

Черданцева Т.М., Бобров И.П., Климачев В.В.,
Брюханов В.М., Лазарев А.Ф., Авдалян А.М., Гervальд В.Я.

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

ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ ПРИ РАКЕ ПОЧКИ: КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ

Была исследована морфофункциональная активность тучных клеток (ТК) перитуморозной зоны (ПЗ) рака почки. Показано, что активность ТК была наиболее высока в ПЗ рака по сравнению с неизменной почкой и центром опухоли. Активность ТК взаимосвязана с ангиогенезом опухоли. Плотность распределения ТК в ПЗ взаимосвязана с рядом важнейших клиничко-морфологических параметров опухоли (степенью анаплазии, размером, наличием инвазии и метастазированием) и поэтому плотность ТК в ПЗ может быть применена при прогнозировании течения рака почки в качестве дополнительного критерия.

Ключевые слова: рак почки; тучные клетки; неоангиогенез.

Cherdantseva T.M., Bobrov I.P., Klimachev V.V., Brjukhanov V.M., Lazarev A.F., Avdalyan A.M., Gervald V.J.

Altai State Medical University,

Altay branch of «The Russian oncological centre of N.N. Blokhin of the Russian Academy of Medical Science», Barnaul

MAST CELLS IN A KIDNEY CANCER: CLINICOPATHOLOGICAL PARALLELS

Has been investigated 'morphofunctional' activity of mast cells (MC) of peritumorous zone (PZ) in a kidney cancer. It is shown that activity MC was highest in PZ a cancer in comparison with an invariable kidney and the tumor centre. Activity MC is correlated with angiogenesis of tumors. The density of distribution MC in PZ is correlated with a number of the major clinicopathological parameters of a tumor (anaplasia degree, the size, invasion degree and metastasis) and therefore density MC in PZ can be applied at forecasting of a current of kidney cancer, as additional criterion.

Key words: a kidney cancer; mast cells; neoangiogenesis.

Тучные клетки (ТК) присутствуют в нормальной и патологически измененной почке [1]. По данным Burcin T. et al. (2006), среднее число ТК значительно выше в раке почки (РП), чем в нормальной почечной ткани, что по мнению данных авторов объясняется их участием в туморогенезе [2]. В то же время, не было найдено корреляций между числом ТК, размером, стадией опухоли, полом и возрастом больных. С другой стороны, была обнаружена взаимосвязь между плотностью ТК и числом микрососудов в опухоли. Также этими авторами обнаружено более высокое число ТК в светлоклеточ-

ных карциномах, чем в других гистологических типах рака почки, что авторы объясняют более высокой метаболической потребностью данного гистологического типа рака. В то же время, Mohseni M.G. et al. (2010) не нашли корреляции между числом ТК и плотностью микрососудов в РП [3].

Известно, что ТК посредством протеаз (химазы, триптазы, матричных металлопротеиназ), содержащихся в их гранулах, расщепляют коллаген базальных мембран, ведут реконструкцию и ремоделирование экстрацеллюлярного матрикса тканей для того, чтобы облегчить перемещение эндотелиальных клеток при новообразовании сосудов [4]. При опухолевом росте ремоделирование ТК внеклеточного матрикса ведет к облегчению инвазии опухолевых клеток и метастазированию опухоли [5].

Перитуморозная зона (ПЗ) опухоли является особо важной областью для развития и прогрессии опу-

Корреспонденцию адресовать:

ЧЕРДАНЦЕВА Татьяна Михайловна,

656045, Барнаул, ул. Парковая, 53/3.

Тел.: раб. 8(3852)26-08-64; сот. +7-905-083-10-37.

