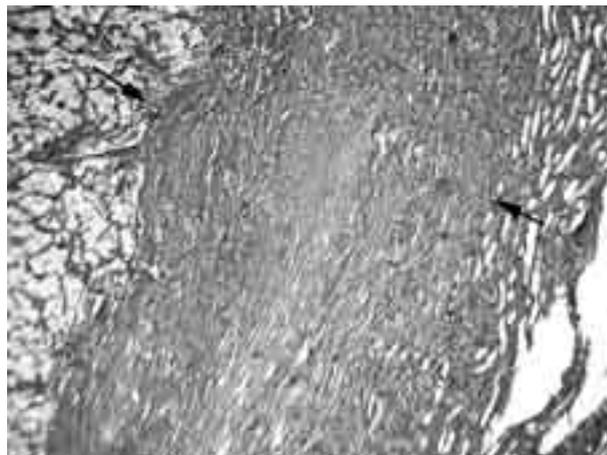
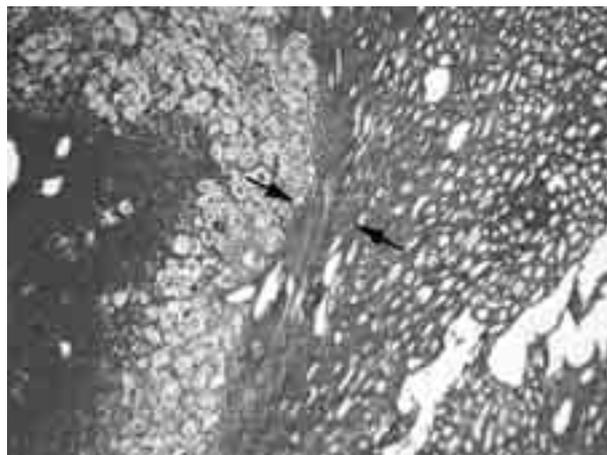


Рисунок 2
Узкая перитуморозная зона (показана стрелками) у пациентов II группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 40$



нительной ткани не обнаруживались, но определялись в стенках сосудов. При окраске резорцином-фуксином по Вейгерту отмечено небольшое число тонких эластических извитых волокон, а на границе с опу-

Сведения об авторах:

ЧЕРДАНЦЕВА Татьяна Михайловна, канд. мед. наук, доцент, зав. морфологической лабораторией ЦНИЛа, ГБОУ ВПО «АГМУ» МЗ и СР, г. Барнаул, Россия.

БОБРОВ Игорь Петрович, канд. мед. наук, ассистент, кафедра патологической анатомии, ГБОУ ВПО «АГМУ» МЗ и СР, г. Барнаул, Россия.

КЛИМАЧЕВ Владимир Васильевич, доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой патологической анатомии, ГБОУ ВПО «АГМУ» МЗ и СР, г. Барнаул, Россия.

БРЮХАНОВ Валерий Михайлович, доктор мед. наук, профессор, ректор, ГБОУ ВПО «АГМУ» МЗ и СР, г. Барнаул, Россия.

ЛАЗАРЕВ Александр Федорович, доктор мед. наук, профессор, директор, Алтайский филиал онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Барнаул, Россия.

АВДАЛЯН Ашот Меружанович, канд. мед. наук, зав. лабораторией молекулярной диагностики, Алтайский филиал онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Барнаул, Россия.

ГЕРВАЛЬД Виталий Яковлевич, ассистент, кафедра патологической анатомии, ГБОУ ВПО «АГМУ» МЗ и СР, г. Барнаул, Россия.

ТАРАНИНА Татьяна Сергеевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра патологической анатомии, ГБОУ ВПО «АГМУ» МЗ и СР, г. Барнаул, Россия.

холью они обнаруживались лишь на некоторых участках. В пучках коллагеновых волокон определялись тонкие «штопорообразные» аргирофильные волокна. Плотность лимфо-плазмоцитарной инфильтрации была умеренной или слабой.

Клетки миофибробластического ряда ПЗ имели увеличенные ядра. Площадь их составила в среднем $66,7 \pm 3,2$ мкм². Они содержали 1-2 ядрышка, в среднем $1,5 \pm 0,2$ на 1 ядро, при этом отмечалось многообразие морфологических типов ядрышек. Отмечали ядрышки кольцевидного, нуклеолонемного типов и переходные между ними формы. Число AgNORs в таких клетках составило $5,2 \pm 0,3$ на 1 ядро, поэтому данные клетки можно отнести к активно синтезирующим юным миофибробластам.

