

ма. Отсутствие у обследованных больных «угасания» повышенной кортизолообразующей активности свидетельствует о том, что стресс-лимитирующие системы организма при НХЛ на всех рассмотренных стадиях заболевания находятся, вероятно, в состоянии постоянного напряжения, сменяющегося, возможно, их недостаточностью. В связи с этим при данном заболевании целесообразно исследование функционального статуса различных звеньев указанной системы с целью более полного представления о механизме повреждающего действия лимфопрролиферативного процесса и возможной коррекции выявленных сбоев.

Таким образом, проведенное исследование тиреоидного и глюкокортикоидного статуса у больных НХЛ позволило выявить наличие у всех или у части обследованных изменений гормонального гомеостаза, обусловленных или не зависящих от стадии заболевания и требующих учета при планировании лечебной тактики у данной категории пациентов.

Литература

1. Новик А.А., Мельниченко В.Я., Волошин С. В. // Вестн. Рос. военно-мед. акад. 2003. Т. 2. № 10. С. 29–31.
2. Верещагина Г.В., Трапкова А.А., Каишулина А.П. // Усп. соврем. биол. 1999. Т. 3. Вып. 1. С. 59–64.
3. Галкина О.В. // Материалы конф. физиологов и биохимиков России. СПб., 1995. С. 42–43.
4. Кривошеков С.Г., Федина Р.Г. // Проблемы эндокринологии. 1993. № 4. С. 23–26.
5. Puzianowska-Kuznika M. et al. // Post. biol. Komorki. 2001. Vol. 28. № 2. P. 183–196.
6. Xu Ming-Juan et al. // Acta Pharmacol. Sci. 2002. Vol. 23. № 9. P. 819–823.
7. Moran T. et al. // Cancez Res. 2000. Vol. 60. № 4. P. 867–872.
8. Чернышева М.П. Введение в физиологическую эндокринологию. СПб., 1995.
9. Chopra I.J. Thyroid Hormone Metabolism. Boston; Oxford; London, 1995. P. 195–210.
10. Теппермен Дж., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. М., 1989.
11. Козлова М.Б. и др. Высокие медицинские технологии в лучевой терапии злокачественных опухолей. Ростов н/Д, 1999. С. 21–23.
12. Козлова М.Б. и др. Сб. Отечественная онкология – основные пути развития. М., 2001. С. 318–325.
13. Галактионов В.Г. Иммунология. М., 1998.
14. Dantzer R., Kelly K.W. // Zife Sci. 1995. № 44. P. 1989–1994.

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт

2 ноября 2006 г.

УДК 678.19 – 006.6: 615.28

НОВЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ДОКАЗАТЕЛЬСТВА ЭФФЕКТИВНОСТИ АУТОБИОХИМИОТЕРАПИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

© 2006 г. Е.М. Непомнящая, И.А. Новикова, Т.А. Гудцова

The paper presents morphologic evidence of efficacy of autobiochemotherapy (autohemo- and autoplasmochemotherapy) by means of determining microvascular density in breast cancer tumours.

Рак молочной железы стоит на первом месте по заболеваемости среди опухолей у женщин. Поэтому решение одной из задач, позволяющих определить степень выраженности патоморфоза, наступившего под действием неоадьювантной химиотерапии на аутокрови (АГХТ) и аутоплазме (АПХТ), является актуальным.

В данной работе сопоставлены морфологические изменения в раковых опухолях молочных желез с применением АГХТ и АПХТ с контрольной группой (опухоли без лечения). Помимо традиционных критериев оценки степени патоморфоза, определен новый признак – микрососудистая плотность.

Солидные опухоли требуют кровоснабжения для своего роста, и новые концепции лечения направлены на подавление их васкуляризации. Существует точка зрения, что антиангиогенная терапия разрушает сосуды и приводит к нарушению доставки в опухоль кислорода и питательных продуктов. J.K. Rakesh выдвинул гипотезу, согласно которой некоторые антиангиогенные препараты способствуют «нормализации» нарушенной структуры кровоснабжения, улучшают оксигенацию и доставку лекарственных препаратов в ткань опухоли [1].

