
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Авторы, 2014
УДК 618.19-091.8

**МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ИЗМЕНЕНИЙ
ТУЧНОКЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ В СТРОМЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
ПРИ ФИБРОЗНО-КИСТОЗНОЙ БОЛЕЗНИ И РАКЕ**

М.В. МНИХОВИЧ^{1,4}, С.В. ВЕРНИГОРОДСКИЙ², А.А. ГАВРИЛЮК², В.Г. МИГЛЯС³

ФГБУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека РАМН»,
г. Москва (1)
Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова,
г. Винница (2)
Медицинский факультет Ужгородского национального университета,
г. Ужгород (3)
Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
г. Рязань (4)

**MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF MAST CELL POPULATION
IN MAMMARY GLAND STROMA IN PATIENTS
WITH FIBROCYSTIC BREAST CONDITION, AND CANCER**

M.V. MNIKHOVICH^{1,4}, S.V. VERNIGRODSKY², A.A. GAVRILYUK², V.G. MIGLYAS³

Research Institute of Human Morphology of the Russian Academy of Medical Sciences,
Moscow (1)
Vinnytsia National N.I. Pirogov Medical University, Vinnytsia (2)
Medical Faculty, Uzhgorod National University, Uzhgorod (3)
Ryazan State I.P. Pavlov University, Ryazan (4)

В статье изучены морфологические, ультраструктурные и функциональные характеристики популяции тучных клеток и их представительства в неизменной молочной железе, при фиброзно-кистозной болезни, фиброзно-кистозной болезни в сочетании с фиброаденомой, фиброзно-кистозной болезни с атипической гиперплазией и раке молочной железы. Исследование де-

монстрирует активную роль системы тучных клеток при всех видах изученной патологии молочной железы. Эта активация динамична, имеет циклический характер и зависит от вида опухоли.

Ключевые слова: тучные клетки, рак молочной железы, фиброзно-кистозная болезнь.

The article discusses morphological, ultrastructural, and functional properties of mast cell population in healthy mammary gland, fibrocystic breast condition, fibrocystic breast condition in combination with fibroadenoma, fibrocystic breast condition with atypical hyperplasia, and mammary gland cancer. The study demonstrates the importance of mast cell system in the fore-mentioned pathology. Mast cell activation is cyclic and depends on the type of tumor.

Keywords: mast cell, mammary gland cancer, fibrocystic breast condition.

Введение

Исследования тучных клеток при гиперпластических процессах касаются в основном опухолей различного гистогенеза, чаще злокачественных. Большое количество покоящихся и дегранулирующих тучных клеток встречается в строме раков молочной железы, легких, яичников. Тучные клетки могут локализоваться как в соединительной ткани, окружающей опухоль, так и в строме самой опухоли. Они мигрируют в места опухолевого роста, а также в регионарные лимфатические узлы в ответ на появление хемоаттрактантов. При раке молочной железы в опухолевой ткани было обнаружено больше гистамина – основного биогенного амина тучных клеток – по сравнению с окружающей неизменной тканью. Концентрация тучноклеточной триптазы в сыворот-

ке крови у пациенток с раком молочной железы в 3 раза выше, чем у здоровых женщин, поэтому определение биологически активных веществ, выделяемых тучными клетками, в некоторых случаях используется в диагностических целях. В гранулах тучных клеток заключено большое количество субстанций (триптаза, химаза, гистамин, интерлейкин-8, сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF) и др.), которые могут влиять на опухолевый рост различными путями, например через метаболиты циклооксигеназы, гепараназы и др. В литературе нет однозначного мнения о том, как тучные клетки влияют на прогрессию опухолей. Существуют две гипотезы. Согласно первой, эти клетки стимулируют канцерогенез благодаря секреции протеаз, ангио-

генных и ростовых факторов. На крысах было показано, что тучные клетки могут нарушать стромально-эпителиальные взаимодействия в аденокарциномах молочной железы. В соответствии со второй гипотезой тучные клетки, напротив, оказывают тумор-супрессорный эффект. Биологические эффекты тучных клеток определяются спектром секретируемых ими веществ. Конечный результат влияния на рост опухоли, безусловно, связан с целым комплексом взаимодействий между веществами, содержащимися в тучных клетках, и окружающими клетками стромы – эндотелиоцитами, фибробластами.

