

34. Toguchida J., Yamaguchi T., Ritchie B. et al. // *Ibid.* — 1992. — Vol. 52. — P. 6194–6199.
35. Tomilson J., Barsky S., Nelson S. et al. // *Clin. Cancer Res.* — 1999. — Vol. 5. — P. 3516–3522.
36. Ueda T., Aozasa K., Tsujimoto M. et al. // *Cancer.* — 1989. — Vol. 63. — P. 1607–1611.

37. Wurl P., Meye A., Schmidt H. // *Oncogene.* — 1998. — Vol. 16. — P. 1183–1185.
38. Yodoh K., Kanamori M., Ohmori K. et al. // *Br. J. Cancer.* — 2001. — Vol. 84. — P. 1610–1615.

Поступила 28.06.02 / Submitted 28.06.02

© Коллектив авторов, 2002

УДК 616.24-006.6-091.8

Н. А. Филиппова, А. Г. Перевошиков, А. А. Махарашвили,
Ю. А. Барсуков, В. И. Книш

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЛЕЧЕБНОГО ПАТОМОРФОЗА РАКА ПРЯМОЙ КИШКИ ПОСЛЕ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ТЕРМОЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

НИИ клинической онкологии

Одним из перспективных методов комбинированного лечения больных раком прямой кишки является проведение предоперационного интенсивного крупнофракционного облучения в сочетании с локальной СВЧ-гипертермией. Применение гипертермического воздействия, по данным литературы [1–3, 6], повышает эффективность лучевой терапии и способствует улучшению отдаленных результатов лечения. В основе этого метода лежит положение об избирательном поражающем действии повышенной температуры на опухолевые клетки по сравнению с нормальными. Показано, что резистентность опухоли в основном определяется наличием в ней гипоксических клеток, которые при действии температурных режимов выше 40,5–41 °C оказываются наиболее чувствительными.

К числу основных критериев оценки эффективности предоперационной терморадии относятся изменения в опухоли на гистологическом и ультраструктурном уровнях, которые могут служить объективными показателями ее чувствительности к данному лечению. Работы, посвященные изучению действия СВЧ-гипертермии в сочетании с гамма-облучением на морфологическую структуру опухолей желудочно-кишечного тракта, немногочисленны [1, 4, 7] и не раскрывают в полном объеме специфических особенностей лечебного патоморфоза этих новообразований.

Целью настоящего исследования явилось определение на светооптическом и электронно-микроскопическом уровнях степени выраженности лечебного патоморфоза в раковых опухолях прямой кишки разной гистологической структуры после предоперационной терморадии в зависимости от разных временных интервалов последующего оперативного вмешательства.

Материал и методы. Объектом гистологического исследования был послеоперационный материал 52 больных раком прямой кишки в возрасте от 30 до 69 лет. Дистанционная гамма-терапия проводилась на аппаратах «Рокс-М» и «Агат-Р» или линейных ускорителях, генерирующих энергию

N.A. Filippova, A.G. Perevoschikov, A.A. Makharashvili,
Yu.A. Barsukov, V.I. Knys

MORPHOLOGICAL ASPECTS OF THERAPEUTIC PATHOMORPHOSIS OF RECTAL CANCER AFTER PREOPERATIVE THERMORADIOTHERAPY

Institute of Clinical Oncology

Preoperative intensive large-fraction irradiation in combination with local micro-wave hyperthermia is a promising combination modality treatment for rectal cancer. As reported in the literature [1-3,6], hyperthermia increases response to radiotherapy and improves follow-up results. This methodology is based on the assumption that high temperature produces a selective effect on tumor cells as compared to normal ones. Tumor resistance depends upon the presence of hypoxic cells that are most labile to high temperature (above 40.5–41 °C).

Histological and ultrastructural changes in the tumor, i.e. objective evidence of tumor sensitivity to treatment, are the principal test for efficacy of preoperative thermoradiotherapy. There are few reports on the effect of micro-wave hyperthermia in combination with gamma-irradiation on morphological structure of gastrointestinal tumors [1,4,7] that fail to describe in detail the specific features of radiation pathomorphosis in this tumor type.

The purpose of this study was to assess by light and electron microscopy degree of therapeutic pathomorphosis in rectal cancers of different histology as a result of preoperative thermoradiotherapy with respect to time to surgery.

Materials and Methods. The study was performed on surgical specimens from 52 patients with rectal cancer aged 30 to 69 years. Distant gamma-therapy was performed using a Pocus-M and an Agat-R units or linear accelerators generating 15 MeV braking radiation. The patients were exposed to radiation at a single dose 5 Gy for 5 days prior to surgery. Intracavitary micro-wave hyperthermia was given using Yakhta-3 and Yakhta-4 apparatus at 915 and 460 MHz electromagnetic oscillation frequencies for 60 min. Local hyperthermia was given immediately before radiotherapy (1-3 sessions depending upon individual sensitivity) prior to 2-5 irradiation sessions.

Specimens from 12 patients were also studied by electron microscopy. Tumor specimens from the central and peripheral segments and from normal rectal mucosa immediately adjacent to the tumor were embedded to EPON-812 by standard procedure to study in detail areas of interest after preliminary review of semi-thin sections. Study of tumor ultrastructure was made using a JEM-1200 EX-II (Japan) electron microscope. Biopsy specimens taken from the same tumors before treatment were used as control.

