

препаратов в комплексную гигиену полости рта на ранних этапах развития заболеваний пародонта. *Соврем. стоматол.* 2010; (1): 49-52. [Antonenko M.Yu., Sidel'nikova L.F., Dudnikova M.O. The effectiveness of the etiotropic drugs inclusion in a comprehensive oral hygiene at an early stage of periodontal disease. *Sovremennaya stomatologiya.* 2010; (1): 49-52. (In Russ.)]

2. Гажва С.И., Гулуев Р.С. Распространённость и интенсивность воспалительных заболеваний пародонта. *Обозрен. Стоматол.* 2012; 1 (75): 13-14. [Gazhva S.I., Guluev R.S. The prevalence and intensity of inflammatory periodontal diseases. *Obozrenie. Stomatologiya.* 2012; 1 (75): 13-14. (In Russ.)]

3. Дмитриева Л.А. *Пародонтология. Национальное руководство.* М.: ГЭОТАР-Медиа. 2013; 712 с. [Dmitireva L.A. *Parodontologiya. Natsional'noe rukovodstvo.* (Periodontology. National guidelines.) Moscow: GEOTAR-Media. 2013; 712 p. (In Russ.)]

4. Мазур И.П., Бакшутова Н.А., Ставская Д.М. Клиническая и микробиологическая эффективность применения местных противомикробных и антисептических препаратов при лечении заболеваний пародонта. *Соврем. стоматол.* 2014; (1): 32-38. [Mazur I.P., Bakshutova N.A., Stavskaya D.M. Clinical and microbiological effectiveness of application of local antimicrobial and antiseptic preparations during the treatment of periodontal diseases. *Sovremennaya stomatologiya.* 2014; (1): 32-38. (In Russ.)]

5. Сафаров А.М., Гаджаров И.Т. Феномен повреждения в патогенезе заболеваний пародонта. *Сағламлық.* 2009; (10): 139-140. [Safarov A.M., Gadjarov I.T. The

phenomenon of damage in the pathogenesis of periodontal diseases. *Sağlamlyq.* 2009; (10): 139-140. (In Azerbaijani.)]

6. Atiyeh B.S., Ibrahim A.E., Dibo S.A. Cosmetic mesotherapy: between scientific evidence, science fiction, and lucrative business. *Aesthetic Plast. Surg.* 2008; 32 (6): 842-849.

7. Cohenca N., Romualdo P.C., da Silva L.A. et al. Tissue response to root canal irrigation systems in dogs' teeth with apical periodontitis. *Clin. Oral Investig.* 2015; 19 (5): 1147-1156.

8. Gutknecht N., Van Betteray C., Ozturan S. et al. Laser supported reduction of specific microorganisms in the periodontal pocket with the aid of an Er,Cr:YSGG laser: a pilot study. *Sci. World J.* 2015; 2015 (ID 450258): 450-458. DOI: 10.1155/2015/450258

9. Oliveira G., Macedo P., Tsurumaki J. et al. The effect of the angle of instrumentation of the Piezoelectric Ultrasonic Scaler on root surfaces. *Int. J. Dent. Hyg.* 2015; 442-452. DOI: 10.1111/jdh.12134.

10. Rittie L., Fisher G.J., Voorhees J.J. Aging and photoaging of the skin. *Springer.* 2010; XII: 705-716.

11. Sanz-Sánchez I., Ortiz-Vigón A., Matos R. et al. Clinical efficacy of subgingival debridement with adjunctive erbium: yttrium-aluminum-garnet laser treatment in patients with chronic periodontitis: a randomized clinical trial. *J. Periodontol.* 2015; 86 (4): 527-535.

12. Tosti A., De Padova M.P. *Atlas of mesotherapy in skin, rejuvenation.* Informa Healthcare. 2007; 121 p.

13. Zbidi N.D., Mbarek R., Zokkar N. et al. Efficiency of mesotherapy in dental medicine. 16 Clinical cases. *Odontostomatol. Trop.* 2013; 36 (144): 25-32.

УДК 616.428-076.1-076.30.79: 616.428-006-033.2

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РЕГИОНАРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ В ПРОЦЕССЕ РАЗВИТИЯ РАКА

Дмитрий Эдуардович Цыплаков¹, Антон Борисович Бажанов^{2*}

¹Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия;

²Городская клиническая больница №7, г. Казань, Россия

Статья поступила 02.07.2015; принята к печати 11.08.2015.

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2016-51

Цель. Ультроструктурное изучение регионарных лимфатических узлов на разных стадиях рака, определение динамики реактивных изменений и выявление факторов, способствующих неполноценности местного иммунного ответа и метастазированию опухоли.