В процессе лекарственной терапии в соединительной ткани опухоли происходят все общепатологические процессы – дистрофия и некроз, нарушения кро-

во- и лимфообращения, воспалительные и иммунопатологические реакции. Кровеносные сосуды опухоли – артерии, вены, синусоиды, капилляры, сосуды микроциркуляторного русла подвергаются самым разнообразным изменениям – от новообразования капилляров до облитерации просвета и гиалиноза артерий.

J. Rossler и соавт. указывают на то, что окраска гематоксилином и эозином в некоторых случаях может выявлять дифференцирующую морфологию сосудов [2]. Однако для четкой визуализации эндотелиальных клеток необходимо иммуногистохимическое исследование. Имеются новые особенности эндотелия сосудов, выявляемые иммуногистохимически, описаны маркеры, выявляющие эндотелий сосудов (CD31), рецепторы крово- и лимфоангиогенных факторов: VEGF-A, -B, -C и -D; маркеры эндотелия лимфатических сосудов – LYVE-1, Podoplanin и транскрипционный фактор PROX-1 (табл. 1).

Первый этап прогрессии опухолей – это вращение в опухолевый узел сосудов. Процесс обозначается термином «васкуляризация» или «ангиогенез». В первичный узел сосуды не прорастают, поскольку клетки эндотелия (внутреннего слоя) сосудов не получают от опухоли соответствующих сигналов. Ангиогенез начинается тогда, когда в опухоли произойдут изменения в геноме, ведущие к включению гена, отвечающе-

го за синтез сигнальных белков. Такими белками, посылающими эндотелию сосудов сигнал к росту, являются FGFb (фактор роста фибробластов b) и VEGF (фактор роста эндотелия сосудов). Эти белки, секретируемые клетками опухолей, контактируют со своими рецепторами на поверхности клеток эндотелия сосудов и передают им сигнал к росту. Клетки начинают делиться и вращать в ткань опухоли, формируя капиллярную сеть. В результате начинается активное кровоснабжение опухоли и начинается ее безудержный рост.

Таблица 1

Сравнительная характеристика кровеносных и лимфатических сосудов

Сосуды	Гистология	Маркер клеток сосудов	Гистохимия
Кровеносные (капилляры, вены, артерии)	Маленькие просветы (капилляры), выстланные эндотелиальными клетками	кровоносных	Поверхностные антигены: CD31, CD34, von-illtbrand-фактор, фактор VIII. Мембран-связанные протеины и их рецепторы. EphB4 (вены). ephrinb2 (артерии)
Лимфатические	Маленькие, часто коллабированные и крупные, заполненные кисты, выстланные эндотелием без сосудистой стенки (микроркистозные, макрокистозные лимфатические сосуды)	лимфатических	Поверхностный антиген: CD31. Рецепторы тирозинкиназы: VEGF-R3. Рецепторы гиалурона: LYVE-1. Мембранные протеины: подопланин. Транскрипционный фактор: PROX-1

Опухоли способны синтезировать целый ряд ангиогенных факторов роста, которые стимулируют образование кровеносных сосудов. Наиболее известный и распространенный среди них – васкулярный эндотелиальный фактор роста (VEGF), заставляющий кровеносную систему организма закладывать новые сосуды, которые пронизывают опухоль и образуют в ней разветвленную сеть.

В настоящее время применяется метод оценки ангиогенеза в опухолях человека по индексу внутриопухолевой микрососудистой плотности (intratumor microvessel density – MVD). Он определяется стандартным иммуногистохимическим методом с использованием эндотелиальных антигенов и позволяет количественно оценить процесс ангиогенеза в опухоли [3]. Комплекс маркеров включает антиген, связанный с VIII фактором (фактор Виллебранда, fVIII-RA) системы свертывания крови; CD31 (RECAM – молекула адгезии эндотелиальной клетки/тромбоцита) и CD34 [4, 5].