Results. Histological study discovered well differentiated adenocarcinoma in 8, moderately differentiated adenocarcinoma in 21,

Таблица

Table

Лечебный патоморфоз в опухолях прямой кишки после предоперационной терморадיותרпии в зависимости от степени дифференцировки

Therapeutic pathomorphosis in rectal cancer as a result of preoperative thermoradiotherapy with respect to tumor differentiation

Степень дифференцировки аденокарцином прямой кишки	Степень лечебного патоморфоза								Всего	
	I		II		III		нет патоморфоза			
	абс.	%*	абс.	%*	абс.	%*	абс.	%*	абс.	%*
Высокодифференцированная Well differentiated	1	12,5	4	50,0	2	25,0	1	12,5	8	100
Умереннодифференцированная Moderately differentiated	5	23,8**	10	47,6	6	28,6	0	–	21	100
Низкодифференцированная Poorly differentiated	0	–	5	45,5	6	54,5	0	–	11	100
Слизистая Mucinous	1	8,3	3	25,0	7	58,3	1	8,3	12	100
Итого*** Overall***	7	13,5	22	42,3	21	40,4	2	3,8	52	100
Differentiation of rectal adenocarcinomas	No.	%*	No.	%*	No.	%*	No.	%*	No.	%*
	I		II		II		none		Total	
	Therapeutic pathomorphosis grade									

П р и м е ч а н и я . * — процент рассчитан от общего числа больных с одинаковым гистологическим строением опухоли; ** — различия достоверны по сравнению с группой больных с низкодифференцированной аденокарциномой ($p < 0,05$); *** — процент рассчитан от общего числа облученных больных.

N o t e s . *, percentage of the total number of patients with the same tumor histology; **, significant differences with poorly differentiated adenocarcinoma cases ($p < 0.05$); ***, percentage of the total number of patients undergoing irradiation.

тормозного излучения 15 МэВ. Больных облучали в течение 5 дней до операции, разовая доза — 5 Гр. Внутриполостная СВЧ-гипертермия осуществлялась на аппаратах «Яхта-3» и «Яхта-4» с частотой электромагнитных колебаний 915 и 460 МГц в течение 60 мин. Локальная гипертермия проводилась непосредственно перед сеансом лучевой терапии (1—3 сеанса в зависимости от индивидуальной чувствительности), перед 2—5 сеансами облучения.

На препаратах 12 больных было выполнено также и электронно-микроскопическое исследование. Кусочки опухоли из центральных и периферических отделов, а также из непосредственно прилежащей к опухоли нормальной слизистой оболочки прямой кишки заключали в ЭПОН-812 по общепринятой методике и после предварительного просмотра полутонких срезов в световом микроскопе прицельно затачивали блоки на интересующие участки. Изучение ультраструктуры опухоли осуществлялось в электронном микроскопе JEM-1200 EX-II (Япония). Контролем для оценки наблюдаемых изменений были биоптаты тех же опухолей, полученные до соответствующего лечения.

Результаты исследования. При гистологическом исследовании материала у 8 больных обнаружена высокодифференцированная аденокарцинома, у 21 — умереннодифференцированная, у 11 — низкодифференцированная и у 12 — слизистая.

Степень выраженности лечебного патоморфоза на гистологическом уровне определялась по критериям, разработанным Г. А. Лавниковой [5].

Наблюдаемые при светооптическом исследовании материала удаленных опухолей изменения носили, как правило, однотипный характер и выражались в нарастании дистрофических и

poorly differentiated adenocarcinoma in 11 and mucinous adenocarcinoma in 12 cases. Histological degree of therapeutic pathomorphosis was assessed by G.A. Lavnikova's criteria [5].

Light microscopy of tumor specimens demonstrated similar changes as increasing dystrophic and necrobiotic processes in cancer cells. As seen in the table, 7 patients receiving thermoradiotherapy had morphological changes corresponding to grade I pathomorphosis, 22 had grade II and 21 had grade III, 2 cases had no signs of pathomorphosis.

These results are evidence of a considerable damaging effect of preoperative thermoradiotherapy on rectal cancer. Analysis of the results with respect to tumor histological differentiation demonstrated preponderance of grade III radiation pathomorphosis (54.5% of cases) in patients with poorly differentiated adenocarcinoma which was much higher as compared to well and moderately differentiated tumors. There were no significant differences in the results between mucinous and poorly differentiated adenocarcinomas.

One patient receiving 1 session of preoperative micro-wave hyperthermia (mucinous adenocarcinoma T4N0M0) and surgery at 24 h after thermoradiotherapy demonstrated considerable changes in tumor tissue as assessed by light and electron microscopy. Light microscopy discovered (fig.1, a-d) marked

некробиотических процессов в раковых клетках (табл.). Таким образом, у 7 больных из числа получавших термолучевую терапию выявлены морфологические изменения, соответствующие I степени патоморфоза, у 22 — II степени, у 21 — III степени, а у 2 больных лечебный патоморфоз в опухоли не наблюдался.

Полученные результаты достаточно убедительно свидетельствуют о значительном повреждающем действии, которое оказывает на рак прямой кишки методика предоперационной терморadioтерапии. Если сравнить опухоли с разной степенью гистологической дифференцировки, очевидно преобладание III степени лечебного патоморфоза (54,5% наблюдений) в группе больных с низкодифференцированной аденокарциномой, что достоверно выше аналогичного показателя по сравнению с высоко- и умереннодифференцированными формами. Сравнительный анализ лучевого патоморфоза между слизистой и низкодифференцированной аденокарциномой достоверных различий не выявил.