Методы. Были изучены регионарные лимфатические узлы, полученные от 149 онкологических больных во время операций по поводу рака различной локализации. В качестве контроля послужили лимфатические узлы, полученные от 32 практически здоровых лиц, погибших от случайных причин. Одну часть лимфатического узла, разрезанного на две части вдоль большей оси, использовали для изготовления гистологических срезов, вторую — для электронной микроскопии. Проведено сравнительное исследование следующих групп препаратов: (1) лимфатические узлы контрольной группы; (2) лимфатические узлы без метастазов при I стадии рака; (3) лимфатические узлы без метастазов при II стадии рака; (4) поражённые лимфатические узлы при II и III стадиях с метастазами различного объёма.

Результаты. Ультроструктурные изменения регионарных лимфатических узлов в процессе развития рака имеют определённую динамику: на фоне нарастающих микроциркуляторных расстройств и склеротических процессов происходят перераспределение иммунокомпетентных клеток и сдвиг иммунных реакций в сторону В-клеточного гуморального иммунитета, что приводит на более поздних стадиях к инактивации Т-клеточных иммунных реакций и макрофагально-моноцитарной системы, при сохранении способности реакции с высокой антителообразующей способностью клеток.

Вывод. Факторы, способствующие неполноценности местного иммунного ответа, таковы: (а) прогрессирующее уменьшение в процессе развития рака числа активированных (иммунных) лимфоцитов — основных цитотоксических противоопухолевых элементов; (б) высокое содержание на всех этапах опухолевого роста антителообразующих плазмочитов, которые могут блокировать гуморальными антителами Т-клеточный цитотоксический эффект; (в) уменьшение количества пришедших (свободных) макрофагов моноцитарного происхождения и падение фагоци-

тарной активности фиксированных макрофагов – ретикулярных клеток синусов; (г) склеротические процессы и микроциркуляторные расстройства, затрудняющие контакт клеток опухоли с цитотоксическими лимфоцитами.

Ключевые слова: рак, регионарные лимфатические узлы, электронная микроскопия.

ELECTRON MICROSCOPIC ANALYSIS OF REGIONAL LYMPH NODES IN THE PROCESS OF CANCER DEVELOPMENT

D.E. Tsyplakov¹, A.B. Bazhanov²

¹Kazan State Medical University, Kazan, Russia;

²City Clinical Hospital №7, Kazan, Russia

Aim. To study regional lymph nodes ultrastructure at different cancer stages, determine the reactive changes dynamics and identify the factors contributing to the inadequate local immune response and spread of tumor.

Methods. The regional lymph nodes obtained from 149 cancer patients during surgery for cancer of various localization were studied. Lymph nodes obtained from 32 apparently healthy individuals who died of accidental causes were used as a control. One part of lymph node, cut in two parts along the major axis, was used for the histological sections preparation, the second – for electron microscopy. A comparative study of the following groups of preparations was conducted: (1) lymph nodes of the control group; (2) lymph nodes without metastases in stage I cancer; (3) lymph nodes without metastases in stage II cancer; (4) the affected lymph nodes in the II and III stages with various volume metastasis.

Results. Ultrastructural changes in the regional lymph nodes in the process of cancer development have a certain dynamics: amid increasing microcirculation disorders and sclerotic processes, redistribution of immune cells and the immune reactions shift to B-cell humoral immunity occurs, resulting in the later stages to inactivation of T-cell-mediated immune reactions and macrophage-monocyte system, while maintaining plasmacytic reaction with high antibody-producing ability of the cells.

Conclusion. Factors, contributing to inadequate local immune response are: (a) a progressive decrease in the number of activated (immune) lymphocytes – main cytotoxic anticancer elements, in cancer development; (b) high amount of antibody-producing plasma cells, which can block T-cell cytotoxic effect by humoral antibodies, at all stages of cancer development; (c) decrease of the number of migrated (free) macrophages of monocytic origin and the fixed macrophages – sinuses reticular cells, phagocytic activity decrease; (d) the sclerotic processes and microcirculatory disorders that impede tumor cells and cytotoxic lymphocytes contact.

Keywords: cancer, regional lymph nodes, electron microscopy.

Известно, что первым барьером на пути метастазирования рака становятся регионарные лимфатические узлы. Их реактивные изменения при опухолевом росте изучали как на светооптическом, так и на ультраструктурном уровне. Электронно-микроскопические исследования интенсивно проводили в 60–80-е годы прошлого века. При этом большинство из них, как правило, было посвящено изучению лимфатических узлов одного, самое большее двух регионов, без сравнения полученных данных с контролем, а в некоторых случаях и без учёта стадии заболевания. По этой причине полученные данные были отрывочными и зачастую противоречивыми.