Интерес к выяснению роли тучных клеток (ТК) в опухолевом процессе возникал еще в начале прошлого столетия, когда Р. Erlich обратил внимание на то, что опухоль молочной железы у мышей была интенсивно инфильтрирована данными клетками. В последующем было показано, что инфильтрация ТК характерна для многих опухолей: меланомы кожи, карциномы легкого, рака яичников и др. Тем не менее значение инфильтрации опухоли ТК вот уже более 100 лет остается предметом дискуссий. Тучные клетки – это мультифункциональные гранулярные клетки, обнаруженные во всех органах. Многочисленные гранулы, заполняющие их цитоплазму, содержат широкий спектр полифункциональных медиато-

ров, таких как цитокины, хемокины, монокины, интерлейкины, протеазы и др. Традиционно ТК общепризнанны как ключевые клетки аллергической реакции I типа и воспаления. Несмотря на внушительный прогресс, сделанный в этом направлении, существуют нерешенные вопросы в механизмах функционирования и регуляции этими клетками тканевого гомеостаза. Тучные клетки тесно взаимосвязаны с опухолевым неоангиогенезом. Данные клеточные элементы могут воздействовать на ангиогенез различными путями: через факторы VEGF, TGF- β , TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8; нейтральные протеазы (химаза, триптаза); гепарин; матричные металлопротеиназы (МПП); гистамин; факторы хемотаксиса, взаимодействующие с моноцитами/макрофагами и лимфоцитами, которые способны к модулирующим воздействиям на сосуды; активацию тромбоцитов, которые содержат ангиогенные факторы.

Тучные клетки – гетерогенная клеточная популяция, что также проявляется в их способности экспрессировать химазу или триптазу. Химаза обладает свойствами химотрипсина, а триптаза обладает свойствами, подобными трипсину. Химаза и триптаза не только сами обладают свойством воздействовать на межклеточное вещество, но они также способны избирательно активировать МПП, выделяемые другими клетками в неактивной

форме. Оба фермента способны ремоделировать ЭцМ: химаза – через активацию МПП 9 и 2 и желатиназы А и В, а триптаза через активацию МПП.

Количество ТК и их фенотип в опухоли взаимосвязаны со степенью злокачественности опухоли. Так, обнаружено, что при раке желудка степень ангиогенеза возрастала параллельно со степенью злокачественности опухоли и была наиболее высока при IV степени злокачественности. Параллельно возрастала плотность триптаза и химаза положительных ТК, причем плотность химаза-положительных ТК более сильно коррелировала с ангиогенезом. Актуальным является исследование ТК при предраковых заболеваниях. В частности, было показано, что число ТК возрастало при дисплазиях шейки матки и карциноме *in situ* и коррелировало с числом кровеносных и лимфатических сосудов.

Исследование морфологии, биохимии и патофизиологии ТК при опухолевом росте также может быть использовано при разработке новых подходов к лечению злокачественных новообразований, в частности воздействием на опухолевый ангиогенез. Поэтому дальнейшее исследование ТК при злокачественных новообразованиях является актуальным и перспективным.

Цель исследования

Изучение морфологических и ультраструктурных особенностей ТК молочной железы у женщин при раз-

личных патологических состояниях и при РМЖ.

1. Исследовать количественное представительство, функциональную активность ТК и соотношение с другими клетками МЖ у женщин в норме, при фиброзно-кистозной болезни, фиброзно-кистозной болезни с фиброаденомой и при фиброаденоме.

2. Исследовать количественное представительство, функциональную активность ТК и соотношение с другими клетками МЖ у женщин при пролиферативной мастопатии, и фиброзно-кистозной мастопатии с атипической гиперплазией.