У больного, прошедшего 1 сеанс предоперационной СВЧ-гипертермии (слизезообразующая аденокарцинома T4N0M0) и оперированного через 24 ч после окончания термолучевого лечения на светооптическом и ультраструктурном уровне, были выявлены значительные изменения опухолевой ткани. При светооптическом исследовании обнаружено (рис. 1, а), что структура опухоли резко нарушена (III степень лечебного патоморфоза) за счет разрастания соединительной ткани, инфильтрации лимфоидными элементами плазматическими клетками, эозинофилами. Определялись группы опухолевых клеток, собранные в бесструктурные конгломераты либо формирующие отдельные железиноподобные образования с выраженными дистрофическими изменениями.

При электронно-микроскопическом исследовании центральных участков новообразования наблюдались фрагменты погибших клеток, большое количество свободнолежащих эритроцитов, пучки тонких фибриллярных структур, коллагеновые волокна разной степени зрелости, поля мелкозернистого вещества. На фоне встречались группы резко деформированных клеток (рис. 1, б) с крупными уродливыми ядрами. Хроматин в виде грубых скоплений в разных участках кариоплазмы, ядрышки в основном гипертрофированы, в цитоплазме — отекающие митохондрии с остатками

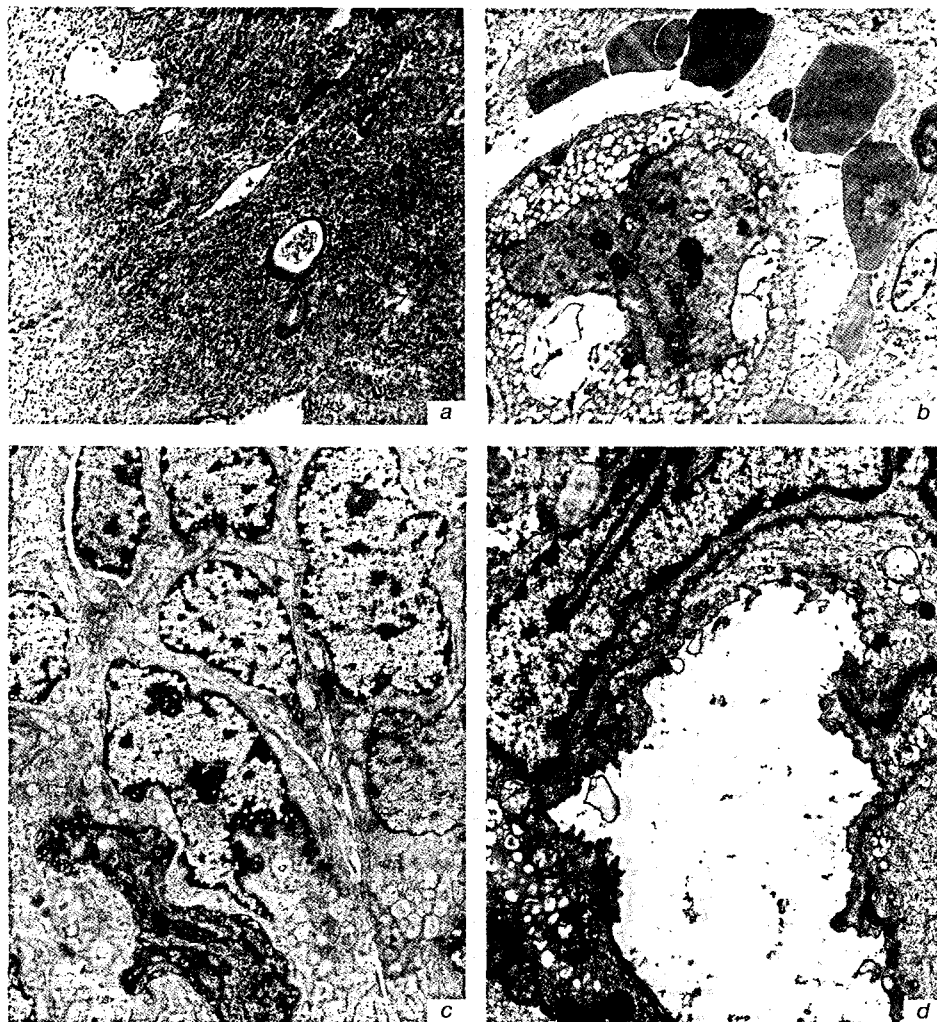


Рис. 1 (а-д). Морфологические изменения в ткани опухоли прямой кишки после 1 сеанса предоперационной СВЧ-гипертермии (операция через 24 ч после окончания термолучевого лечения).

а — III степень лечебного патоморфоза. Среди обширных полей фиброзной и некротизированной ткани опухоли имеются единичные железистые образования из некробиотически измененных раковых клеток. $\times 100$; б — клетка с выраженными дистрофическими изменениями среди мелкозернистого вещества с фрагментами органоидов клеток и свободнолежащих эритроцитов. $\times 9600$; в — группа опухолевых клеток с крупными ядрами уродливой формы с маргинальным расположением хроматина. Ядерные поры расширены. В цитоплазме варьирующее количество относительно сохраненных органелл. $\times 4000$; д — фрагмент капилляра. Эндотелиоциты с крупными уродливыми ядрами. Выражена вакуолизация органелл цитоплазмы, микроворсинки редуцированы. $\times 25\,000$.

