

полости рта. Таким образом, дальнейшие исследования в данном направлении имеют теоретический и практический интерес. Дальнейшие исследования и дооперационная оценка ХЛЛ, возможно, позволит более полноценно проводить периоперационную оценку состояния СРО в ЛУ и разработать новые методы для планирования лечения касательно регионарных ЛУ шеи. Это позволит максимально индивидуализировать лечение и даст возможность разработать новые методы для планирования лечения, оптимизировать имеющиеся методы касательно регионарных ЛУ шеи. Полученные данные обосновывают продолжение исследований в данном направлении.

Заключение

Проведенное исследование оценки состояния лимфатических узлов при раке полости рта методом анализа периоперационных показателей хемилюминесценции позволило изучить процессы свободнорадикального окисления в регионарных лимфатических узлах. Периоперационная оценка состояния лимфатических узлов демонстрирует глубину патологического процесса и позволяет использовать ее в качестве информативного прогностического критерия. При анализе разницы показателей хемилюминесценции значения показателей не более 19,9% являются прогностически более благоприятными. Дальнейшие исследования и возможная дооперационная оценка хемилюми-

несценции, возможно, позволит более полноценно проводить периоперационную оценку состояния свободнорадикального окисления в лимфатических узлах.

Список литературы

1. Каприн А.Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2012 году / А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.В. Петрова. – М.: ФГБУ «МНИОИ им. П. А. Герцена» Минздравсоцразвития России, 2013. – 231 с.
2. Мусин Ш.И. Состояние свободнорадикального окисления в регионарных лимфатических узлах при плоскоклеточном раке головы и шеи / Ш.И. Мусин, Р.Р. Фархутдинов // Фундаментальные исследования. – 2013. – №5. – С.350-353.
3. Смирнова Л.П. Оценка прогностической значимости антиоксидантных ферментов при раке молочной железы / Л. П. Смирнова, Е.М. Слонимская, Е.В. Малахова, И.В. Кондакова // Сибирский онкологический журнал. – 2002. – № 3. – С.89.
4. Фархутдинов Р.Р. Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения / Р.Р. Фархутдинов, С.И. Тевдорадзе // Сборник докладов научно-практ. семинара. – М., 2005. – С.147 – 154.
5. Oberley T. Antioxidant enzyme levels as a function of growth state in cell culture / T. Oberley, S. Schultz, N.Li // Free Rad. Biol. Med. – 1995. – Vol. 19. – P. 53-65.

ВОСПРОИЗВЕДЕНИЕ ПОСТНАТАЛЬНОГО ИНДУЦИРОВАННОГО НЕОЛИМФОГЕНЕЗА НА МОДЕЛИ ПЕРЕВИВНОЙ ОПУХОЛИ

Р.А. Рустамханов, К.Ш. Ганцев, Ш.Р. Кзыргалин, А.А. Хатмуллин, Р.М. Гарайшин, А.В. Дубровская

ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа

Рустамханов Расул Айдарович,

аспирант кафедры онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии ИПО БГМУ, 450000, Россия, Респ. Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3, e-mail: weather86@mail.ru тел. 8 (347) 237-43-58,

Ганцев Камиль Шамилевич,

профессор кафедры онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии ИПО БГМУ, д-р мед. наук

Кзыргалин Шамиль Римович,

аспирант кафедры онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии ИПО БГМУ

Хатмуллин Айрат Альфридович,

аспирант кафедры онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии ИПО БГМУ

Гарайшин Рустам Мазитович

врач отделения челюстно-лицевой хирургии ГКБ №21 г. Уфы, канд. мед. наук

Дубровская Анастасия Владимировна.

клинический ординатор кафедры онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии ИПО БГМУ

В эксперименте на модели перевивной опухоли (Саркома М-1) воспроизведен процесс неолимфогенеза, индуцированный опухолевым ростом, выявлены постнатальные индуцированные лимфатические узлы, проведен сравнительный анализ с лимфатическими узлами «в норме». Определены морфологические различия постнатальных индуцированных лимфатических узлов и лимфатических узлов «в норме».