3. Исследовать количественное представительство, функциональную активность ТК и соотношение с другими клетками МЖ у женщин при РМЖ.

Материалы и методы

Материалом для данного исследования послужили кусочки опухолей молочной железы, полученные во время операций у 158 больных в возрасте от 26 до 82 лет. Предоперационный диагноз у 73 больных звучал как фиброзно-кистозная болезнь, у 46 – фиброаденома, у 23 – инфильтрирующий протоковый рак и у 16 пациенток диффузный фиброаденоматоз. Размеры опухолей колебались от 1,0 до 7,9 см в диаметре.

Материал проходил стандартную проводку, заливался в парафин. Парафиновые срезы окрашивались гематоксилином – эозином, по Ван-Гизону, толлу-

идиновым синим, прочным зеленым, основным коричневым, нейтральные PAS и кислые мукополисахариды.

Фрагменты ткани, полученные из различных участков опухолей у 12 больных были использованы для электронно-микроскопического исследования, при этом материал префиксировали в 2,5 % растворе глутарового альдегида, pH 7,3-7,4 в течение 4 часов. Постфиксировали в 1% растворе OsO₄ на 0,1 М фосфатном буфере (pH 7,4). Дегидратацию материала проводили в батарее с возрастающей концентрации этанола и ацетона. Об-

разцы заключали в заливочную смесь аралдита, аралдита М и эпона- 812. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца.

Результаты и их обсуждение

В молочной железе (МЖ) здоровой женщины тучные клетки (ТК) овальной, округлой формы, зрелые. Расположены вдоль кровеносных сосудов, в небольшом количестве вдоль протоков и в ацинусе чаще в соединительнотканых прослойках иногда группами по 2-3 но чаще одиночные (рис. 1, 2). Степень дегрануляции умеренная.

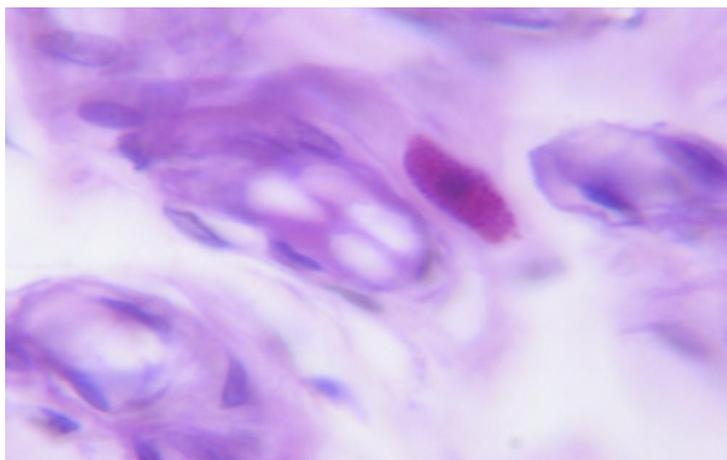


Рис. 1. Зрелая тучная клетка в перидуктальной строме молочной железы
PAS – реакция X 400

При фиброзно-кистозной болезни количество ТК достоверно увеличивается. ТК концентрируются в основном вокруг кист, здесь они мелкие, веретеновидной формы, часто дегранулированные тотально. Иногда ТК визуализиру-

ются в стенках и внутри млечных протоков, в этом случае они значительно меньших размеров, округлые с крупным ядром и менее интенсивно окрашенными гранулами, чаще без признаков дегрануляции. Функциональная актив-

ность ТК незначительно отличается от контрольных показателей.

При фиброзно-кистозной болезни в сочетании с фибroadеномой ТК – мелкие, единичные, располагаются вокруг кист, вдоль млечных протоков,

но чаще локализуются в соединительнотканых прослойках. Число зрелых и умеренно дегранулированных ТК уменьшается, а тотальная дегрануляция значительно возрастает (рис. 3).