CD31 антитела служат маркером для всех эндотелиальных клеток и выявляют большее число микрососудов по сравнению с такими маркерами, как CD34 или fVIII-RA [4, 6]. Однако, по данным М. Тої и соавт. [7], индекс MVD с использованием маркеров CD31 и fVIII-RA имеет большое прогностическое значение при злокачественной опухоли. При обследовании 300 больных раком молочной железы авторы показали, что индекс MVD и экспрессия фактора роста эндотелия сосудов, определенные в первичной опухоли им-

муногистохимическим методом, имеют прогностическое значение при многофакторном анализе [7].

Результаты исследований S.B. Fox и соавт. установили, что MVD может явиться маркером активности ангиогенеза и связан с ангиогенными пептидами и ферментами, вовлеченными в деградацию внеклеточного матрикса и базальных мембран сосудов [8].

Нами проведено гистологическое исследование рака молочных желез после неoadъювантной аутогемохимиотерапии. Были обнаружены следующие изменения.

В этой группе при гистологическом исследовании опухолей было установлено, что в 15 из 20 (75 %) случаев наблюдался инфильтрирующий протоковый рак, в 4 (20 %) – инфильтрирующий дольковый рак и в 1 (5 %) – папиллярный рак.

Изучение лечебного патоморфоза в раковых опухолях молочной железы показало многообразие его проявлений. Имели место дистрофические процессы: вакуолизация цитоплазмы, кариолизис, кариопикноз, цитоллизис, в части клеток выявлены жировая дистрофия, фокальные коагуляционные и колликвационные некрозы цитоплазмы, ослабление базофилии, появление околядерных просветлений, плазмолиз с образованием «голых» ядер, остатков хроматина на месте полностью разрушенных ядер, «теней» клеток.

В случаях долькового рака ядра чаще принимали пикноморфные изменения. Отмечали комплексы гигантских гиперхромных многоядерных полиморфных опухолевых клеток со множеством ядрышек. Митозы встречались крайне редко и, как правило, были патологическими.

В 6 наблюдениях этой группы на месте опухоли обнаружили очаговый и диффузный фиброз. В фиброзной ткани определялись крупные гиперхромные одиночные раковые клетки и мелкие комплексы с выраженными дистрофическими изменениями в них.

В 2 случаях имело место полное исчезновение паренхиматозных элементов опухоли; среди фиброзированной и гиалинизированной ткани определялись те же клетки, похожих на опухолевые.

Гистологическое исследование раковых опухолей молочной железы после АПХТ выявило следующие изменения.

Данная группа опухолей в 14 из 20 (70 %) случаев была представлена инфильтрирующим протоковым раком, в 5 (25 %) – инфильтрирующим дольковым раком и в 1 (5 %) – папиллярным раком.

Под действием проведенной аутоплазмохимиотерапии в опухолях наблюдались стереотипные изменения. Они складывались из некробиотических и дистрофических процессов в раковых клетках в виде кариопикноза, кариорексиса, цитоллизиса.

Выявлялось нарастание десмопластической реакции соединительной ткани, отмечалось отложение солей извести, скопление лимфоцитов и ксантомных клеток, появлялись гигантские многоядерные клетки типа инородных тел.

В паренхиме опухоли наблюдались дистрофические изменения. Появились крупные уродливые клетки с хорошо выраженной вакуолизированной и мелкозернистой цитоплазмой. Клеточные ядра приобретали неправильную форму, подверглись вакуолизации.

Клетки часто сливались между собой, образуя много-ядерные неправильной формы симпласты. Некоторые ядра становились пикнотическими, другие подверглись лизису. Во многих полях зрения хроматин был окрашен неравномерно. На месте погибших клеток опухоли имелись очаги некроза. Имелось фиброзирование стромы.

В 8 из 20 (40 %) наблюдений этой группы отмечено резкое нарушение структуры опухоли за счет значительного увеличения доли соединительной ткани, представленной фиброзными полями, среди которых определялись комплексы раковых клеток в виде разрозненных клеток либо небольших их скоплений.