Ключевые слова: перевивная опухоль, Саркома М1, лимфатический узел, неолимфогенез.

REPRODUCTION POSTNATAL INDUCED NEOLYMPHOGENESIS IN MODELING OF TUMOR GROWTH

**R.A. Rustamkhanov, K.Sh. Gantsev, Sh.R. Kzyrgalin,
A.A. Khatmullin, R.I. Garayshin, A.V. Dubrovskaya**

Bashkir State Medical University, Ufa

In the experiment on the model of transplantable tumor models of Sarcoma M-1 neolymphogenesis process induced by tumor growth was reproduced, induced postnatal revealed lymph nodes were detected. Comparative data, defined morphological differences postnatal induced lymph nodes and normal lymph nodes were analyzed.

Keywords: transplantable tumor, Sarcoma M1, lymph node, neolymphogenesis.

Введение

Лимфатическая система является составной частью сосудистой и представляет собой добавочное русло венозной системы, в тесной связи с которой она развивается и с которой имеет сходные черты строения. Лимфатические узлы расположены по ходу лимфатических сосудов и вместе с ними составляют лимфатическую систему [3].

Лимфатические узлы – это активный «биологический фильтр», защитный барьер, препятствующий распространению по организму различных веществ – инфекционных агентов, вирусов, токсинов и раковых клеток.

По данным классических анатомических изданий, формирование лимфатической системы у человека завершается на этапе эмбриогенеза, и все изменения сводятся к уменьшению количества, общей массы лимфоидной ткани и ее активности. Под руководством профессора Ш.Х. Ганцева выполнен ряд исследований, в результате которых был выявлен феномен неолимфогенеза при метастатическом раке – образование новых упрощенного строения лимфатических узлов взамен тех, которые за счет метастатического блока стали афункциональными. На рис. 1 отображен вновь образованный лимфатический узел при метастатическом раке молочной железы. Он имеет один афферентный и один эфферентный сосуд (в норме – 4-6 афферентных и 1 эфферентный сосуд) [1].

По результатам исследований было доказано, что постнатально сформированные лимфатические узлы по многим параметрам проявляют более высокую противоопухолевую активность [6-14].

Современные достижения клеточной и молекулярной биологии создали предпосылки для актив-

ного влияния на противоопухолевый иммунитет. Предполагается, что иммунная система может эффективно противодействовать раковым клеткам, вплоть до полной их элиминации. Лимфатические узлы являются одним из важнейших компонентов противоопухолевой защиты. В практическом плане постнатальные индуцированные лимфатические узлы (ПНИЛУ) могут быть использованы в качестве субстрата для разработки новых методов биотерапии рака.

Цель исследования

Путем индукции опухолевым ростом воспроизвести в эксперименте процесс неолимфогенеза, выявить ПНИЛУ, провести сравнительный анализ ПНИЛУ с лимфатическими узлами «в норме».

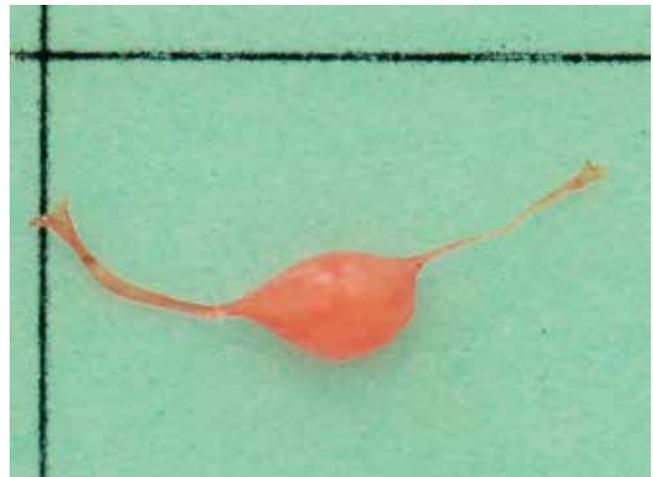


Рис. 1. Вновь образованный лимфатический узел при метастатическом раке

Материалы и методы

Исследование выполнено на базе Научно-исследовательского института онкологии Башкирского государственного медицинского университета.