E-mail: drakon@agmu.ru

холи. Есть небольшое количество работ, посвященных изучению роли ТК в ПЗ. Так, найдены корреляции между перитуморозной плотностью ТК и размером опухоли, сосудистой инвазией и возникновением ранних рецидивов при раке печени [5]. При фибросаркоме интенсификация неоваскулогенеза сопровождалась увеличением числа ТК по периферии опухоли [6]. При раке молочной железы число ТК было больше в ПЗ, чем в центре опухоли [7]. По данным Johanson A. et al. (2010), при раке предстательной железы внутриопухолевые ТК отрицательно воздействовали на ангиогенез и рост опухоли, тогда как перитуморозные ТК стимулировали рост опухоли. В то же время, Chan J.K. et al. (2005) указывают, что перитуморозное нахождение ТК в опухолях с выраженным ангиогенезом было благоприятно для длительного выживания при агрессивном раке яичников.

Таким образом, данные о роли ТК при раке противоречивы, а исследований по значению ТК в перитуморозной зоне РП в доступной литературе нами не обнаружено.

Цель исследования — определение значения ТК в неоангиогенезе при раке почки (РП) и поиск взаимосвязей морфологических параметров ТК с наиболее важными прогностическими клиничко-морфологическими параметрами опухолей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом для исследования послужили 54 операционных препарата РП. Средний возраст больных составил $57,6 \pm 1,3$ лет. Мужчин было 30 (55,6 %), женщин — 24 (44,4 %). По гистологическому строению выделяли: светлоклеточный рак — 44 (81,5 %), зернистоклеточный рак — 6 (11,1 %) и рак смешанного строения (светлоклеточный + зернистоклеточный) — 4 (7,4 %). Степень злокачественности опухоли определяли по классификации ВОЗ (2002). Опухолей степени анаплазии G1 было 21, степени анаплазии G2 — 18, степени G3 — 15. Инвазию в псевдокапсулу обнаруживали в 11 случаях (20,4 %). Наличие регионарных и отдаленных метастазов наблюдали в 11 случаях (20,4 %).

В каждом случае материал забирали из центра опухоли, из периферических отделов опухоли, с обязательным захватом псевдокапсулы, и из максимально отдаленных от опухоли участков почки, которые служили контролем. Материал фиксировали в 10 % р-ре нейтрального формалина и заливали в парафин

по стандартной методике. Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван Гизон, на AgNORs нитратом серебра в нашей модификации [1], основным коричневым на тучные клетки по М.Г. Шубичу в модификации Голофеевского В.Ю. и соавт. (1987) [2] и 0,1 % водным раствором толудинового синего (Нр — 3,9). Количество микрососудов высчитывали в каждом случае при увеличении $\times 400$ в 10 полях зрения, плотность ТК при увеличении $\times 1000$ под масляной эмерсией в 20 произвольно выбранных полях зрения. Исследовали количество, форму, размер и процентное соотношение ТК с компактным расположением гранул в цитоплазме и в состоянии дегрануляции.

Морфометрическое исследование ТК проводили с использованием системы компьютерного анализа изображений, состоящей из микроскопа Leica DNM, цифровой камеры Leica EC3, персонального компьютера на базе Pentium 4 и программного обеспечения «ВидеоТест Морфология 5.2.».

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 $p < 0,05$. Анализ зависимости между признаками проводили с помощью г-критерия Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что в ткани почки, взятой из максимально отдаленных от опухоли участков, ТК имели округлую или вытянутую форму. Среднее число их составило $2,3 \pm 0,6$. Средняя площадь клеток составила $56,4 \pm 3,7$ мкм². Большинство клеток имели компактное расположение гранул в цитоплазме (73,9 %), дегранулирующих клеток от общего числа ТК было 26,1 %. При окрашивании толудиновым синим гранулы клеток давали интенсивную или умеренную метакромазию. ТК располагались около сосудов или между почечными канальцами.

Во фрагментах, взятых из центральных отделов опухоли, ТК имели округлую, овальную форму, реже оторчатую форму. Среднее число ТК в центре опухоли составило $2,2 \pm 0,7$. Средняя площадь их сос-

Сведения об авторах:

ЧЕРДАНЦЕВА Татьяна Михайловна, канд. мед. наук, доцент, зав. морфологической ЦНИЛ, ГОУ ВПО «АГМУ Росздрава», г. Барнаул, Россия.