Во II группе ядра клеток фибробластического ряда ПЗ имели удлинённую волнообразную форму. Площадь ядер составила в среднем $30,4 \pm 1,2$ мкм². Ядра содержали преимущественно одно кольцевидное ядрышко, среднее число ядрышек на 1 ядро составило $1,4 \pm 0,1$ на 1 ядро. Число AgNORs составило $1,2 \pm 0,1$ на 1 ядро, поэтому такие клетки были отнесены нами к зрелым малоактивным миофибробластам.

Плотность распределения ТК в ПЗ в I группе составила $9,9 \pm 2,4$, а во II группе была достоверно ниже и составила $4,2 \pm 0,8$ ($p < 0,05$). При этом в ПЗ I группы больных наблюдалась тенденция к увеличению дегранулирующих форм ТК до 54,9 %, по сравнению со II группой исследования (47,4 %).

Для исследования взаимосвязей между параметрами активности соединительной ткани ПЗ и наиболее важными прогностическими клинико-анатомическими параметрами опухолей нами была проведена корреляция.

В качестве параметров активности соединительной ткани ПЗ были избраны: плотность распределения ТК, число AgNORs в ядрышках миофибробластов и ширина ПЗ. Эти параметры очень тесно связаны между собой и зависят друг от друга. ТК способны как сами вырабатывать коллаген, так и активировать миофибробласты [13]. Возрастание числа AgNORs происходит при активизации синтеза белка, в частности, коллагена [14]. Результатом этих двух процессов являются фиброз и увеличение ширины ПЗ.

Результаты корреляционного анализа показали, что ширина ПЗ коррелировала с наличием регионарных и отдаленных метастазов ($r = 0,64$), стадией опухоли ($r = 0,56$), плотностью микрососудов в ПЗ ($r = 0,38$), инвазией опухоли в псевдокапсулу ($r = 0,52$), плоидностью опухоли ($r = 0,70$) и активностью AgNOR клеток опухоли ($r = 0,74$). Следует отметить, что наиболее сильные корреляции были получены с факторами пролиферации опухолей (ДНК и AgNOR).

Активность AgNOR миофибробластов коррелировала с: шириной ПЗ ($r = 0,66$), размером опухоли ($r = 0,43$), стадией заболевания ($r = 0,62$), градацией ядра по Фурману ($r = 0,60$), наличием метастазов ($r = 0,57$), плоидностью опухоли ($r = 0,61$), площадью ядра клеток опухоли ($r = 0,61$), AgNORs опухоли ($r = 0,83$) и плотностью микрососудов в ПЗ ($r = 0,68$).

Плотность распределения ТК в ПЗ коррелировала с числом AgNORs в фибробластах ($r = 0,43$), AgNORs клеток опухоли ($r = 0,45$), инвазией в псевдокапсулу опухоли ($r = 0,63$), наличием метастазов ($r = 0,39$), плотностью микрососудов в ПЗ ($r = 0,40$), плоидностью опухоли ($r = 0,30$), площадью ядер клеток опухоли ($r = 0,58$) и степенью градации ядер по Фурману ($r = 0,40$).

Таким образом, результаты проведенного исследования показали, что гистологическое строение ПЗ рака почки было взаимосвязано, прежде всего, со степенью дифференцировки и злокачественности опухоли и изученные параметры элементов соединительной ткани могут быть использованы в качестве дополнительных критериев определения прогноза при раке почки.

ВЫВОДЫ:

1. В высоко злокачественных G3-G4 карцином почки ПЗ характеризовалась возрастанием ширины, выраженным фиброзом и эластозом.
2. Плотность распределения ТК в ПЗ коррелировала с возрастанием числа AgNORs в ядрышках миофибробластов, что указывает на стимуляцию процесса коллагенообразования тучными клетками.
3. Ширина ПЗ и число AgNORs в ядрышках фибробластов коррелируют между собой, что говорит

Information about authors:

CHERDANTSEVA Tatiana Mikhailovna, candidate of medical sciences, docent, head of the morphological central scientific research laboratory, Altai State Medical University, Barnaul, Russia.

BOBROV Igor Petrovich, candidate of medical sciences, assistant, the department of pathological anatomy, Altai State Medical University, Barnaul, Russia.

KLIMACHEV Vladimir Vasilievich, doctor of medical sciences, professor, the head of pathological anatomy, Altai State Medical University, Barnaul, Russia.