В эксперименте были использованы белые крысы-самцы, альбиносы линии «Wistar» из питомника «Рапполово», вес животных варьировался в пределах 120-180 грамм.

Для создания экспериментальной модели опухоли применялся перевиваемый опухолевый штамм Саркомы М1 с перевиваемостью 98-100% [5].

Животные были разделены на две группы: первая группа (основная) – 15 крыс, которым перевивался опухолевый штамм Саркома М1; вторая группа (контрольная) – 10 крыс без перевивных опухолей.

Животных содержали в стандартных условиях питьевого и пищевого режима при естественном световом дне в соответствии с действующими нормами содержания экспериментальных животных. Все манипуляции на животных проводили согласно международным этическим и научным стандартам планирования и выполнения исследований на животных.

Методика перевивки опухоли. После введения внутримышечно седатирующего препарата 0,1 мл 2% ксилазина гидрохлорида, «донорское» животное с саркомой фиксировали на операционном столике опухолью вверх. После обработки операционного поля 70% спиртовым раствором производили разрез кожи вдоль опухоли. Затем отсепаарывали кожу и выделяли опухоль, осуществляли забор участков, свободных от некроза, помещали в чашку Петри и промывали 0,9% физиологическим раствором для освобождения от элементов крови. Опухолевую ткань тщательно измельчали механическим гомогенизатором до образования массы с фракцией, проходящей через просвет толстой иглы (1 мм), далее разбавляли ее 1:3 стерильным раствором «Хенкса». Трансплантацию и поддержку штамма проводили подкожно в правую боковую область живота по 0,5 мл взвеси [5]. Кожу в месте введения до и после инъекции обрабатывали 70% спиртовым раствором.

Некропсию животных производили на 16 суток после перевивки опухоли.

Для забоя крыс использовали ветеринарный препарат с анестезирующим и анальгезирующим эффектом ксилазина гидрохлорида в летальной дозе - 1 мл 2%.

Детальные исследования проводили макро- и микроскопическими методами. Для документальной фиксации полученных данных использовали зеркальную цифровую камеру Canon EOS 5D Mark II (21,1-мегапиксельная CMOS-матрица размером 24×36 мм и максимальная чувствительность ISO до 25 600). При съемке использовали автоматическую калибровку показателей ISO. Микроскопию гистологических препаратов проводили на световом микроскопе Nikon Eclipse 80i с камерой Nikon DS-Filc.

Результаты и обсуждение

При перевивке опухолевых штаммов опухоль привилась в 100% случаев.

Согласно литературным данным, в норме процесс развития лимфатических узлов у крыс начинается примерно на 11-е сутки эмбриогенеза и заканчивается через 2 недели после рождения животного [4].

В норме все лимфатические узлы имеют несколько афферентных лимфатических сосудов и один эфферентный сосуд. В подмышечной области у 9 крыс из 15 первой группы со стороны опухоли были выявлены ПНИЛУ, первичным критерием детекции послужило наличие только по одному афферентному и эфферентному лимфатическому сосуду. ПНИЛУ имели также меньший размер в сравнении с лимфатическими узлами, которые принимались за лимфатические узлы «в норме». В таблице 1 представлены параметрические показатели ПНИЛУ в трех взаимно перпендикулярных измерениях по осям X, Y, Z. Ориентация узла - параллельно оси X в наибольшем измерении.

Таблица 1

Параметрические показатели лимфатических узлов крыс первой группы

№ л/у	Размер по оси X, мм	Размер по оси Y, мм	Размер по оси Z, мм
1	1,9	1,1	0,4
2	2,8	1,8	0,6
3	2,6	1,6	0,5
4	2,2	1,3	0,4
5	3,2	2,3	0,7
6	3,2	2,0	0,7
7	2,6	1,8	0,4
8	1,9	1,2	0,4
9	2,3	1,4	0,6

На рис. 2 изображены ПНИЛУ крыс из первой группы на фоне неизмененных обычных лимфатических узлов.