Fig. 1 (a-d). Morphological changes in rectal cancer following 1 preoperative microwave hyperthermia session (surgery 24 h after thermoradiotherapy).

a, grade III pathomorphosis. There are solitary glandular clusters of cancer cells with necrobiotic changes among vast fields of fibrous and necrotized tumor tissue. $\times 100$; b, a cell with marked dystrophic changes among small-granular substance with cell organoid fragments and free lying red cells. $\times 9,600$; c, cells with large misshapen nuclei demonstrating marginal chromatin location. Nuclear pores are enlarged. A varying number of relatively well preserved organelles. $\times 4,000$; d, a capillary fragment. Endotheliocytes with large misshapen nuclei. Marked cytoplasmic organelle vacuolation, reduced microvilli. $\times 25,000$.

changes in tumor structure (grade III radiation pathomorphosis) due to growth of connective tissue, infiltration of lymphoid elements, plasmatic cells, eosinophils. There were tumor cell clusters in the form of unstructured conglomerations or separate glandular formations with marked dystrophic changes.

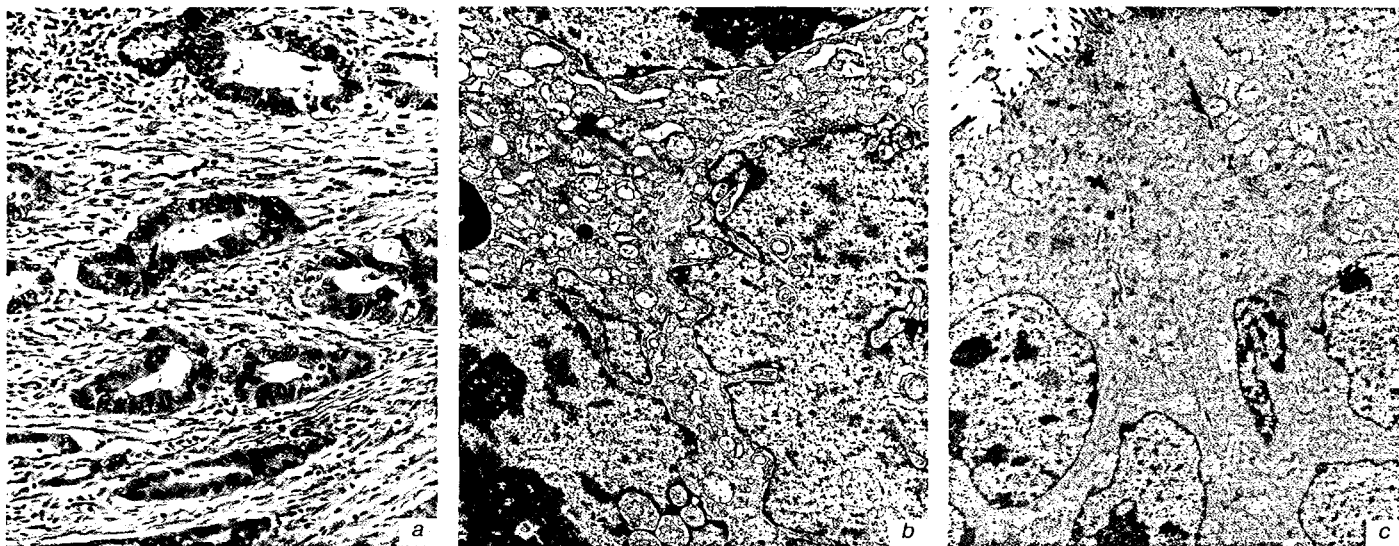


Рис. 2 (а–с). Морфологические изменения в ткани опухоли прямой кишки после 2 сеансов предоперационной СВЧ-гипертермии (операция через 24 ч после окончания термолучевого лечения).

а — I степень лечебного патоморфоза. Общая структура опухоли сохранена. В железистоподобных структурах отмечаются полиморфизм и дистрофические изменения части раковых клеток. $\times 120$; **б** — группа опухолевых клеток с крупными уродливой формы ядрами. В цитоплазме относительно сохранены органеллы. Между клетками встречаются десмосомоподобные соединения. $\times 25\,000$; **с** — группа клеток с относительно сохраненной структурой. $\times 8\,000$.

Fig. 2 (a-c). Morphological changes in rectal cancer tissue following 2 sessions of preoperative micro-wave hyperthermia (surgery at 24 h after thermoradiotherapy).

a, grade I therapeutic pathomorphosis. Preserved general tumor structure. Glandular-like structures are polymorphous, there are dystrophic changes in some cancer cells. $\times 120$; **b**, tumor cells with misshapen nuclei. Organelles in the cytoplasm are preserved rather well. There are desmosome-like cell connections. $\times 25\,000$; **c**, cells with a rather well preserved structure. $\times 8\,000$.

крист, вакуоли разной величины. Границы клеток практически не определялись, специализированные соединения отсутствовали. В периферических отделах опухоли много клеток в состоянии некроза с выраженными признаками дистрофии, однако встречались группы клеток с относительно сохраненной структурой органоидов (рис. 1, с). Плазматические мембраны этих клеток были хорошо сохранены, встречались единичные специализированные соединения.

Сосудистые образования в центральных отделах опухоли практически отсутствовали, а в периферических часто имели выраженные в разной степени дистрофические изменения (рис. 1, d). Эндотелициты нередко имели крупные уродливые ядра с включениями, часто наблюдались набухание и вакуолизация органелл цитоплазмы. Просветы сосудов часто неправильной формы, базальная мембрана нередко фрагментирована. Однако встречались и неизмененные сосуды. Прилежащая к опухоли нормальная слизистая хорошо сохранена и практически лишена ультраструктурных изменений.

