

Клинические аспекты опухолевого ангиогенеза в перитуморозной зоне у больных раком почки

Т.М. Черданцева, И.П. Бобров, В.В. Климачев, В.М. Брюханов, А.Ф. Лазарев,
А.М. Авдалян, В.Я. Гервальд, А.Ю. Долгатов, В.А. Попов
Алтайский ГМУ; Алтайский филиал ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Барнаул

Контакты: Татьяна Михайловна Черданцева drakon@agmi.ru

Изучены особенности опухолевого ангиогенеза в тканях, прилежащих к раку почки. Показано, что активность неоангиогенеза в перитуморозной зоне (ПЗ) зависела от биологических свойств опухоли и была наиболее высока в опухолях высокой степени злокачественности. Плотность микроциркуляторного русла в ПЗ коррелировала с важнейшими прогностическими параметрами карциномы почки и поэтому может быть использована в качестве дополнительного фактора прогноза при раке почки.

Ключевые слова: рак почки, перитуморозная зона, ангиогенез

Tumor angiogenesis in the peritumor area in kidney cancer patients: clinical aspects

T.M. Cherdantseva, I.P. Bobrov, V.V. Klimachev, V.M. Bryukhanov,
A.F. Lazarev, A.M. Avdalyan, V.Ya. Gervald, A.Yu. Dolgator, V.A. Popov
Altai State Medical University; Altai Branch, N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center,
Russian Academy of Medical Sciences, Barnaul

The specific features of tumor angiogenesis were studied in cancer-adjacent kidney tissues. The activity of neoangiogenesis in the peritumor area (PA) was shown to depend on the biological properties of a tumor and to be highest in high-grade tumors. The density of the PA micro-circulatory bed correlated with the most important prognostic parameters for renal cell carcinoma and therefore it might be used as an additional prognostic factor in kidney cancer.

Key words: kidney cancer, peritumor area, angiogenesis

Введение

В последние годы выявлен целый ряд изменений, происходящих вблизи опухоли при раке различных локализаций [1–7]. Показано, что перитуморозная зона (ПЗ) при многих злокачественных новообразованиях имеет важное биологическое значение. Изучение изменений тканей, граничащих с опухолью, важно для выявления фоновых процессов, способствующих развитию опухоли. Именно к этой зоне относится понятие «опухолевое поле» и в ней начинается рост опухоли, ПЗ также во многом способствует прогрессии уже возникшей опухоли.

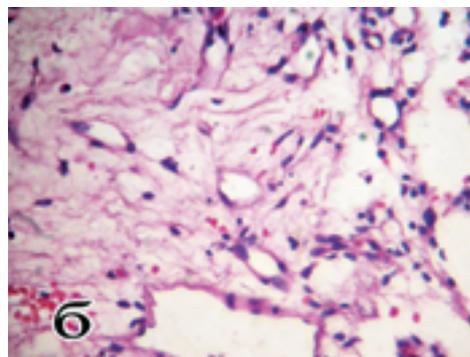
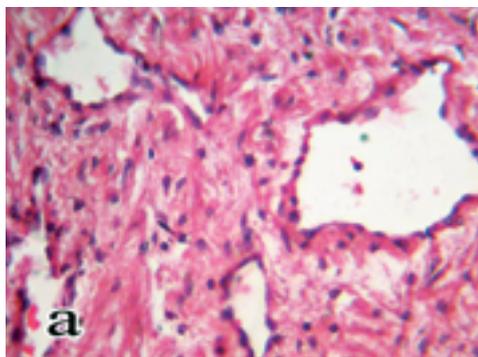
Ангиогенез имеет важное значение для роста и распространения рака почки [8, 9]. Однако при сложившемся мнении о прогностически неблагоприятном значении активного опухолевого ангиогенеза влияние развития сосудистого русла в ПЗ на прогрессию рака почки изучено недостаточно.

Цель исследования — изучение особенностей неоангиогенеза в ПЗ рака почки и сопоставление плотности микроциркуляторного русла с клинико-морфологическими параметрами опухолей.

Материалы и методы

Изучен операционный материал 32 больных раком почки. Из них 18 (56,2%) мужчин и 14 (43,8%) женщин. Средний возраст больных $53,4 \pm 1,2$ года. По гистологическому строению опухоли были представлены светлоклеточным раком. Группировка опухолей по клиническим стадиям (I–IV): I стадия (T1N0M0) — 14 (43,8%) наблюдений, II стадия (T2N0M0) — 1 (3,1%) наблюдение, III стадия (T1N1M0, T2N1M0, T3N0M0, T3N1M0) — 7 (21,9%) и IV стадия (T4N0M0, T4N1M0, T4N2M1, T4N3M1) — 10 (31,2%) наблюдений. Степень злокачественности клеток опухоли оценивали по S.A. Fuhrman и соавт. [10]. В изученном материале было 12 (37,5%) опухолей степени анаплазии G₁, 11 (34,4%) опухолей степени анаплазии G₂ и 9 (28,1%) — степени G₃.