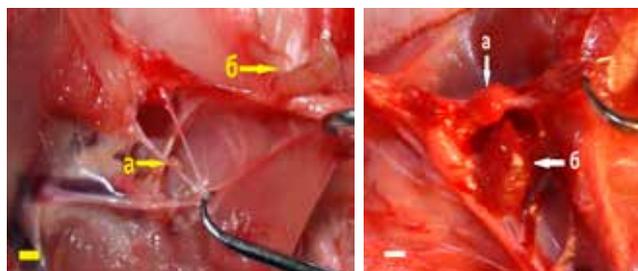


Рис. 2. Данные некропсии. а – ПНИЛУ, б – лимфатический узел «в норме». Масштабный маркер – 2 мм

При изучении лимфатических узлов животных второй группы наблюдались обычного строения и размеров лимфатические узлы (рис. 3). Параметрические показатели лимфатических узлов крыс второй группы представлены в таблице 2.

Таблица 2
Параметрические показатели лимфатических узлов крыс второй группы

№ л/у	Размер по оси X, мм	Размер по оси Y, мм	Размер по оси Z, мм
1	5,5	3,4	0,8
2	5,5	3,3	0,8
3	5,7	3,5	0,9
4	5,6	3,3	0,8
5	5,9	3,8	0,9
6	5,6	3,6	0,8
7	5,5	3,3	0,8
8	5,8	3,8	0,9
9	5,7	3,6	0,8
10	5,9	3,8	0,9

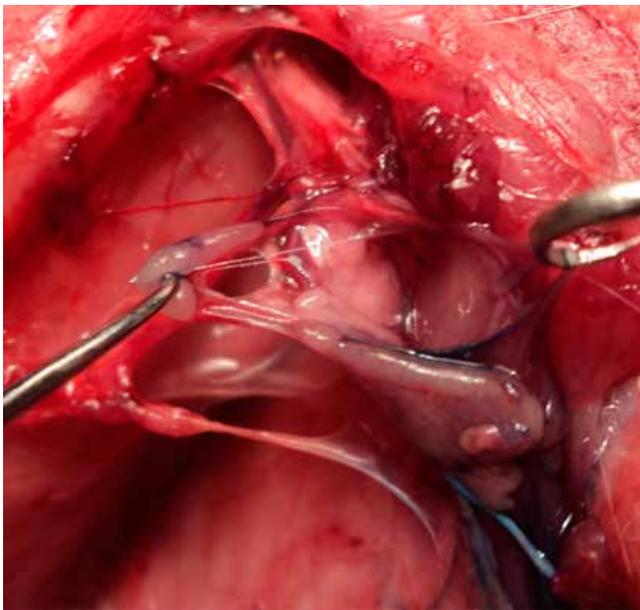


Рис. 3. Лимфатические узлы крысы второй группы

Статистическая обработка полученного материала проводилась с помощью интегрированного пакета программ Statistica for Windows 8. Нормальность распределения выборок проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Поскольку один из показателей обеих выборок имел распределение, отличающееся от нормального, для статистического анализа применяли как параметрические, так и непараметрические тесты. Рассчитывали следующие статистические характеристики: среднюю арифметическую, ошибку средней, стандартное отклонение, 95% интервал доверия, медиану, нижний (25%) и верхний (75%) квантили. Статистические различия между выборками рассчитывали с помощью t-теста для независимых выборок, а также проверяли, используя ранговый тест Манна-Уитни.

Оба теста показывают статистически значимые различия по всем параметрическим измерениям. Тест Шапиро-Уилка является тестом на нормаль-