При гистологическом исследовании опухоли у больной, получившей, кроме облучения, 2 сеанса СВЧ-гипертермии (умереннодифференцированная аденокарцинома T3N0M0) и оперированной тоже через 24 ч после окончания термолучевого лечения, заметных изменений в общей структуре новообразования не наблюдалось. Отмечались лишь более выраженный клеточный полиморфизм и признаки дистрофии клеток (рис. 2, а) (I степень лечебного патоморфоза с участками II степени). В таком случае показателем действия проведенного лечения могут быть главным образом суб-микроскопические изменения. Исследование тонкой структуры опухоли показало выраженные изменения ядерно-цитоплазматического

Electron microscopy of the tumor central area discovered dead cell fragments, a large number of free red cells, bundles of thin fibril structures, collagen fibers of different maturity, fields of a small-granular substance. There were severely deformed cells (fig.1,b) with large misshapen nuclei against the background. Chromatin was seen as rough clusters in different karyoplasm areas, most nucleoles were hypertrophied. Edematous mitochondria with cryst residues and vacuoles of different size were found in the cytoplasm. Cell boundaries were practically undetectable, there were no specialized connections. Tumor peripheral segments contained many necrotic cells with marked dystrophy signs, though there were also cells with relatively intact organoid structure (fig.1,c). These cells had well preserved plasmatic membranes and solitary specialized structures. There were practically no vascular formations in the tumor central segments, while peripheral segments often demonstrated variously marked dystrophic changes (fig.1,d). Endotheliocytes often had large misshapen nuclei and swelling, vacuolated cytoplasmatic organelles. Vascular lumens were irregular, the basement membranes were fragmented. However, there were intact vessels too.

Normal mucosa adjacent to the tumor was well preserved and had practically no ultrastructural changes.

Histological study of the tumor from a patient receiving irradiation with 2 hyperthermia sessions (moderately differentiated adenocarcinoma T3N0M0) and surgery to follow at 24 h failed to discover marked structural changes. There were more marked cellular polymorphism and signs of cell dystrophy (fig.2,a) (grade I therapeutic pathomorphosis with grade II areas). In this case mainly submicroscopical changes may provide evidence of treatment effect. Study of tumor subtle structure found marked

соотношения в части клеток. Это клетки (рис. 2, *b*) неправильной формы с крупными уродливыми ядрами. Хроматин в виде грубых скоплений располагался в них преимущественно по периферии. Ядерные поры многочисленные и значительно расширены. Количество органелл в цитоплазме варьировало. Они были достаточно хорошо сохранены. Встречались группы клеток в состоянии некроза (их несколько больше в центральных отделах опухоли). Нередко опухолевые клетки были практически не изменены (рис. 2, *c*). Характерна выраженная инфильтрация опухолевой ткани лимфоидными элементами и эозинофилами. В строме — коллагеновые волокна разной степени зрелости, много сосудистых образований, которые несколько чаще встречались на периферии опухоли. Часть из них имела обычное строение, другие изменены: эндотелиоциты с крупными неправильной формы ядрами, микроворсинки редуцированы, просвет сосудов сужен, базальная мембрана фрагментирована. Нормальная слизистая без признаков ультраструктурных изменений.

В 5 наблюдениях исследовались опухоли больных, получивших 3 сеанса гипертермии совместно с воздействием гамма-облучения и оперированных через 24 ч после окончания термолучевого лечения (4 — умереннодифференцированные аденокарциномы со стадией заболевания T3N0M0 и 1 — со стадией заболевания T3N1M0).

При гистологическом исследовании изменения в одной опухоли соответствовали II степени, а в отдельных участках I степени лечебного патоморфоза, в 3 — II степени (рис. 3, *a*) и в одной — II с участками III степени. Изменения ультраструктуры в них были однотипными, лишь с разной степенью выраженности повреждений клеточных структур. Выявлялись лучевые гиганты (рис. 3, *b*). В центральных отделах наблюдались бесструктурные участки с фрагментами органоидов клеток, участки некроза. Встречались клетки с глубокими дистрофическими изменениями: просветленная цитоплазма с вакуолями, миелиновыми фигурами, лизосомами. Количество органелл варьировало. Ядра в части клеток сморщенные, ядерная оболочка нечеткая, хроматин размыт (рис. 3, *c*). В других клетках ядра уродливой формы, большое число ядерных включений, хроматин хлопьевидный, ядрышки гипертрофированы (рис. 3, *d*). Цитоплазма разной электронной плотности, вакуолизирована, митохондрии либо лишены крист, либо содержат их фрагменты. На периферии опухолей степень повреждения клеток значительно варьировала. Наряду с участками некроза наблюдались клетки с хорошо, умеренно и плохо сохраненной ультраструктурой. В участках, прилежащих к некротически измененным клеткам и комплексам сохранившихся клеток, большое количество свободных эритроцитов, эозинофилов, лимфоидных элементов, плазматических