В 4 из 20 (20 %) случаев определялось практически полное исчезновение паренхиматозных элементов опухоли, наблюдались лишь «следы» бывшей опухоли в виде «теней» опухолевых клеток среди фиброзированной и гиалинизированной соединительной ткани.

Плотность микрососудов в опухолях молочной железы с использованием маркера CD31. Изучена микрососудистая сеть в раке молочной железы, выявленная при иммуногистохимическом исследовании с помощью антител CD31, количественная оценка экспрессии которых позволила нам качественно оценить процесс ангиогенеза в каждой из исследуемых групп.

Все сосуды, окрашенные антителами, в опухолях исследуемых групп были меньше 50 мкм в диаметре, т.е. в каждом отдельном случае наблюдали и оценивали микрососудистое русло, представленное капиллярами. Среди них встречались посткапиллярные венулы, диаметр которых варьировал от 8 до 30 мкм, и собирательные венулы (диаметр от 3 до 50 мкм). Сосудов больше 50 мкм в диаметре мы не наблюдали ни в одной из исследуемых нами опухолей. Полученные данные, отражающие экспрессию CD31 на эндотелии микрососудов опухолей в каждой из исследуемых групп, представлены в табл. 2.

Таблица 2

Характеристика плотности микрососудов в раках молочной железы исследуемых групп

Группа	Диаметр капилляра, мкм			Среднее количество сосудов в одном поле зрения (M±m)
	минимальный	максимальный	средний (M±m)	
Контроль	2,3	44,4	5,6±0,3	7,8±0,3
АГХТ	3,7	45,7	8,3±0,4*	5,2±0,2*
АПХТ	4,1	44,6	9,2±0,5*	4,1±0,1*

Примечание. * – отличия показателей достоверны по отношению к контролю (P ≤ 0,05).

В опухолях без лечения (контроль) микрососудистое русло внутри опухоли было представлено капиллярами от 2,3 до 44,4 мкм в диаметре. В одном поле зрения в среднем – 7,8 сосудов. Средний диаметр всех сосудов, окрашенных антителами CD31, был равен 5,6±0,7 мкм (рис. 1).

В группе АГХТ размер определяемых капилляров варьировал от 3,7 до 45,7 мкм, что незначительно отличалось от минимального и максимального размеров сосудов в опухолях контрольной группы. Несмотря на это, в 1,5 раза по сравнению с контролем уменьшилось количество сосудов и составило для опухолей

этой группы в среднем 5,2 капилляра на одно поле зрения (рис. 2 а). Уменьшение этого числа происходило за счет уменьшения количества окрашенных к CD31 капилляров наименьшего диаметра. В связи с этим средний диаметр сосуда увеличился до 8,3±±0,5 мкм (рис. 2б).

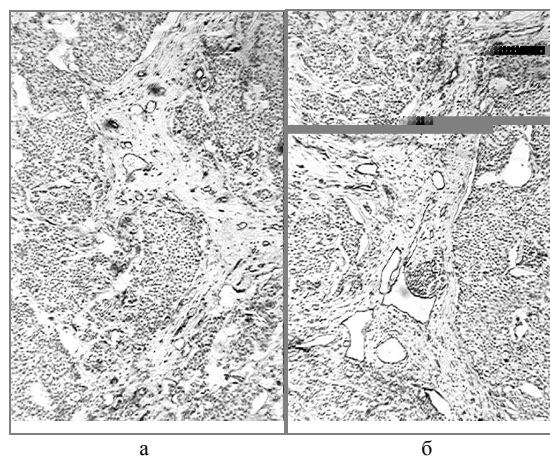


Рис. 1. Плотность капилляров в строме инфильтрирующего ductального рака. Опухоль без лечения. Окраска на CD31. × 100: а – обилие средних и мелких капилляров в строме опухоли; б – крупные капилляры в строме опухоли