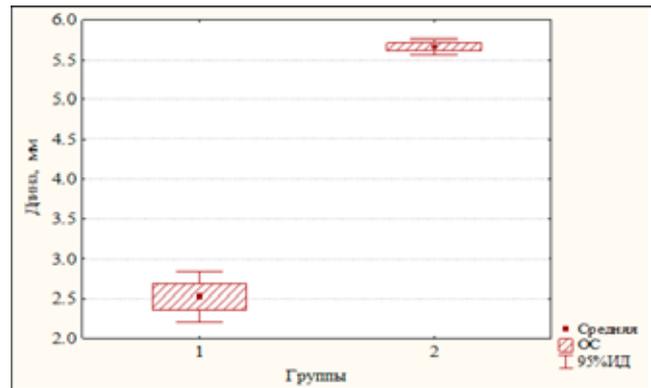


Рис. 4. Параметрические характеристики размеров лимфатических узлов в первой и второй группах исследуемых животных (измерения по оси X согласно табл. 1, 2). ОС - ошибка средней, 95% ИД - интервал доверия, t-тест для независимых выборок: $t=6.69$, $p=0.0000001$ (параметрический тест). Тест Манна-Уитни: $p=0,000224$ (непараметрический тест)

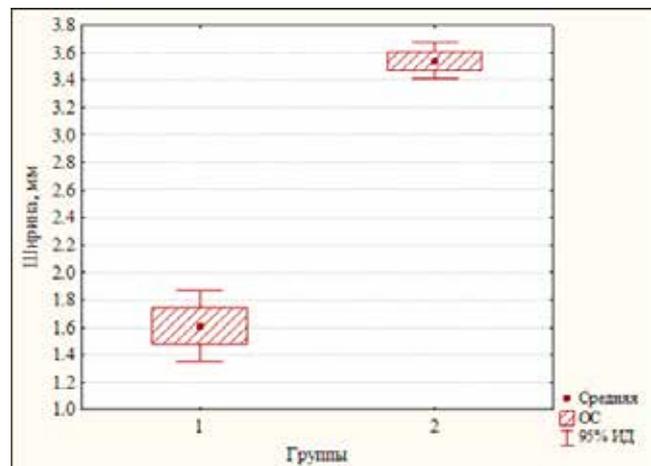


Рис. 5. Параметрические характеристики размеров лимфатических узлов в первой и второй группах исследуемых животных (измерения по оси Y согласно табл. 1, 2). ОС - ошибка средней, 95% ИД - интервал доверия, t-тест для независимых выборок: $t=4.15$, $p=0,000194$; тест Манна-Уитни: $p=0,000224$

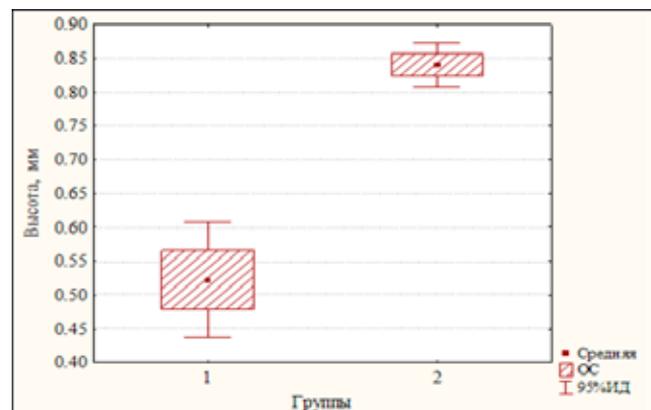


Рис. 6. Параметрические характеристики размеров лимфатических узлов в первой и второй группах исследуемых животных (измерения по оси Z согласно табл. 1, 2). ОС - ошибка средней, 95% ИД - интервал доверия, t-тест для независимых выборок: $t=6.67$, $p=0.0000001$; тест Манна-Уитни: $p=0.000163$

ность распределения; как видно из расчетов, измерения по осям X и Y имеют распределение, не отличающееся от нормального, тогда как распределение измерений по оси Z отличается от нормального.

По данным С.А. Кащенко, лимфатические узлы III возрастной группы крыс-самцов весом 150-200 грамм неполовозрелого периода в конце предслучайного возраста соответствуют органомерическим показателям - $5,82 \pm 0,27$ мм, $3,7 \pm 0,24$ мм, $0,9 \pm 0,03$ мм [2].