С начала 90-х годов в связи с бурным развитием иммуногистохимии для исследования лимфатических узлов при раке стали преимущественно использовать моноклональные антитела. В последние годы для изучения различных патологических процессов вновь всё чаще стали применять электронный микроскоп [13]. Одновременно исследовали также ультраструктуру лимфоидной ткани [11].

В то же время, современные работы с использованием трансмиссивной электронной микроскопии, посвящённые изучению изменений регионарных лимфатических узлов в процессе прогрессирования раковой опухоли, практически отсутствуют. Ранее нами была дана только краткая характеристика этим процессам [5].

Цель настоящего исследования – ультраструктурное изучение регионарных лимфатических узлов на разных стадиях рака, определение динамики реактивных изменений и выявление факторов, способствующих неполноценности местного иммунного ответа и метастазированию опухоли.

Были изучены регионарные лимфатические узлы, полученные от 149 онкологических больных во время операций по поводу рака желудка (48), лёгкого (40), молочной железы (25), толстой кишки (17) и шейки матки (19). Средний возраст составил 55,2 года. В качестве контроля послужили лимфатические узлы соответствующих регионов, полученные от 32 практически здоровых лиц тех же возрастных групп, погибших от случайных причин (судебно-медицинские вскрытия).

Исследованию подверглись лимфатические узлы, расположенные на пути лимфогенного метастазирования рака соответствующего органа. Лимфатический узел вдоль большой оси разрезали на две части. Одну часть фиксировали в 10% нейтральном формалине по Лилли или в жидкости Карнуа и после соответствующей проводки заливали в парафин. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пиронином по Браше, а также по ван-Гизону. Вторая часть была использована для электронной микроскопии [2]. Материал фиксировали в забуференном 2,5% растворе глутаральдеги-

да, затем дополнительно фиксировали в 1% растворе четырёхокси осмия, обезвоживали и заливали в эпон-812. Полутонкие срезы окрашивали раствором толуидинового синего. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца.

Изучение объектов проводили в электронных микроскопах ЭМ-200 и JEM 100С. Было принято во внимание, что регионарные лимфатические узлы отвечают на развитие рака стереотипными иммуноморфологическими реакциями, которые мало зависят от пола, возраста больных, локализации и гистологического типа первичной опухоли, но в решающей степени определяются клинической стадией заболевания, а также наличием и величиной метастазов в лимфоидной ткани [1]. В связи с этим для проведения исследования были выделены следующие группы препаратов:

- 1) лимфатические узлы контрольной группы;
- 2) лимфатические узлы без метастазов при I стадии рака;
- 3) лимфатические узлы без метастазов при II стадии рака;
- 4) поражённые лимфатические узлы при II и III стадиях с метастазами различного объёма.

Установлено, что в лимфатических узлах, регионарных к раковой опухоли, происходят выраженные изменения, касающиеся всех структурных и клеточных элементов узла. При I стадии заболевания отмечается увеличение объёма капсульно-трабекулярной основы и внеклеточного матрикса. Активизируются фибробласты, что обнаруживают при ультраструктурном исследовании – выявляют активные клетки, синтезирующие коллаген.

Изменения кортикальной зоны и мякотных тяжей при развитии рака в целом идентичны. Клеточный состав представлен практически всеми элементами, обнаруживаемыми в лимфатическом узле. При этом преобладают средние и малые лимфоциты, а также ретикулярные клетки. По сравнению с другими зонами более выражена плазматизация. При ультраструктурном исследовании удаётся проследить стадии развития от В-лимфоцита через бласттрансформацию до зрелого плазмочита.

Сначала появляются клетки, по размерам превышающие средний лимфоцит (около 12–15 мкм). Они округлой формы; объём цитоплазмы также больше, чем у лимфоцита среднего типа. Ядро, располо-

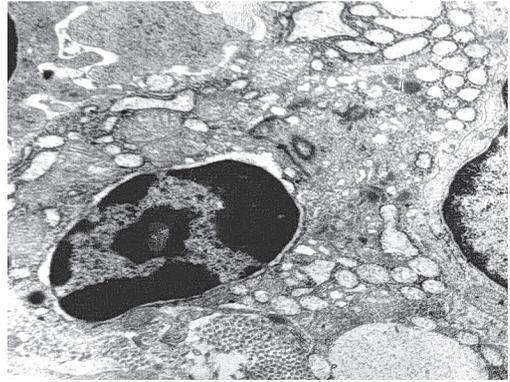


Рис. 1. Плазматическая клетка с расширенными цистернами гранулярного эндоплазматического ретикулума. Электроннограмма. Увеличение $\times 8000$

женное в центре, имеет неровный контур, с инвагинациями. В цитоплазме увеличено число и размеры митохондрий, появляется много рибосом, которые связаны с начинающимися развиваться структурами эндоплазматического ретикулума. Однако последний выражен ещё слабо.