БОБРОВ Игорь Петрович, канд. мед. наук, ассистент, кафедра патологической анатомии, ГОУ ВПО «АГМУ Росздрава», г. Барнаул, Россия.

КЛИМАЧЕВ Владимир Васильевич, доктор мед. наук, профессор, зав. кафедрой патологической анатомии, ГОУ ВПО «АГМУ Росздрава», г. Барнаул, Россия.

БРЮХАНОВ Валерий Михайлович, доктор мед. наук, профессор, ректор, ГОУ ВПО «АГМУ Росздрава», 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, ГОУ ВПО «АГМУ Росздрава», г. Барнаул, Россия.

тавила $45,3 \pm 4,3$ мкм². Значительное количество клеток имели компактное расположение гранул (93,6 %), число дегранулирующих ТК составило 6,4 %. При окраске толуидиновым синим большинство клеток имели умеренно выраженную метахромазию, отмечались светлые клетки, рыхло заполненные гранулами со слабо выраженной метахромазией.

Иными параметрами характеризовались ТК в ПЗ РП. Здесь преобладали клетки, имеющие отростчатое строение. Среднее число ТК составило $6,7 \pm 1,6$. Средняя площадь клеток была $71,3 \pm 4,5$ мкм². Большинство ТК были в состоянии дегрануляции (55,8 %), клеток, имеющих компактное расположение гранул в цитоплазме было 44,2 %. При окраске толуидиновым синим клетки выглядели темно-красными, с интенсивно метахроматическими гранулами. Клетки располагались в участках фиброзно измененной соединительной ткани ПЗ или около сосудов микроциркуляции.

При исследовании с помощью корреляционного анализа было установлено, что плотность ТК в ПЗ была взаимосвязана с рядом важных клинико-морфологических и молекулярных параметров опухолей. Так, была найдена взаимосвязь между плотностью ТК в ПЗ и степенью анаплазии опухоли ($r = 0,46$). Нами не найдено достоверных различий по количеству ТК в ПЗ между стадиями G1 и G2, средние числа которых составили $4,1 \pm 1,3$ и $3,3 \pm 0,9$, соответственно ($p = 0,6$). В то же время, при степени анаплазии G3 содержание ТК в ПЗ достоверно возрастало до $10,1 \pm 2,6$ ($p = 0,04$).

Размер опухоли был взаимосвязан с плотностью ТК в ПЗ ($r = 0,56$). В опухолях размером до 3 см число ТК в ПЗ составило $3,0 \pm 0,5$, а при размере свыше 3 см оно возрастало до $6,8 \pm 1,5$ ($p = 0,02$).

Количество ТК в ПЗ рака почки и плотность микрососудов в ПЗ коррелировали между собой ($r = 0,30$). Когда число ТК в ПЗ было до 3, количество микрососудов в ПЗ составило $7,1 \pm 0,9$, а когда число ТК было более 3, содержание микрососудов возрастало и составило в среднем $8,7 \pm 0,9$ ($p = 0,01$). Число AgNORs в эндотелии сосудов ПЗ также коррелировало с плотностью ТК в ПЗ ($r = 0,56$). При числе гранул AgNORs в ядрышках эндотелия сосудов ПЗ до 1,5 число ТК в ПЗ было равно $5,5 \pm 1,4$, а при их содержании свыше 1,5 возрастало до $7,2 \pm 2,3$ ($p = 0,001$).

При наличии регионарных и отдаленных метастазов количество сосудов в ПЗ возрастало до $12,3 \pm$

$0,7$, в то время как в опухолях без метастазов их было $5,9 \pm 0,2$ ($p = 0,000004$). Число ТК в ПЗ при метастазировании было $6,4 \pm 1,7$, а в неметастазирующих опухолях — $2,8 \pm 0,6$ ($p = 0,000001$). При этом в ПЗ метастазирующих опухолей с активным ангиогенезом наблюдалась тенденция к увеличению дегранулирующих ТК до 54,9 %, по сравнению с неметастазирующими (47,4 %).