Таблица 3
Параметрические показатели исследуемых крыс и литературных данных (Кащенко)

Параметр	1-я группа С ± ОС*	2-я группа С ± ОС*	Литературные данные (Кащенко) С ± ОС*
Количество лимфатических узлов	9	10	30
Измерение по оси X	$2,52 \pm 0,16$	$5,67 \pm 0,05$	$5,82 \pm 0,27$
Измерение по оси Y	$1,61 \pm 0,13$	$3,54 \pm 0,07$	$3,7 \pm 0,24$
Измерение по оси Z	$0,52 \pm 0,04$	$0,84 \pm 0,02$	$0,9 \pm 0,03$

*С – среднее значение, *ОС - ошибка средней

Таблица 4
Сравнительный анализ показателей относительно литературных данных (Кащенко)

Группа животных	Ось измерения	Значение p при сравнении с литературными данными	Результат
1-я группа	X	0,00001	различия статистически значимы
	Y	0,00001	различия статистически значимы
	Z	0,00001	различия статистически значимы
2-я группа	X	0,7512	различия статистически незначимы
	Y	0,7051	различия статистически незначимы
	Z	0,2540	различия статистически незначимы

Таким образом, литературные данные по всем измерениям статистически значимо отличаются от аналогичных показателей первой группы, но не отличаются от второй.

Гистологическое строение ПНИЛУ и лимфатических узлов «в норме» представлено на рисунках 7 и 8.

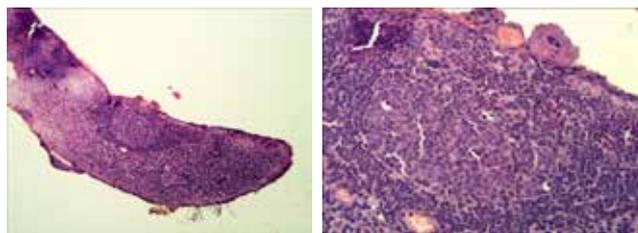


Рис. 7. Гистологическое строение ПНИЛУ.
Гематоксилин-эозин, x 100, x 600



Рис. 8. Гистологическое строение лимфатического узла «в норме».
Гематоксилин-эозин, x 40, x 400

В гистологическом препарате, полученном из ПНИЛУ первой группы животных, определялись некоторые отличия от препаратов, полученных из лимфатических узлов второй группы животных. В ПНИЛУ определялись четкие лимфоидные фолликулы. В лимфатических узлах второй группы фолликулы четко не визуализировались. Также в ПНИЛУ было обнаружено большое количество расширенных полнокровных кровеносных сосудов. Небольшое количество нерасширенных полнокровных сосудов, стертость границ между кортикальной и паракортикальной зонами, более четкая визуализация капсулы была характерна для лимфатических узлов «в норме». Таким образом, ПНИЛУ имеют морфологические особенности в сравнении с лимфатическими узлами «в норме».

Заключение

Вновь образованные лимфатические узлы с одним афферентным и одним эфферентным сосудом были обнаружены только у животных, которым была произведена перевивка опухоли. При изучении животных второй группы (интактные животные) ни одного подобного образования выявлено не было. Статистическая обработка полученного материала, проведенная с помощью t-теста для независимых выборок, а также ранговый тест Манна-Уитни показали статистически значимые различия по всем параметрическим измерениям. Также были выявлены морфологические различия постнатальных индуцированных лимфатических узлов от лимфатических узлов «в норме».

В гистологическом строении лимфатических узлов были обнаружены изменения в фолликулярном аппарате, кровоснабжении, разграничении коркового и медуллярного слоев и капсуле. Полученные морфологические различия также позволяют предположить о различной функциональной активности исследованных лимфатических узлов.

Таким образом, образование и рост постнатальных индуцированных лимфатических узлов прямо или опосредованно индуцируется опухолью. Данный эксперимент подтверждает возможность воспроизведения постнатальной индукции неоплазмы при опухолевом росте на примере саркомы М-1.

Определение сигналинга, ответственного за неоплазматический лимфоцитоз, может послужить основанием для разработки новых методов в терапии злокачественных новообразований. Исследования в данном направлении продолжаются.