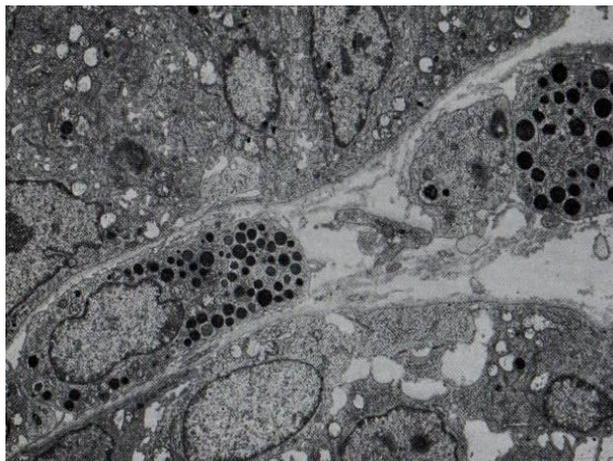


Рис. 2. Электроннограмма перидуктальной стромы молочной железы с наличием в ней ТК; контрастирование цитратом свинца X 4500

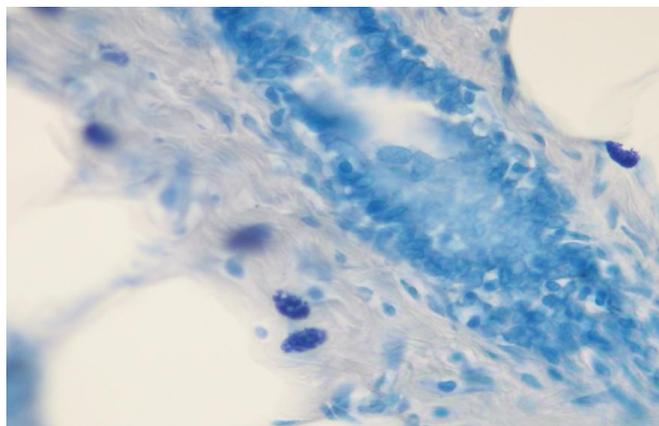


Рис. 3. Морфология тучных клеток в строме молочной железы при ФКБ. Окр. толлуидиновым синим x 400

Местами наблюдаются зрелые ТК с пустотами в цитоплазме, что может

свидетельствовать об активной экскреторной активности таких клеток немно-

го ранее (рис. 4). При фиброзно-кистозной мастопатии с атипической гиперплазией ТК вдвое больше, чем в контроле. В некоторых случаях внутри кист макрофагальные клетки с пенистой цитоплазмой, вокруг этих кист ТК особенно много и отличаются они тем, что среди них появляются очень мелкие ТК, которые чаще располагаются парами и гранулы их имеют бледно розовую окраску. Фигуры дегрануляции среди этих мелких ТК редки, хотя возможно плохо визуализируются, из-за цвета гранул. Крупные ТК, при этом, демонстрируют реакцию явной активации, то есть основная масса ТК находится в состоянии дегрануляции, чаще умеренной, хотя уровень тотальной дегрануляции, также, существенно, высок.

ТК исследовали как в самой опухолевой массе, так и в месте врастания её в подлежащую ткань. Большая часть ТК локализуется в зоне инфильтрирующего роста опухоли в подле-

жащую ткань, на фоне отчетливо выраженной лимфогистиоцитарной инфильтрации, и в периферической части опухоли, где атипические изменения клеток еще не так явно выражены. Внутри опухолевого узла ТК достаточное количество, но они нечетко визуализируются, из-за тотальной дегрануляции, многие из них визуализируются лишь при увеличении X 900. Отмечается увеличение количества мелких ТК, с небольшим содержанием светлоокрашенных гранул (рис. 5).

Местами структура ТК имеет сохраненный вид, контраст особенно очевиден на фоне общих явлений клеточно-тканевой деградации в тканях МЖ.

Внутри опухоли ТК – редкие, светлые, вытянуто-сдавленные, тотально дегранулированные, часто распадающиеся. О разрушенных ТК, напоминают небольшие группы – ядро с кольцом, цепочка или облатчко гранул (рис. 6).