Затем через ряд переходных форм образуются плазмобласты. Размеры последних достигают 18 мкм. Ядро крупное (10 мкм), округлое, с типичным для клеток плазмочитарного ряда расположением хроматина. Хорошо развитый гранулярный эндоплазматический ретикулум занимает практически всю цитоплазму. Зрелые плазматические клетки завершают этапы пролиферации и дифференцировки В-клеточного ряда. Они могут быть разнообразной формы – округлой, овальной, полигональной и т.п. Размеры 8–11 мкм, иногда больше. Ядро расположено эксцентрично, плотный хроматин сконцентрирован по периферии в виде глыбок. В цитоплазме содержатся овальной формы митохондрии и цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума, которые расширены и заполнены белковым содержимым (рис. 1).

Расположенные в кортикальной зоне лимфоидные фолликулы гиперплазированы и содержат реактивные центры. Основными клеточными элементами здесь являются малые и средние лимфоциты, которые размещены по всей площади фолликула, включая реактивный центр и мантийную зону.

Малый лимфоцит имеет размеры 4–6 мкм, округлую, реже овальную форму, небольшой объём цитоплазмы с незначительным содержанием органелл. Ядерный хроматин представлен в основном плотными субстанциями.

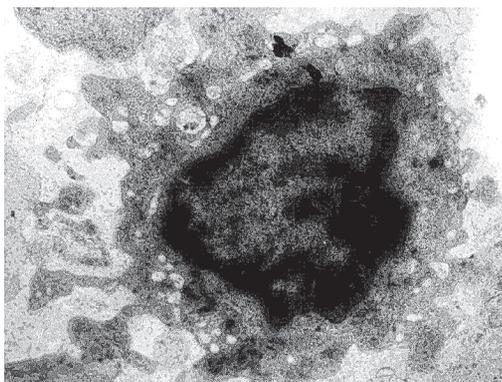


Рис. 2. Активированный (иммунный) лимфоцит. Электронограмма. Увеличение $\times 10\ 000$

Средний лимфоцит размерами 7–10 мкм имеет меньшее ядерно-цитоплазматическое соотношение, чем малый лимфоцит. Цитоплазма его богаче органеллами, в ядре плотный хроматин занимает приблизительно одинаковый объём с диспергированным, часто обнаруживается ядрышко. В фолликулах также выявляются плазмобласты, пролиферирующие клетки (преимущественно герминативный центр), активированные лимфоциты и плазматические клетки (мантийная зона и интерфолликулярный регион). Клеточные элементы расположены в сети длинных цитоплазматических отростков дендритных ретикулярных клеток, находящихся в состоянии активации, с наличием многочисленных контактов с лимфоидными элементами.

Выраженные изменения по сравнению с контрольной группой возникают в паракортикальной зоне. Её площадь увеличивается, что видно на светооптическом уровне. При ультраструктурном исследовании видна трансформация лимфоцитов через бластную стадию в активированные (иммунные) формы. Отсутствие связи рибосом с эндоплазматическим ретикуломом служит основным отличительным признаком, позволяющим проводить ультраструктурную дифференцировку с плазмобластами.

Лимфобласт достигает размеров 14–16 мкм. Ядро расположено чаще центрально, контур его достаточно ровный. По сравнению с предшественниками увеличивается содержание плотного хроматина, однако доля его пока меньше, чем диспергированного. В цитоплазме находятся свободные рибосомы, полирибосомы и митохондрии, число которых на данном этапе сокращается.

Дальнейшая трансформация лимфобластов завершается появлением активирован-



Рис. 3. Контакт лимфоцита с клеткой макрофагального ряда при помощи цитоплазматических отростков. Электронограмма. Увеличение $\times 12\ 000$

ных (иммунных) лимфоцитов. Их признаки следующие: размер 10–12 мкм, глубокие инвагинации ядра, увеличение по сравнению с покоящимися клетками диспергированного хроматина за счёт плотного, повышенное содержание в цитоплазме рибосом, крупных митохондрий, лизосом и вакуолей (рис. 2). Они часто образуют цитоплазматические выросты, при помощи которых осуществляется контакт с другими клетками, прежде всего макрофагального ряда (рис. 3).

В отличие от фолликулов в паракортикальной зоне выявляется другой тип ретикулярных клеток, которые определяются как интердигитирующие. Они также находятся в состоянии активации и, как правило, плотно окружены несколькими лимфоидными элементами. Кроме того, при электронно-микроскопическом исследовании обнаруживается активная миграция лимфоцитов через высокий эндотелий посткапиллярных венул. Мигрирующие лимфоциты также имеют ряд ультраструктурных особенностей. Размер их небольшой – 3–5 мкм, ободок цитоплазмы очень узкий, бедный органеллами. Ядро резко электронноплотное, с очень небольшим содержанием диспергированного хроматина.