Список литературы

1. Ганцев Ш.Х. Новое к теории метастазирования рака и подходам к его лечению // Креативная хирургия и онкология. – 2010. – №4. – С. 5–11.
2. Кащенко С.А., Петизина О.Н., Органометрические показатели лимфатических узлов крыс разных возрастных групп // Мир медицины и биологии. – 2011. – №1. – С. 29 – 31.
3. Привес М.Г. Анатомия человека. – М.: Медицина, 1985. – 454 с.
4. Туманов А.В. Развитие вторичных лимфоидных органов // Иммунология. – 2004. – № 2. – С. 120–128.
5. Шабад Л.М., Блох М.М. Новый перевиваемый штамм саркомы крыс М1 // Бюллетень экспериментальной биологии. – 1947. – Т. 24 – №10. – С. 4.
6. Takeuchi H., Fujimoto A., Tanaka M., Yamano T., Hsueh E, Hoon D. CCL21 chemokine regulates chemokine receptor CCR7 bearing malignant melanoma cells / Clin. Cancer Res. - 2004. - Vol. 10. - P. 2351-2358.
7. Marsters S.A., Ayres T.M., Skubatch M., Gray C.L., Rothe M., Ashkenazi A. Herpesvirus entry mediator, a

member of the tumor necrosis factor receptor (TNFR) family, interacts with members of the TNFR-associated factor family and activates the transcription factors NF-kappa B and AP-1 / J. Biol. Chem., 1997. - Vol. 272. - № 22. - P. 14029-14032.

8. Soroosh P., Doherty T., So T. Herpesvirus entry mediator (TNFRSF14) regulates the persistence of T helper memory cell populations // J. Exp. Med., 2011. - Vol. 208. - №4. - P.797-809.

9. Nomiyama H., Hieshima K., Nakayama T., Sakaguchi I.T. Human CC chemokine liver-expressed chemokine/CCL16 is a functional ligand for CCR1, CCR2 and CCR5, and constitutively expressed by hepatocytes / Int. Immunol., 2001. - Vol. 8. - P. 1021-1029.

10. Dorner B.G., Dorner M.B., Zhou X., Opitz C., Kroczek R.A. Selective expression of the chemokine receptor XCR1 on cross-presenting dendritic cells determines cooperation with CD8+T cells // Immunity. - 2009. - Vol. 31. - №5. - P. 823-833.

11. Jackson R.S. 2nd, Cho Y.J., Stein S., Liang P. CYFIP2, a direct p 53 target, is leptomycin-B sensitive / Cell Cycle. - 2007. - Vol. 6. - №1. - P. 95-103.

12. Muller A., Homey B., Soto H., Ge N., Catron D., Buchanan M.E., Mc Clanahan T., Murphy E., Yuan W., Wagner S.N., Barrera J.L., Mohar A., Verastegui E., Zlotnik A. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis / Nature. - 2001. - Vol. 410. - P. 50-56.

13. Gunn M., Tangemann K., Tam C, Cyster J., Rosen S., Williams L. A chemokine expressed in lymphoid high endothelial venules promotes the adhesion and chemotaxis of naive T lymphocytes // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1998. - Vol. 95. - P. 258-263.

14. Zlotnik A. Chemokines in neoplastic progression / Semin. Cancer Biol., 2004. - Vol. 14. - №3. - P.181-185.

СОВРЕМЕННЫЕ ТРЕНДЫ ЭНДОСКОПИЧЕСКОЙ И ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ПРИ РАННЕМ РАКЕ ЖЕЛУДКА

Т.В. Бочкова, Д.Р. Мухамадеева

ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет, кафедра онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии

Бочкова Татьяна Владимировна,

аспирант кафедры онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии ИПО,

450075, Россия, Республика Башкортостан,

г. Уфа, Пр. Октября, д. 73/1,

e-mail: bochkova1976@bk.ru

Мухамадеева Дилара Рафаэловна,

аспирант кафедры онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии ИПО,

450075, Россия, Республика Башкортостан,

г. Уфа, Пр. Октября, д. 73/1,

e-mail: bracciali@mail.ru