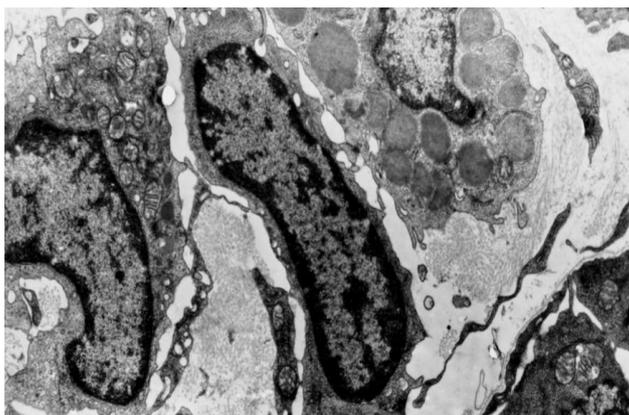


Рис. 4. Ультраструктура тучных клеток в строме молочной железы при ФКБ; контрастирование цитратом свинца и уранилацетатом x 5000

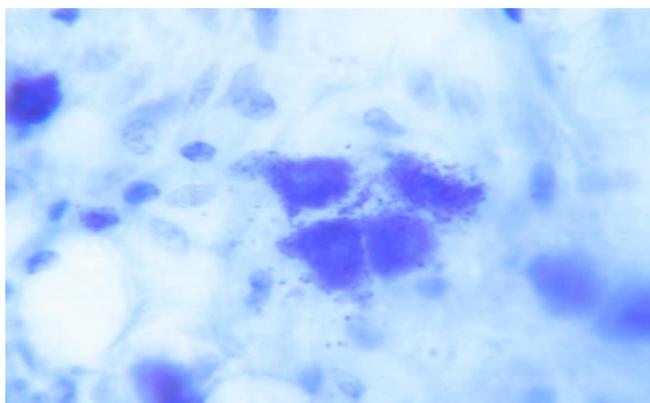


Рис. 5. Морфология тучных клеток в строме молочной железы при РМЖ
Окр. толлуидиновым синим X 900

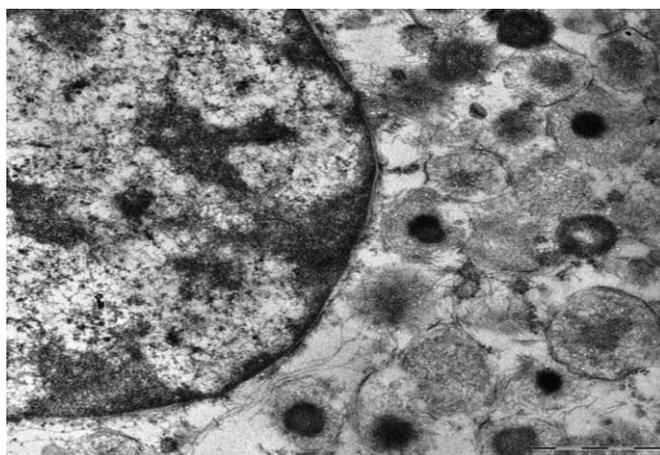


Рис. 6. Ультраструктура тучных клеток в строме молочной железы при РМЖ;
контрастирование цитратом свинца и уранилацетатом x 9000

Повсеместная тотальная дегрануляция ТК внутри опухоли свидетельствует об активации регуляторных механизмов в ткани при развитии и росте опухоли. Значительное преобладание случаев тотальной дегрануляции в системе ТК – свидетельствует также о явлениях декомпенсации адаптационных возможностей популяции. Все чаще визуализируются мелкие ТК.