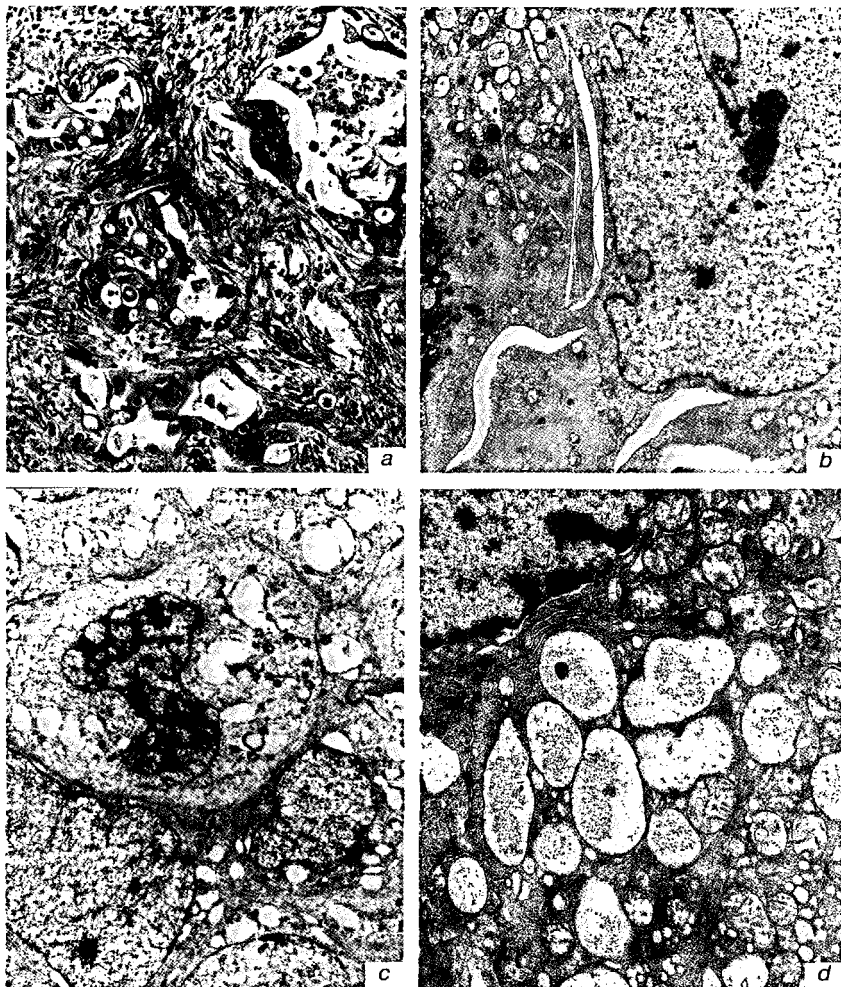


Рис. 3 (a–d). Морфологические изменения в ткани опухоли прямой кишки и в прилежащей нормальной слизистой после 3 сеансов предоперационной СВЧ-гипертермии (операция через 24 ч после окончания термолучевого лечения).

a — II степень лечебного патоморфоза. Резко выраженный полиморфизм, дистрофия и некроз раковых клеток. Образование так называемых кружевных структур в опухоли. $\times 200$; *b* — фрагмент лучевого гиганта. $\times 6000$; *c* — группы опухолевых клеток с выраженными дистрофическими изменениями: просветленная цитоплазма с вакуолями, хроматин ядер вымыт, границы клеток нечеткие. $\times 8000$; *d* — фрагмент цитоплазмы клетки нормальной слизистой оболочки, прилежащей к опухоли. Повышенное слизеобразование, вакуолизация органелл, отечность митохондрий. $\times 15000$.

Fig.3 (a-d). Morphological changes in rectal cancer tissue and in normal adjacent mucosa following 3 sessions of preoperative micro-wave hyperthermia (surgery at 24 h after thermoradiotherapy).

a, grade II therapeutic pathomorphosis. Marked dystrophism and necrosis of cancer cells. There are lacy structures. $\times 200$; *b*, a radiation giant fragment; $\times 6,000$; *c*, tumor cell clusters with marked dystrophic changes: clear cytoplasm with vacuoles, washed-away nuclear chromatin, unclear-cut cell boundaries. $\times 8,000$; *d*, a cytoplasm fragment of a cell from normal mucosa adjacent to the tumor. Increased mucus production, organelle vacuolation, mitochondrial edema. $\times 15,000$.

changes in the nucleus-cytoplasm ratio in some cells. These cells (fig.2,*b*) had irregular shape and large misshapen nuclei. The chromatin was mainly seen on the periphery as rough clusters. There were numerous and significantly enlarged nuclear pores. Cytoplasmatic organelles were varying in number. They were rather well preserved. Cell clusters in necrotic state were encountered (in a greater number in the tumor center). Some tumor cells were practically unchanged (fig.2,*c*). There was characteristic

клеток, пучки коллагеновых волокон разной степени зрелости, фибробласты. Сосудов в центральных участках опухолей мало, а в одном наблюдении они практически отсутствовали. На периферии сосудистые образования встречались чаще, степень их сохранности варьировала.

В нормальной слизистой, прилежащей к опухоли, отмечалась усиленная секреция слизи, наблюдались клетки с признаками лучевого повреждения (см. рис. 3, *d*): повышенной вакуолизацией, отеком митохондрий, повышенной электронной плотностью матрикса цитоплазмы. В строме среди коллагеновых волокон были видны сосудистые образования обычного строения.

У больного, оперированного через 2 сут после гамма-облучения и 3 сеансов СВЧ-гипертермии (умереннодифференцированная аденокарцинома T3N1M0), при светооптическом исследовании опухоли в центральных отделах были видны обширные очаги некроза, группы дистрофически измененных клеток, лимфоидная инфильтрация (III степень лечебного патоморфоза). В периферических отделах структура опухоли была в некоторых участках сохранена, в других очаги некроза сочетались с активным замещением паренхимы фиброзной тканью (II – III степень лечебного патоморфоза).