Кроме того, в паракортикальной зоне в большом количестве обнаруживаются свободные макрофаги моноцитарного происхождения. При ультраструктурном исследовании видно, что эти клетки не связаны с ретикулярной стромой узла и не имеют длинных отростков. Они довольно крупные – до 30 мкм и более, ядро самой разнообразной формы и размеров, контур его, как правило, неровный, с наличием инвагинаций, а хроматин представлен в основном диспергированной субстанцией. Иногда встречаются ядрышки. Цитоплазма свобод-

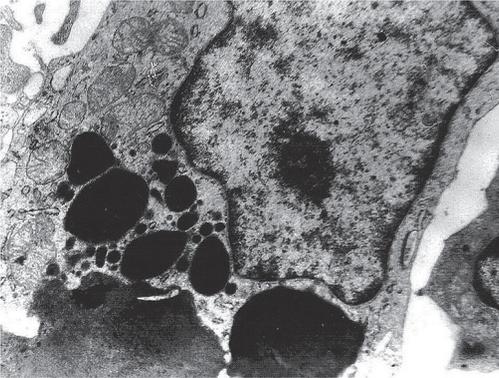


Рис. 4. Фагоцитирующая ретикулярная клетка синуса. Электронограмма. Увеличение $\times 10\,000$

ных макрофагов занимает большой объём и образует выросты, в ней содержатся хорошо развитый эндоплазматический ретикулум и значительное число лизосом, а также различные фагоцитированные включения. Обнаруживаются также пиноцитозные пузырьки, микрофибриллярные, миелиновые и микровезикулярные структуры.

Не остаются интактными при развитии рака и синусы лимфатического узла — возникают явления гистиоцитоза. Здесь содержатся в основном ретикулярные клетки, в меньшей степени — свободные макрофаги моноцитарного происхождения, лимфоциты и плазмциты. Иногда встречаются отдельные тучные клетки, эозинофилы и нейтрофилы. Ретикулоциты синусов не относятся к интердигитирующим или дендритным клеткам, их определяют как фиксированные макрофаги или гистиоциты синусов.

При развитии опухоли происходит активация данных ретикулярных клеток, которые переходят в разряд фагоцитирующих. Их ультраструктура характеризуется крупным светлым ядром с локализацией по периферии небольшого количества плотного хроматина. Обязательно наличие 1-2 ядрышек. В цитоплазме содержатся единичные митохондрии, вакуоли, многочисленные лизосомы и фаголизосомы (рис. 4). Размеры ретикулярных клеток в зависимости от функционального состояния варьируют от 10 до 20 мкм. При развитии опухоли в состоянии фагоцитоза в синусах находятся также и свободные макрофаги моноцитарного происхождения.

При I стадии рака в лимфатических узлах возникают микроциркуляторные расстройства. Светооптически сосуды расширены и полнокровны, иногда происходит выход форменных элементов крови за пределы сосудистого русла.

Изменения микроциркуляции выявляются и при электронно-микроскопическом исследовании. Происходит так называемая активация эндотелия. Он выбухает в просвет сосудов, в цитоплазме присутствуют в большом количестве пиноцитозные пузырьки, набухшие митохондрии, множество рибосом и полирибосом. Базальная мембрана разрыхлена, гомогенизирована. В стенках крупных сосудов коллагеновые волокна расположены беспорядочно, субэндотелиальное пространство отёчно.

При переходе заболевания во II стадию в непоражённых метастазами лимфатических узлах происходят определённые изменения. Увеличивается площадь капсулы и трабекул. Электронно-микроскопически здесь определяются активные фибробласты. Часто капсула инфильтрирована лимфоидными элементами.

В корковом плато и мягкотных тяжах продолжают нарастать плазматизация и плазмобласттрансформация. Ультраструктурное исследование подтверждает высокое содержание клеток В-ряда, которые через бластную стадию трансформируются в плазматические клетки с резко расширенными цистернами гранулярного эндоплазматического ретикулаума.

На этом же этапе опухолевого роста остаётся выраженной гиперпластическая фолликулярная реакция. В световом микроскопе видно, что крупные фолликулы с герминативными центрами не только располагаются в корковом плато, но и встречаются в других зонах узла. Ультраструктурный анализ показывает повышение пролиферативной активности клеток фолликулов, коррелирующей с плазмобласттрансформацией.

Несмотря на сохранение или незначительное уменьшение площади паракортикальной зоны, лимфобласты, трансформированные (иммунные) лимфоциты и фагоцитирующие макрофаги здесь встречаются реже, чем при I стадии заболевания. Также меньше и лимфоцитов, мигрирующих через посткапиллярные венулы. В то же время в паракортикальной зоне на этом этапе опухолевого роста достаточно высоко содержание антителообразующих плазматических клеток.