Содержание числа гранул AgNORs в опухолевых клетках коррелировало с плотностью ТК в ПЗ ($r = 0,45$). Если число гранул AgNORs в опухолевых клетках было до 4, то число ТК в ПЗ составило $4,0 \pm 1,6$, а если более 4, число ТК возрастало до $7,5 \pm 1,6$ ($p = 0,02$).

Отмечена корреляция между плотностью ТК в ПЗ и шириной ПЗ ($r = 0,30$). Опухоли, у которых ширина ПЗ была до 500 мкм, содержали $4,5 \pm 2,14$ ТК в ПЗ, а у опухолей с шириной ПЗ свыше 500 мкм число ТК в ПЗ возрастало до $6,5 \pm 1,45$ ($p = 0,01$).

Содержание ТК в ПЗ и наличие инвазии в псевдокапсулу значимо коррелировали между собой ($r = 0,64$). При наличии инвазии число ТК в ПЗ было $12,7 \pm 2,4$, а без инвазии — $3,0 \pm 0,5$ ($p = 0,000001$).

Корреляции числа ТК в ПЗ с гистологическим типом опухоли, возрастом и полом больных обнаружено не было.

Таким образом, проведенное исследование указывает на большое значение ТК перитуморозной зоны рака почки для прогрессии опухолевого процесса. Исследования качественных и количественных характеристик ТК перитуморозной зоны рака почки могут быть использованы при прогнозировании течения заболевания. Понимание роли ТК в механизмах ангиогенеза может обеспечить основания для рационального подхода к антиангиогенной терапии злокачественных заболеваний. Поэтому дальнейшее исследование ТК при раке почки является актуальным и перспективным.

ВЫВОДЫ:

1. Морфофункциональная активность тучных клеток наиболее высока в перитуморозной зоне рака почки, по сравнению с неизмененной тканью почки и центром опухоли.
2. Качественная и количественная характеристика тучных клеток при раке почки взаимосвязана с ангиогенезом и наличием метастазов. Ангиогенез на-

Information about authors:

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

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

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

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

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

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

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

и более выражен в перитуморозной зоне рака почки, по сравнению с центром опухоли.

3. Плотность распределения тучных клеток в перитуморозной зоне взаимосвязана с рядом важнейших клинико-морфологических параметров опу-

холи — степени анаплазии, размером опухоли, наличием инвазии и метастазированием. Поэтому определение плотности ТК в ПЗ может иметь значение при прогнозировании течения рака почки в качестве дополнительного критерия.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Ehara, T. Mast cell in kidney /T. Ehara, H. Shigematsu //Nephrology. – 2003. – V. 8. – P. 130-138.
2. Association of mast cells with microvessel density in renal cell carcinomas /Tune Burcin, Yorukoglu Kutsal, Unlu Mehrtat et al. //Eur. urology. – 2006. – V. 50. – P. 530-534.
3. The lack of correlation between mast cell and microvessel density with pathologic feature of renal cell carcinoma /M.G. Mohseni, A. Mohammedi, A.S. Heshmat et al. //Int. Urol. Nephrol. – 2010. – V. 42, N 1. – P. 109-112.
4. Mast cells and cutaneous malignancies /S. Ch'ng, R.A. Wallis, L. Yuan et al. //Mod. Pathol. – 2006. – V. 19, N 1. – P. 149-159.
5. Mast cell are novel independent prognostic markers cancer and represent a target therapy /A. Johanson, S. Rudolfsson, P. Hammarsten et al. //Am. J. Pathol. – 2010. – V. 177, N 2. – P. 1031-1041.
6. Модификация гистохимического метода выявления ядрышковых организаторов на гистологических срезах /И.П. Бобров, А.М. Авдалян, В.В. Климачев и др. //Арх. патологии. – 2010. – № 3. – С. 35-37.
7. Голофеевский, В.Ю. Сочетанная окраска гистологических срезов основным коричневым и прочным зеленым /В.Ю. Голофеевский, С.Г. Щербак //Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1987. – № 4. – С. 101-102.