В процессе исследования больные были разделены на 2 группы. В 1-ю группу вошли пациенты с диплоидными, триплоидными (в среднем 3,4 с) опухолями небольшого размера (< 7 см), степенями злокачественности G₁₋₂, низкими значениями AgNORs и отсутствием метастазов. Во 2-ю группу включены больные



Патологический неоангиогенез в ПЗ: а — сосуды в виде лакун в ПЗ опухолей больных 1-й группы; б — сосуды капиллярного типа в ПЗ опухолей больных 2-й группы. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$

с полиплоидными и анеуплоидными (в среднем 5,6 с) опухолями большого размера (> 7 см), степенями злокачественности G_{3-4} , с высокими значениями AgNORs и наличием метастазов.

Материал для исследования забирали из центра опухоли, ПЗ и неизменной ткани почки, из максимально отдаленных от опухоли участков. За ПЗ принимали непосредственно прилежащую к псевдокапсуле ткань опухоли, псевдокапсулу и ткань, расположенную за псевдокапсулой до неизменной ткани почки. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, на коллаген — по Ван-Гизону, на эластические волокна — резорцин-фуксином по Вейгерту, на ДНК — по Фельгену, на тучные клетки — альциановым синим и сафранином О и на аргирофильные белки, ассоциированные с областью ядрышкового организатора (AgNOR), — по Y. Dascal и соавт. [11] в нашей модификации [12]. В каждом случае на масляной иммерсии при увеличении $\times 1000$ рассчитывали плотность микроциркуляторного русла (ПМЦР) в 20 произвольно выбранных полях зрения.

Морфометрические и микроспектрофотометрические исследования проводили с использованием системы компьютерного анализа изображений, состоящей из микроскопа Leica DME, цифровой камеры Leica EC3 (Leica Microsystems AG, Германия), персонального компьютера Pentium 4 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 (2 с) и использовали в качестве стандарта. Для получения стандарта в каждом срезе оценивали 25–30 лимфоцитов. В исследуемых клетках высчитывали индекс накопления ДНК (ИНДНК) в единицах ploидности (с) и строили гистограммы клонального распределения клеток по количеству генетического материала, выраженного в процентах.

Статистический анализ проводили с помощью пакета программ Statistica 6,0. Рассчитывали среднее арифметическое значение (М), ошибку среднего зна-

чения (m), достоверность различия средних, которую рассчитывали с помощью t-критерия Стьюдента, данные считали достоверными при $p < 0,05$. Корреляционные взаимосвязи определяли путем расчета коэффициента корреляции Пирсона.

Результаты

При исследовании ПМЦР в ПЗ установлено вовлечение сосудов в патологический неоангиогенез. В большинстве случаев сосуды, расположенные рядом с опухолью, не имели мышечной оболочки и в них отсутствовала дифференцировка на артерии и вены. Для опухолей степени анаплазии G_{1-2} были более характерны структуры, имеющие лакунарное строение, а для G_{3-4} — сосуды капиллярного типа, образованные одним слоем эндотелиоподобных клеток (см. рисунок).

Соединительная ткань вокруг новообразованных сосудов была представлена пучками рыхлых тонких бледноокрашенных коллагеновых волокон. В соединительной ткани, окружающей сосуды, определялось значительное количество тучных клеток, причем в ПЗ опухолей степеней анаплазии G_{3-4} преобладали деградированные формы тучных клеток. В ПЗ опухолей наряду с новообразованными сосудами также отмечали сосуды, характерные для почки, в них обнаруживались явления выраженного эластофиброза, с сужением просвета, разрастанием соединительной ткани и гиперплазией эластических мембран.

Достоверные различия были обнаружены при морфометрическом измерении параметров ядра опухолей пациентов 1-й и 2-й групп (табл. 1).

В ПЗ пациентов 1-й группы ПМЦР составила $5,8 \pm 0,6$, а у пациентов 2-й группы она возрастала до $8,6 \pm 0,8$. В эндотелии новообразованных сосудов ПЗ число AgNORs составило $2,0 \pm 0,09$ в 1-й группе, во 2-й группе оно было достоверно выше ($3,8 \pm 0,1$), что указывает на более высокую скорость пролиферации эндотелия (табл. 2).