Определённые ультраструктурные изменения происходят и в синусах, причём эти изменения на светооптическом уровне при рутинных гистологических методах не видны. При окраске гематоксилином и эозином они выглядят резко расширенными,

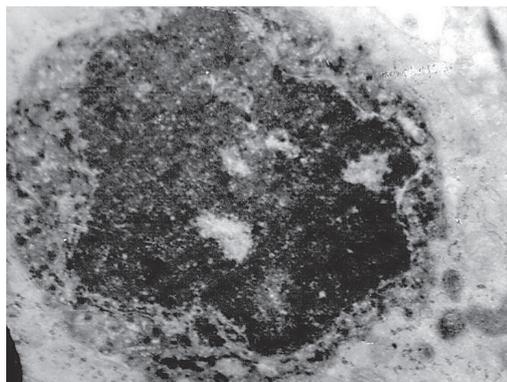


Рис. 5. Деструкция и вакуолизация цитоплазмы лимфоцита с пикнотичным ядром. Электронограмма. Увеличение $\times 12\,000$

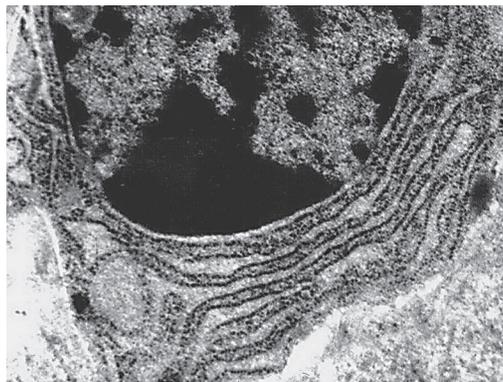


Рис. 6. Плазмобласт с гранулярным эндоплазматическим ретикуломом. Электронограмма. Увеличение $\times 10\,000$

заполненными различными клеточными элементами, что можно ошибочно расценивать как выраженный синусный гистиоцитоз. Ультраструктурный анализ показывает, что здесь происходит уменьшение числа свободных макрофагов и гранулоцитов. Что же касается основных элементов синусов — ретикулярных клеток, то происходит снижение их фагоцитарной активности. Ядро таких клеток становится более электронноплотным, без инвагинаций, уменьшаются общий объём цитоплазмы, количество цитоплазматических выростов, рибосом и крупных митохондрий. В целом клетка приобретает вытянутую форму и определяется как фибробластическая ретикулярная клетка. Кроме того, в синусах увеличивается содержание истинных фибробластов, синтезирующих коллаген.

Описанные выше микроциркуляторные расстройства на этом этапе развития рака сохраняются, а в некоторых наблюдениях прогрессируют.

При появлении метастазов в лимфатических узлах на светооптическом уровне определяется, что их величина и локализация варьируют в широких пределах — от отдельных опухолевых клеток и их небольших кластеров в субкапсулярном синусе до полного замещения ими лимфоидной ткани узла.

Наиболее выраженным изменением при метастатическом процессе подвержена паракортикальная зона. Её объём снижается, практически отсутствуют лимфобласты и активированные лимфоциты. Редкой находкой бывают свободные макрофаги. Интердигитирующие ретикулярные клетки теряют признаки своей функциональной активности, их контакты с лимфоидными элементами незначительны. Более того, электронно-микроскопические исследования

наряду с нетрансформированными лимфоцитами выявляют большое количество дегенерирующих клеточных форм с пикнотичным ядром и разрушенными ультраструктурами в вакуолизированной цитоплазме (рис. 5). Не определяется и процесс миграции лимфоцитов через посткапиллярные вены.

В то же время в кортикальной зоне и мягкотных тяжках при метастатическом процессе существенных изменений не происходит — сохраняется выраженная плазматизация этих регионов с высокой антителообразующей способностью клеток (рис. 6).

Лимфоидные фолликулы остаются гиперплазированными, с крупными реактивными центрами. При ультраструктурном исследовании обнаруживают плазмобластическую трансформацию и высокую функциональную активность дендритных ретикулярных клеток, контактирующих с лимфоцитами. Подобная В-клеточная (плазмоцитарная) реакция реализуется практически до полного замещения лимфатического узла метастазами, и сохранившиеся участки лимфоидной ткани содержат гиперплазированные фолликулы и скопления плазмоцитов. Часто клетки, содержащие иммуноглобулины, расположены на границе метастаза и лимфоидной ткани.