На ультраструктурном уровне отмечается учащение случаев деформации, а также нарастающий полиморфизм и бледность секреторных гранул, свидетельствующий о снижении с одной стороны скорости их созревания, с другой стороны степени их зрелости. Постепенное увеличение количества пустот в цитоплазме ТК является следствием их активной дегра-

нуляционной деятельности. Диаметр наиболее крупных гранул ТК колеблется от 1,2 до 1,8 и даже 2,3 мкм, в активно дегранулирующих клетках наблюдается более выраженный полиморфизм секреторных гранул. В МЖ появляются ТК с крупным инвагинированным ядром, занимающим почти всю площадь клетки, с ободком крупных, но бледных гранул. Форма этих необычных ТК – от слегка вытянутой, до округлой. Интересно состояние клеточной мембраны ТК. При всех видах патологии МЖ, вплоть до пролиферативной мастопатии, на поверхности ТК видны мелкие пальцевидные выросты. Количество их уменьшается прямо пропорционально величине ТК и удаленности их от микрососудов. Возможно, они необходимы ТК для перемещения и при достижении ими определенной точки дислокации необходимость в них отпадает, они постепенно редуцируют, а ТК переходит на базовый режим синтеза и экскреции. На ультраструктурном уровне при РМЖ особенно отчетливо видно учащение случаев явно выраженных деструктивных изменений, разбухания, вакуолизации и разрушения ТК.

Выводы

Изучены морфологические, ультраструктурные и функциональные характеристики популяции ТК и их представительства в неизменной МЖ, при фиброзно-кистозной болезни, фиброз-

но-кистозной болезни в сочетании с фиброаденомой, фиброзно-кистозной болезни с атипической гиперплазией и раке молочной железы РМЖ. Исследование демонстрирует активную роль системы ТК при всех видах изученной патологии МЖ. Эта активация динамична, имеет циклический характер и зависит от вида опухоли.

Литература

1. Быков В.Л. Секреторные механизмы и секреторные продукты тучных клеток // Морфология. – 1999. – Т. 115, № 2. – С. 64-72.
2. Быков В.Л. Развитие и гетерогенность тучных клеток // Морфология. – 2000. – Т. 117, № 2. – С. 86-92.
3. Tumour angiogenesis and mast cell density in the prognostic assessment of colorectal carcinomas // Dig. Liver Dis. – 2005. – Vol. 37 (3). – P. 162-169.
4. Baram D. Human mast cells release metalloproteinase-9 on contact with activated T cell: juxtacrine regulation by TNF-alpha // J. Immunol. – 2001. – Vol. 167 (7). – P. 4008-4016.
5. Association of mast cells with microvessel density in renal cell carcinomas // Eur. Urology. – 2006. – Vol. 50 (3). – P. 530-534.
6. Mast cell phenotypes and microvessels in non-small cell lung cancer and its prognostic significance // Hum. Pathol. – 2010. – Vol. 41 (5). – P. 697-705.
7. Perivascular mast cells in advanced gastric adenocarcinomas: an elec-

tron microscopic study // *Anticancer Res.* – 2004. – Vol. 24 (4). – P. 2257-2263.

8. Mast cells and cutaneous malignancies // *Mod. Pathol.* – 2006. – Vol. 19 (1). – P. 149-159.

9. Mast cell density, angiogenesis, blood clotting, and prognosis in women with advanced ovarian cancer // *Gynecol. Oncol.* – 2005. – Vol. 99 (1). – P. 20-25.

10. Chugunova E. Biological Function of Mast Cell Chymase. In vitro and in vivo studies: a thorny pathway // Doctoral thesis Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala. – 2004.

11. Role of mast cells in tumor growth // *Ann. Clin. Lab. Sci.* – 2007. – Vol. 37 (4). – P. 315-322.

12. Crivellato E. Mast cell contribution to tumor angiogenesis: a clinical approach / E. Crivellato, B. Nico, D. Ribatti // *Eur. Cytokine Netw.* – 2009. – Vol. 20 (4). – P. 197-206.

13. Crivellato E. Mast cells and tumour angiogenesis: new insight from experimental carcinogenesis / E. Crivellato, B. Nico, D. Ribatti // *Cancer Lett.* – 2008. – Vol. 269 (1). – P. 1-6.