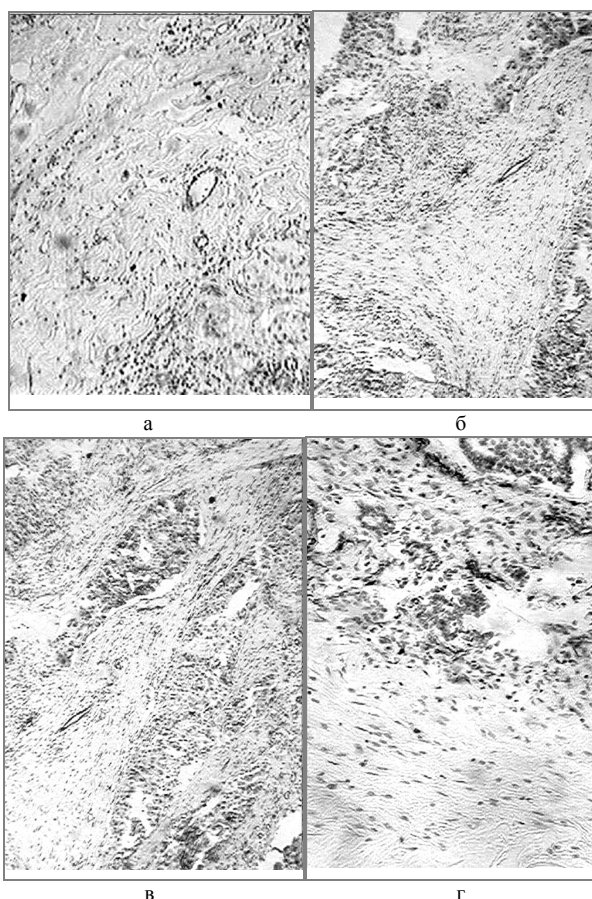


Рис. 2. Микрососудистая плотность в раковых опухолях молочной железы после аутобиотерапии. Окраска на CD31. × 100: а – АГХТ, единичные крупные капилляры в гиалинизированной строме инфильтрирующего ductального рака; б – АГХТ, единичные и средние капилляры в фиброзированной строме инфильтрирующего протокового рака; в – АПХТ, единичные крупные капилляры в строме инфильтрирующего ductального рака, представленного пластами дистрофически измененных клеток; г – АПХТ, единичные мелкие капилляры вокруг небольших групп дистрофично измененных опухолевых клеток. В окружающей фиброзированной соединительной ткани сосуды отсутствуют

В группе АПХТ наиболее выраженные изменения внутриопухолевой микрососудистой плотности среди всех исследуемых нами групп, что выражалось в уменьшении почти в 2 раза по сравнению с контролем количества окрашенных антителами сосудов и составило для опухолей данной группы 4,1 сосуда в одно поле зрения (рис. 2 в, г). В этой группе определялись сосуды от 4,1 до 44,6 мкм, при этом средний диаметр определяемых сосудов возрос практически в 1,7 раза по сравнению с группой контроля до $9,2 \pm 0,7$ мкм. Возрастание среднего диаметра сосудов, вероятно, связано с тем, что в опухоли отсутствовали сосуды минимального диаметра, которые наблюдались в группе контроля.

Заключение

Таким образом, наиболее выраженное снижение внутрисосудистой плотности по сравнению с контрольной группой наблюдалось в раках молочных желез после неoadъювантной химиотерапии на аутосредах организма – крови и плазме.

В группах АГХТ и АПХТ, соответственно, в 1,5 и 1,9 по сравнению с группой контроля снижалось количество сосудов, определяемых в одном поле зрения, и составляло для опухолей группы АГХТ в среднем 5,2 капилляра на одно поле зрения, для опухолей группы АПХТ – 4,1 сосуда в одном поле зрения. Уменьшение числа микрососудов происходило за счет уменьшения экспрессии CD31 капилляров минималь-

ного диаметра, которые отсутствовали в контрольной группе.