Значительным структурно-функциональным изменением при появлении метастазов подвержены синусы. На светооптическом уровне они либо резко расширены, но опустошены и бедны клеточными элементами, либо склерозированы. Ультраструктурный анализ показывает практически полное исчезновение свободных макрофагов и падение фагоцитарной активности фиксированных ретикулярных клеток. Здесь выявляются отдельные группы не-

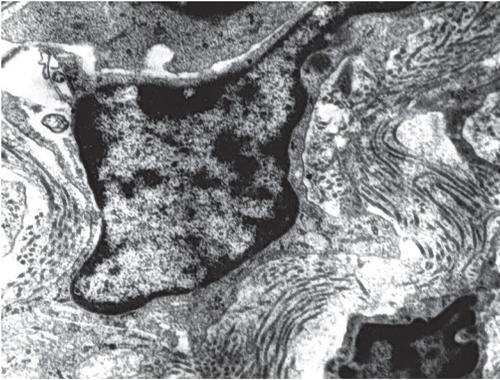


Рис. 7. Активный фибробласт, синтезирующий коллаген. Электронограмма. Увеличение $\times 10\,000$

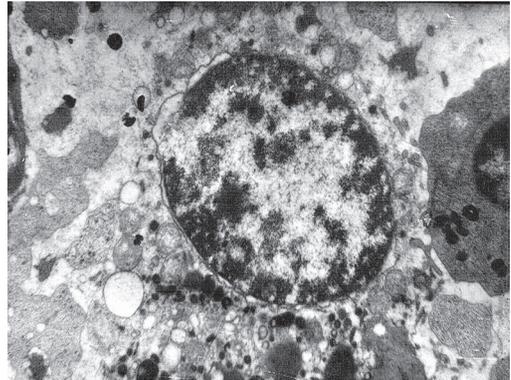


Рис. 8. Деструкция опухолевой клетки при контакте с лимфоцитом. Электронограмма. Увеличение $\times 7000$

трансформированных или дегенерирующих лимфоцитов, фибробластических ретикулярных клеток, активных фибробластов и фиброцитов (рис. 7).

Кроме того, при метастазировании во всех зонах лимфатического узла усугубляются склеротические процессы и микроциркуляторные расстройства.

В то же время в ряде наблюдений изменения лимфатических узлов с отдельными опухолевыми клетками, их кластерами и микрометастазами (до 10% объема лимфатического узла) не соответствуют описанному выше стереотипу. Они идентичны реакциям, характерным для непораженных лимфатических узлов при I стадии заболевания. Так, микроциркуляторные и фибропластические процессы выражены меньше. В гиперплазированной паракортикальной зоне обнаруживаются активированные (иммунные) лимфоциты. Часто наблюдается контакт этих элементов с опухолевыми клетками, что приводит к деструкции последних (рис. 8). Развивается синусный гистиоцитоз с высокой фагоцитарной активностью ретикулярных клеток и свободных макрофагов моноцитарного происхождения. Поскольку первые опухолевые клетки при метастазировании чаще всего обнаруживают именно в синусах, то при электронно-микроскопическом исследовании выявляют контакт клеток макрофагального ряда с неопластическими элементами. Ультраструктуры опухолевых клеток при этом разрушены.

Таким образом, наши исследования показали, что ультраструктурные изменения лимфатических узлов, регионарных к раковой опухоли, имеют определённую последовательность.

На I стадии опухолевого роста происходит манифестация клеточных и гумораль-

ных иммунных реакций, а также макрофагальной системы. Клеточный иммунный ответ реализуется за счёт появления клона активированных (иммунных) лимфоцитов, которые по своей ультраструктуре относятся к цитотоксическим Т-клеткам и наиболее эффективно уничтожают неопластические элементы [1, 14]. При этом паракортикальную гиперплазию всегда оценивают как реакцию, увеличивающую сроки выживаемости онкологических больных [1].

Гуморальные В-клеточные иммунные реакции приводят к появлению бластных клеток и плазматических клеток — антителопродуцентов. Их ультраструктура свидетельствует об активном синтезе антител. При оценке проявлений гуморального иммунитета следует отметить тот факт, что антитела, синтезируемые плазматоцитами, могут инактивировать цитотоксический эффект лимфоцитов-киллеров путём блокады антигенных детерминант опухолевых клеток [9].

Фолликулярную гиперплазию также рассматривают как неблагоприятный прогностический критерий [7]. Макрофагальная система лимфатического узла активируется за счёт фиксированных и свободных клеточных элементов, которые не только стимулируют Т- и В-иммунные реакции путём презентации антигена, но и осуществляют неиммунный фагоцитоз неопластических элементов [12]. Уже на этом этапе опухолевого роста проявляются микроциркуляторные расстройства и склеротические процессы в капсульно-трабекулярной основе и строме лимфатического узла. Известно, что подобные процессы подготавливают процесс метастазирования, так как обеспечивают консолидацию, питание опухолевых клеток и изолируют их от цитотоксического действия иммунных лимфоцитов [4].