14. Dundar E. The significance and relationship between mast cells and tumor angiogenesis in non-small cell lung carcinoma // *J. Int. Med. Res.* – 2008. – Vol. 36 (1). – P. 88-95.

15. Galinsky D.S. Mast cells and cancer-no longer just basic science / D.S. Galinsky, H. Nechushtan // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* – 2008. – Vol. 68 (2). – P. 115-130.

16. Galli S.J. Mast cells and basophils / S.J. Galli // *Curr. Opin. Hematol.* – 2000. – Vol. 7 (1). – P. 32-39.

17. Grizzi F. Mast cells and human hepatocellular carcinoma / F. Grizzi, B. Franceschini, M. Chiriva-Internati // *World J. Gastroenterol.* – 2003. – № 9. – P. 1469-1473.

18. Mast cells are novel independent prognostic markers in prostate cancer and represent a target for therapy // *Am. J. Pathol.* – 2010. – Vol. 177 (2). – P. 1031-1041.

19. Kasacka I. Immunohistochemical evaluation of mast cell and mast cell activity tryptase and chymase in experimental fibrosarcoma / I. Kasacka, B. Sawicki, W. Roszkowska-Jakimiec // *Ann. Ac. Med. Bialostocensis.* – 2004. – Vol. 49 (1). – P. 61-63.

20. Kwon G.Y. Mast cell and macrophage counts and microvessel density in invasive breast carcinoma-comparison analysis with clinicopathological parameters / G.Y. Kwon, S.D. Lee, E.S. Park // *Cancer Res. Treat.* – 2005. – Vol. 37 (2). – P. 103-108.

21. Mast cell density and angiogenesis in oral dysplastic epithelium and low- and high-grade oral squamous cell carcinoma // *Acta Odontol. Scand.* – 2010. – Vol. 68 (5). – P. 300-304.

22. Advances in mast cell biology: new understanding of heterogeneity and function // *Mucosal. Immunol.* – 2010. – Vol. 3 (2). – P. 111-128.

23. The role of macrophages and mast cells in lymphangiogenesis and angiogenesis in cervical carcinogenesis // *Exp. Mol. Pathol.* – 2010. – Vol. 25. – P. 5-11.

24. Mast cells degranulation affects angiogenesis in the rat uterine cervix during pregnancy // *Reproduction.* – 2004. – Vol. 127 (3). – P. 379-387.

25. Intensity of angiogenesis and mast cell infiltration in cervical intraepithelial and invasive lesions – are they

correlated? // *Pathol. Res. Pract.* – 2010. – Vol. 206 (4). – P. 217-222.

26. Mast cells in canine cutaneous hemangioma, hemangiosarcoma and mammary tumors // *Vet. Res. Commun.* – 2010. Vol. 34 (2). – P. 153-160.

27. Mast cell infiltration around gastric cancer cells correlates with tumor angiogenesis and metastasis // *Gastric Cancer.* – 1999. – Vol. 2 (1). – P. 26-32.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мнихович Максим Валерьевич – канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник центральной патологоанатомической лаборатории Научно-исследовательского института морфологии человека РАМН, г. Москва; сотрудник научного отдела ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.

E-mail: mnichmaxim@yandex.ru.

Вернигородский Сергей Викторович – канд. мед. наук, доц. кафедры патологической анатомии Винницкого национального медицинского университета им. Н.И. Пирогова, г. Винница.

E-mail: vernsot@rambler.ru.

Гаврилюк Алла Александровна – канд. мед. наук, доц., зав. кафедрой патологической анатомии Винницкого национального медицинского университета им. Н.И. Пирогова, г. Винница.

E-mail: vernsot@rambler.ru.

Мигляс Владимир Георгиевич – канд. мед. наук, доц., зав. курсом патологической анатомии при кафедре нормальной физиологии и патофизиологии медицинского факультета Ужгородского национального университета, г. Ужгород.

E-mail : MegicVG@mail.ru.