При электронно-микроскопическом исследовании в центральных отделах опухоли наблюдались большие очаги некроза и клетки с глубокими дистрофическими изменениями. Ядра в них фрагментированы, с глубокими скоплениями хроматина, цитоплазма вакуолизирована, ее матрикс уплотнен, плазматические мембраны клеток практически не определяются. Сосудистые образования не наблюдались. В периферических участках опухоли среди фиброзной ткани были видны комплексы клеток со слабой, умеренной и высокой степенью повреждения клеточных органелл. Сосудистые образования немногочисленны, часть из них имели выраженные дистрофические изменения. В нормальной слизистой наблюдались усиленная секреция слизи, единичные клетки с признаками слабо выраженного лучевого повреждения (ядра неправильной формы с инвагинациями, расширенные цистерны ШЭР — шероховатый эндоплазматический ретикулум, ГЭР — гладкий эндоплазматический ретикулум, отечность митохондрий).

Исследование опухолей через 3 сут после лучевой терапии с двумя сеансами СВЧ-гипертермии (умереннодифференцированная аденокарцинома T3N0M0, низкодифференцированная аденокарцинома T3N1M0). При светооптическом исследовании изменения в I-й опухоли соответствовали II степени лечебного патоморфоза, во 2-й — I степени. При электронно-микроскопическом исследовании отмечалось ослабление межклеточных контактов, уменьшение числа специализированных соединений. На свободных поверхностях клеток большое количество микроворсинок, нередко внутриклеточные каналы с аморфным или зернистым содержимым. В межклеточных пространствах — фрагменты погибших клеток. Ядра клеток уродливой формы с гипертрофированными ядрышками. Степень повреждения органелл в цитоплазме варьировала. В некоторых клетках была значительно выражена вакуолизация цитоплазмы, иногда определялось большое количество лизосом. Нормальная слизистая хорошо сохранена. Выражена инфильтрация ее лимфоидными элементами, нейтрофильными лейкоцитами, эозинофилами и плазматическими клетками.

infiltration of tumor tissue by lymphoid elements and eosinophils. The stroma contained collagen fibers of different maturity, many vascular formations, somewhat more frequent on the periphery. Some of them had normal structure, others were changed: endotheliocytes had large irregular nuclei, reduced microvilli, narrowed vascular lumen, fragmented basement membrane. Normal mucosa was free from ultrastructural changes.

Five patients received 3 hyperthermia sessions in combination with gamma-radiation and underwent surgery at 24 h after thermoradiotherapy (4 moderately differentiated adenocarcinomas T3N0M0 and 1 T3N1M0 disease). Histological study discovered changes corresponding to grade II and in some areas to grade I pathomorphosis in 1, grade II in 3 (fig.3,*a*) and grade II with grade III areas in 1 cases. The specimens demonstrated similar ultrastructural changes with different degree of cell structure damage. There were radiation giants present (fig.3,*b*). Unstructured areas with organoid fragments and necrosis were seen in central regions. There were cells with severe dystrophic changes such as clear cytoplasm with vacuoles, myelin figures, lysosomes. The organelles varied in number. Some cells demonstrated nucleus shrinkage, unclear-cut nuclear membranes (fig.3,*c*) other cells had misshapen nuclei, numerous nuclear inclusions, flake-like chromatin, hypertrophied nucleoles (fig.3,*d*). Cytoplasm had different electron density, was vacuolated, mitochondria had no or fragmented crystals. The cell changes on the tumor periphery were varying considerably. Together with necrosis areas there were cells with well, moderately and poorly preserved ultrastructure. There were a large number of free red cells, eosinophils, lymphoid elements, plasmatic cells, collagen fiber bundles, fibroblasts in areas adjacent to necrotic cells and intact cell clusters. There were few vessels in the tumor center (practically none in one case). On the periphery vessels of different degree of preservation were seen more frequently.

Normal mucosa adjacent to the tumor demonstrated increased mucus production, there were cells with signs of radiation injury (see fig.3,*d*) (increased vacuolation, mitochondrial edema, increased electron density of cytoplasm matrix). There were normal vascular formations among collagen fibers in the stroma.

Light microscopy of specimens from a patient undergoing surgery at 2 days after gamma-irradiation and 3 micro-wave hyperthermia sessions (moderately differentiated adenocarcinoma T3N1M0) demonstrated large necrosis areas, clusters of dystrophic cells, lymphoid infiltration (grade III pathomorphosis) in the tumor center. On the periphery the tumor structure was preserved in some regions, in other areas necrosis foci were seen together with active substitution of fibrous tissue for parenchyma (grade II-III therapeutic pathomorphosis).

Electron microscopy discovered large necrotic areas and cells with severe dystrophic changes in the center. The cells had fragmented nuclei with deep chromatin gatherings, vacuolated cytoplasm with condensed matrix and practically undetectable plasmatic membranes. There were no vessels. On the periphery there were cell clusters with mild, moderate or severe cell organelle injury. There were only few vascular formations, a part of them having marked dystrophic changes. Normal mucosa demonstrated increased mucus production, solitary cells with signs of mild radiation injury (irregular nuclei with invagination,

Структурные изменения опухолей больных, прооперированных через 9 сут после 2 сеансов СВЧ-гипертермии (умереннодифференцированная аденокарцинома T3N1M0) и через 14 сут после 3 сеансов СВЧ-гипертермии (умереннодифференцированная аденокарцинома T3N0M0) были аналогичными и соответствовали III степени лечебного патоморфоза.