BRJUKHANOV Valeriy Mikhaylovich, doctor of medical sciences, professor, rector, Altai State Medical University, Barnaul, Russia.

LAZAREV Aleksandr Fedorovich, doctor of medical sciences, professor, head of the Altai branch of «The Russian oncological centre named after N.N. Blokhin of the RAMS», Barnaul, Russia.

AVDALYAN Ashot Meruzanovich, candidate of medical sciences, head of laboratory molecular diagnostics, the Altai branch of «The Russian oncological centre named after N.N. Blokhin of the RAMS», Barnaul, Russia.

GERVALD Vitaliy Yakovlevich, assistant, the department of pathological anatomy, Altai State Medical University, Barnaul, Russia.

TARANINA Tatiana Sergeevna, candidate of medical sciences, docent, the department of pathological anatomy, Altai State Medical University, Barnaul, Russia.

- об участии миофибробластов в процессе коллагенообразования в ПЗ.
4. Возрастание плотности распределения ТК в ПЗ взаимосвязано с опухолевым ангиогенезом и метастазированием рака почки.
 5. Ширина ПЗ, активность AgNORs миофибробластов и плотность распределения ТК могут быть использованы в качестве дополнительных факторов установления прогноза рака почки разной степени злокачественности.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Uzzo, R.G. Nephron-sparing surgery for renal tumors: indications, techniques and outcomes /R.G. Uzzo, A.C. Novick //J. Urol. – 2001. – V. 166. – P. 6-18.
2. Renal cell carcinoma guideline /B. Ljungberg, D. Hanbury, M. Kuczyk et al. //Eur. Urol. – 2007. – V. 51. – P. 1502-1510.
3. Elective nephron sparing surgery should become standard treatment for small unilateral renal cell carcinoma: long-term survival data of 216 patients /F. Becker, S. Siemer, U. Humke et al. //Eur. Urol. – 2006. – V. 49. – P. 308-313.
4. Histological analysis of peritumoralpseudocapsule and surgical margin status after tumor enucleation for renal cell carcinoma /A. Minervini, C. Cristofano, A. Lapini et al. //Eur. Urol. – 2009. – V. 55. – P. 1410-1418.
5. Optimal margin in nephron-sparing surgery for renal cell carcinoma 4 cm or less /Q. Li, H. Guan, Q. Zhang et al. //Eur. Urol. – 2003. – V. 44. – P. 448-451.
6. Castilla, E.A. Prognostic importance of resection margin width after nephron-sparing surgery for renal cell carcinoma /E.A. Castilla, L.S. Liou, N.A. Abrahams //Urology. – 2002. – V. 60. – P. 993-997.
7. Sutherland, S.E. Does the size of the surgical margin in partial nephrectomy for renal cell carcinoma really matter? /S.E. Sutherland, M.I. Resnick, G.T. Maclennan //J. Urol. – 2002. – V.60. – P. 164-167.
8. Van Poppel, H. How important are surgical margins in nephron-sparing surgery? /H. Van Poppel, S. Joniau //Eur. Urol. Suppl. – 2007. – V. 6. – P. 533-399.
9. Morgan, W. Progression and survival after renal-conserving surgery for renal cell carcinoma: experience in 104 patients and extended followup /W. Morgan, H. Zincke //J. Urol. – 1990. – V. 144. – P. 852-858.
10. Daskal, Y. Evedence from studies on segregated that nucleolar silver proteins C23 and B23 are in fibrillar components /Y. Daskal, K. Smetana, H. Buch //Exp. Cell. Res. – 1980. – V. 127. – P. 285-291.
11. Бобров, И.П. Модификация гистохимического метода выявления ядрышковых организаторов на гистологических срезах /И.П. Бобров, А.М. Авдалян, В.В. Климачев //Арх. патологии. – 2010. – Т. 72, № 3. – С. 35-37.
12. Голофеевский, С.Г. Сочетанная окраска гистологических срезов основным коричневым и прочным зеленым /С.Г. Голофеевский, С.Ю. Щербак //Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1987. – № 4. – С. 101-102.
13. Быков, В.Л. Секреторные механизмы и секреторные продукты тучных клеток /В.Л. Быков //Морфология. – 1999. – № 2. – С. 64-72.
14. Derenzini, M. AgNORs /M. Derenzini //Micron. – 2000. – V. 31. – P. 117-120.