Для исследования взаимосвязей ПМЦР в ПЗ с клинико-морфологическими параметрами рака почки

Таблица 1. Параметры ядер клеток опухолей в группах больных

Биологический параметр опухоли	Группа больных	
	1-я	2-я
Площадь клеточного ядра, мкм ²	25,1 ± 0,8*	43,8 ± 1,1*
ИНДНК, с	3,4 ± 0,1*	5,6 ± 0,2*
Количество AgNORs на ядро	5,3 ± 0,2*	14,4 ± 0,5*
Количество ядрышек на ядро	1,4 ± 0,04*	1,9 ± 0,06*

* $p < 0,05$.

Таблица 2. Параметры неангиогенеза ПЗ

Параметр неангиогенеза в ПЗ	Группа больных	
	1-я	2-я
ПМЦР	5,8 ± 0,6*	8,6 ± 0,8*
Количество AgNORs в эндотелии	2,0 ± 0,09*	3,8 ± 0,1*
Количество ядрышек в эндотелии	1,4 ± 0,04	1,6 ± 0,06

* $p < 0,05$.

нами была построена матричная корреляционная таблица, в которую были внесены некоторые характеристики больных, а также биологические и морфологические параметры опухолей. В процессе корреляционного анализа были обнаружены умеренные положительные коррелятивные взаимосвязи ПМЦР в ПЗ: со стадией по TNM ($r = 0,55$); наличием метастазов ($r = 0,64$); степенью клеточной градации (G) ($r = 0,65$); инвазией опухоли в псевдокапсулу ($r = 0,54$); плоидностью (ИНДНК) ($r = 0,52$) и активностью AgNORs в опухоли ($r = 0,54$). Слабая положительная корреляция была найдена между ПМЦР и размером опухоли (T) ($r = 0,20$). Не обнару-

жено корреляций ПМЦР с возрастом ($r = 0,10$) и полом ($r = 0,05$) больных.

Таким образом, проведенное исследование позволило установить вовлечение сосудов ПЗ рака почки в патологический опухолевый неангиогенез, активность которого зависела прежде всего от свойств опухоли, которые определяли ее высококачественный потенциал. ПМЦР в ПЗ коррелировала с важнейшими прогностическими параметрами опухолей, и поэтому данный параметр может быть использован в качестве дополнительного фактора прогноза при прогнозировании течения рака почки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авдалян А.М., Бобров И.П., Климачев В.В. и др. Прогностическое значение исследования сосудов микроциркуляторного русла в опухоли и перитуморозной зоне по данным выявления белка CD31 и количества аргирофильных белков области ядрышкового организатора (AgNOR) в эндотелии при лейомиосаркоме тела матки. *Фундаментальные исследования* 2010;(5):12–20.
2. Авдалян А.М., Бобров И.П., Климачев В.В., Лазарев А.Ф. Ангиогенез опухоли и перитуморозной зоны: все ли вопросы решены? *Вопр онкол* 2010;56(2):3–4.
3. Сенчукова М.А., Стадников А.А., Шевлюк Н.Н., Боков Д.А. Морфологическая характеристика сосудов подслизистой оболочки желудка на участках, прилежащих к опухоли, у больных раком желудка. *Вопр онкол* 2010;Т.56(2):40–1.
4. Федосенко К.Ф. Некоторые особенности биосинтетических и пролиферативных процессов в эпителии и строме предстательной железы при nodозной гиперплазии, раке и в перитуморозной зоне. *Вопр онкол* 2002; 48(1):47–50.
5. Черданцева Т.М., Бобров И.П., Климачев В.В. и др. Гистологическое строение перитуморозной зоны при раке почки. *Вестн НГУ* 2011;(2):141–6.
6. Mairinger T., Mikuz G., Gschwendter A. Nuclear chromatin texture analysis of nonmalignant tissues can detect adjacent prostatic adenocarcinoma. *Prostate* 1999; 41:12–9.
7. Montironi R., Hamilton P.W., Scarpelli M. Subtle morphological changes in normal — looking epithelium in prostates with prostatic intraepithelial neoplasia of cancer. *Europ Urol* 1999; 35(5–6):468–73.
8. Billemont B., Meric J.B., Izzedine H. et al. Angiogenesis and renal cell carcinoma. *Bull Cancer* 2007;94:232–40.
9. Sharma S.G., Aggarwal N., Gupta S.D. et al. Angiogenesis in renal cell carcinoma: correlation of microvessel density and microvessel area with other prognostic factors. *Int Urol Nephrol* 2011;43:125–9.
10. Fuhrman S.A., Lasky L.C., Limas C. Prognostic significance of morfologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1982;6:655–63.
11. Dascal Y., Smetana K., Buch H. Evedence from studies on segregated nucleoli that nucleolar silver stained proteins C 23 and B 23 are in fibrillar components. *Exp Cell Res* 1980;127:285–91.
12. Бобров И.П., Авдалян А.М., Климачев В.В. и др. Модификация гистохимического метода выявления ядрышковых организаторов на гистологических срезах. *Арх патол* 2010; 72(3):35–7.