При электронно-микроскопическом исследовании среди фибробластов, пучков коллагеновых волокон, свободнолежащих эритроцитов, лимфоидных элементов, макрофагов с большим числом лизосомальных структур, сосудистых образований не измененных и с признаками дистрофии наблюдались единичные клетки паренхимы опухоли или их комплексы с дистрофическими изменениями разной степени выраженности и клетки в состоянии некроза.

Заключение. Световое и электронно-микроскопическое исследование опухолей больных раком прямой кишки после проведения предоперационного интенсивного крупнофракционного облучения в сочетании с СВЧ-гипертермией показало, что изменения в них носили, как правило, однотипный характер и выражались в нарастании дистрофических и некробиотических процессов в паренхиме и строме опухоли. В большей степени разрушению и гибели подвергались центральные участки. Определены схожие картины повреждения органоидов клетки: разрушение ядерных и клеточных оболочек, распад клеток на отдельные фрагменты, вакуолизация и фрагментация цистерн эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи, набухание и разрушение митохондрий. Предоперационная терморadioтерапия оказывает значительное повреждающее действие на опухоль. III степень лечебного патоморфоза отмечена у 40,4% больных. Характерна разница в реакции опухолей на лечение. Одни и те же гистологические формы опухолей при однотипном лечении у разных больных имеют разную степень повреждения ультраструктуры. Однако в целом в низкодифференцированных и слизистых аденокарциномах отмечается преобладание III степени лечебного патоморфоза. Проведенное исследование позволило проследить динамику ультраструктурных изменений опухолевых клеток в разные временные интервалы после окончания лечения, что важно для определения оптимальных сроков проведения терморadioтерапии. Исследование ультраструктуры нормальной слизистой оболочки, прилежащей к опухоли, показало, что терморadioтерапия воздействует на нее лишь в минимальной степени.

Работа выполнена в рамках проекта РФФИ № 00-15-979-39

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Барсуков Ю. А., Черкес В. Л., Царюк В. Ф., Бондарь Г. В. Рак ободочной и прямой кишки. — М., 1997. — С. 184—199.
2. Бердникова И. П., Шилова Л. В., Рожков М. Ф. //Мед. радиол. — 1981. — № 6. — С. 64—66.
3. Голдобенко Г. В., Дурнов Л. А., Кыш В. И. и др. //Там же. — 1987. — № 1. — С. 36—38.
4. Зотиков Л. А., Мамигонов П. М., Талахин К. А. и др. //Экспер. онкол. — 1993. — Т. 15, № 3. — С. 64—68.
5. Лавникова Г. А. //Мед. радиол. — 1979. — № 2. — С. 14—18.
6. Лопатин В. Ф., Деденков А. Н. //Там же. — 1979. — № 9. — С. 9—13.
7. Лушников Е. Ф., Зарицкая А. И. //Там же. — 1986. — № 6. — С. 79—83.

enlarged RER [rough endoplasmatic reticulum] and SER [smooth endoplasmatic reticulum] cisterns, mitochondrial edema).

Study of patients undergoing surgery at 3 days following radiotherapy with two micro-wave hyperthermia sessions (moderately differentiated adenocarcinoma T3N0M0, poorly differentiated adenocarcinoma T3N1M0) demonstrated the following. Light microscopy discovered tumor changes corresponding to grade II (one case) and grade I (the other case) pathomorphosis. Electron microscopy discovered weaker intercellular contacts, reduction in specialized connections. There were a large number of microvilli on free cell surfaces, intracellular tubules with amorphous or granular contents were often seen. There were fragments of dead cells in intercellular space. Cell nuclei were misshapen and had hypertrophied nucleoli. Cytoplasmatic organelles demonstrated variable degree of damage. Some cells had marked cytoplasm vacuolation, sometimes there were a large number of lysosomes. Normal mucosa was well preserved. It demonstrated marked lymphoid, neutrophil, eosinophil and plasmatic cell infiltration.

Similar structural changes corresponding to grade III therapeutic pathomorphosis were seen in patients undergoing surgery at 9 days after 2 micro-wave hyperthermia sessions (moderately differentiated adenocarcinoma T3N1M0) and at 14 days following 3 micro-wave hyperthermia sessions (moderately differentiated adenocarcinoma T3N0M0). Electron microscopy discovered solitary tumor parenchymal cells or their complexes with various dystrophic changes and necrotic cells among fibroblasts, collagen fiber bundles, free red cells, lymphoid elements, macrophages with a large number of lysosomal structures, intact and dystrophic vascular formations.

Conclusion. Light and electron microscopy of tumor specimens from rectal cancer patients undergoing preoperative large-fraction irradiation in combination with micro-wave hyperthermia demonstrated similar changes mainly as increasing dystrophic and necrobiotic processes in tumor parenchyma and stroma. Central areas were injured most of all. Similar patterns of cell organoids were seen, such as destruction of nuclear and cellular membranes, cell fragmentation, vacuolation and fragmentation of endoplasmatic reticulum and Golgi system cisterns, swelling and enlargement of mitochondria. Preoperative thermoradiotherapy produced a significant destructive effect on the tumor. Grade III pathomorphosis was observed in 40.4% of cases. The tumors demonstrated individual sensitivity to treatment: tumors of the same histological type responded differently to the same treatment in different cases. However, grade III pathomorphosis was achieved mainly in poorly differentiated and mucinous adenocarcinomas. We have studied tumor cell changes in different terms following treatment which is of much importance for establishing optimal time for thermoradiotherapy. Thermoradiotherapy produced but minimal effect on ultrastructure of normal mucosa adjacent to the tumor.

This study was performed under RFFI project 00-15-979-39.

Поступила 10.11.02 / Submitted 10.11.02