В раковых опухолях молочных желез, которые подвергались неoadъювантной аутогемо- и аутоплазмимиотерапии, наблюдалось уменьшение количества сосудов в одном поле зрения за счет уменьшения и исчезновения сосудов наименьшего диаметра. Данный феномен мы объясняем незрелостью сосудов, активно пролиферирующим эндотелием, необходимым для их роста. На этот камбиальный эндотелий, как и на опухолевую клетку, но в меньшей степени, воздействует химиопрепарат, вызывая его гибель.

В группах рака молочных желез с АГХТ и АПХТ-воздействием отмечено снижение ангиогенеза по сравнению с опухолями без лечения, что мы объясняем введением цитостатиков на аутосредах – аутокрови и аутоплазме.

Литература

1. Rakesh J.K. // Science. 2005. Vol. 307. № 5706. P. 58–62.
2. Rossler J. et al. // Blood Perfusion and Microenvironment of Human Tumors. 2002. P. 5–17.
3. Moul J.W. // Eur. Urol. 1999. Vol. 35. P. 399–407.
4. Parums D.V. et al. // J. Clin. Pathol. 1990. Vol. 43. P. 752–757.
5. Weidner N. et al. // N. Engl. J. Med. 1991. Vol. 324. P. 1–8.
6. Horak E.R. et al. // Lancet. 1992. Vol. 340. P. 1120–1124.
7. Toi M. et al. // Breast Cancer Res. Treat. 1995. Vol. 36. P. 193–204.
8. Fox S.B. et al. // Cancer Res. 1993. № 53. P. 4161–4166.

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт

2 ноября 2006 г.

УДК 616-003;615-032.7:612.1:616-006.81

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ СОПОСТАВЛЕНИЯ В МЕЛАНОМАХ КОЖИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ НА АУТОСРЕДАХ В РАЗЛИЧНЫХ МОДИФИКАЦИЯХ

© 2006 г. Е.М. Непомнящая, В.В. Позднякова, М.А. Гусарева

The comparative morphologic study of skin melanomas under influence of neoadjuvant chemotherapy on autotmedia in various modifications revealed mostly pronounced pathomorphosis at paratumoural autoplasmochemotherapy combined with radiotherapy.

Современная химиолучевая терапия больных злокачественными новообразованиями основывается на достижениях клинической онкологии, молекулярной биологии, генетики и других смежных наук [1]. Индикаторами чувствительности любой опухоли к физическим и химическим факторам воздействия являются структурные и биологические изменения, которые объединены в понятие «патоморфоз» [2].

Под термином «патоморфоз» понимают стойкие существенные изменения картины болезни, происшедшие под влиянием различных факторов внешней среды.

В литературе последних лет уделяется внимание изучению апоптоза и рака [3, 4]. Обсуждается роль гена bcl-2 как ингибитора апоптоза [5, 6].

В Ростовском научно-исследовательском онкологическом институте на протяжении многих лет (1968–2006 гг.) были разработаны приоритетные методы неoadъювантной химиотерапии (эндолимфатическая химиотерапия, введение химиопрепаратов на аутосредах человека). Применение новых методов неoadъювантной химиотерапии для лечения злокачественных

опухолей различных локализаций потребовало детального морфологического исследования изменений, наступающих под действием неoadъювантной химиотерапии на естественных средах в различных модификациях [7, 8].

В литературе отмечается, что клиническая, а в ряде случаев и гистологическая диагностика, иногда бывает крайне трудной, так как симптоматика и морфологическое строение меланом чрезвычайно вариабельны. Меланомы характеризуются выраженным клеточным и структурным полиморфизмом.

Меланома кожи имеет многообразие форм клинического течения, что позволяет отнести ее к опухолям с неблагоприятным прогнозом. Морфологическая диагностика меланомы кожи и ее метастазов обусловлена нарастающей анаплазией опухолевых клеток и потерей специфических черт гистологической принадлежности.

Поэтому изучение морфологических особенностей, наступающих под действием различных неoadъювантных методов введения химиопрепаратов на аутосредах, на наш взгляд, является интересным.