При переходе заболевания во II стадию даже в непоражённых метастазами лимфатических узлах происходят существенные изменения. Прежде всего обращает на себя внимание снижение интенсивности клеточных иммунных реакций с падением функциональной активности интердигитирующих ретикулярных клеток и уменьшением числа активированных лимфоцитов. В то же время гуморальные иммунные реакции при II стадии рака реализуются в полном объёме. На этом же этапе опухолевого роста в синусах, несмотря на сохранение их площади и общей клеточности, происходит снижение фагоцитарной активности ретикулярных клеток и свободных макрофагов. Некоторые гистиоциты здесь приобретают вытянутую форму и определяются как фибробластические ретикулярные клетки [14]. Кроме того, в синусах появляются и истинные фибробласты, синтезирующие коллаген. Такое снижение интенсивности синусного гистиоцитоза может коррелировать с неблагоприятным прогнозом [1]. Параллельно с данными иммуноморфологическими реакциями углубляются микроциркуляторные расстройства и склеротические процессы.

При появлении метастазов в лимфатических узлах происходит выраженная инактивация клеточных иммунных реакций с появлением дегенерирующих лимфоцитов. При этом проявления гуморального иммунитета не претерпевают существенных изменений. В-клеточная (плазмочитарная) реакция реализуется даже при наличии метастазов большого объёма и сопровождается высокой антителообразующей способностью плазмочитов. Эти данные подтверждаются иммуногистохимическим исследованием [3]. Резким структурно-функциональным изменениям при появлении метастазов подвержены синусы — с их резким расширением, опустошением или фиброзом. Ультроструктурный анализ показывает практически полное исчезновение свободных макрофагов и падение фагоцитарной активности фиксированных. Подобную картину в литературе определяют как дегенеративный синусный гистиоцитоз [10], всегда коррелирующий с плохим прогнозом.

Кроме того, при метастазировании значительно усиливаются микроциркуляторные расстройства и склеротические процессы, что сопровождается отложением внесосудистого фибрина [6], который предохраняет неопластические элементы от цитотоксического действия иммунокомпе-

тентных элементов. В то же время следует отметить, что наличие метастазов, особенно небольшого объёма, не всегда приводит к генерализации опухолевого процесса, поскольку неопластические элементы могут в лимфатических узлах эффективно уничтожаться. Этот факт подтверждается и другими исследованиями [8].

ВЫВОДЫ

1. Ультроструктурные изменения регионарных лимфатических узлов в процессе развития рака имеют определённую динамику: на фоне нарастающих микроциркуляторных расстройств и склеротических процессов происходят перераспределение иммунокомпетентных клеток и сдвиг иммунных реакций в сторону В-клеточного гуморального иммунитета, что приводит на более поздних стадиях к инаktivации Т-клеточных иммунных реакций и макрофагально-моноцитарной системы при сохранении плазмочитарной реакции с высокой антителообразующей способностью клеток.

2. Факторами, способствующими неполноценности местного иммунного ответа, являются: (а) прогрессирующее уменьшение в процессе развития рака числа активированных (иммунных) лимфоцитов — основных цитотоксических противоопухолевых элементов; (б) высокое содержание на всех этапах опухолевого роста антителообразующих плазмочитов, которые могут блокировать гуморальными антителами Т-клеточный цитотоксический эффект; (в) уменьшение количества пришлых (свободных) макрофагов моноцитарного происхождения и падение фагоцитарной активности фиксированных макрофагов — ретикулярных клеток синусов; (г) склеротические процессы и микроциркуляторные расстройства, затрудняющие контакт клеток опухоли с цитотоксическими лимфоцитами.

3. В отдельных случаях опухолевые клетки и их небольшие кластеры могут эффективно уничтожаться цитотоксическими лимфоцитами и макрофагами лимфатического узла, тем самым предотвращая дальнейшее метастазирование.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белянин В.Л., Цыплаков Д.Э. *Диагностика реактивных гиперплазий лимфатических узлов*. СПб.-Казань, 1999; 328 с. [Belyanin V.L., Tsyplakov D.E. *Diagnostika reaktivnykh giperplaziy limfaticheskikh uzlov*. (Diagnosis of lymph nodes reactive hyperplasia.) St. Petersburg-Kazan, 1999; 328 p. (In Russ.)]

2. Коржевский Д.Э. *Морфологическая диагностика. Подготовка материала для гистологического исследования и электронной микроскопии*. СПб.: СпецЛит. 2013; 128 с. [Korzhhevskiy D.E. *Morfologicheskaya diagnostika. Podgotovka materiala dlya gistologicheskogo issledovaniya i elektronnoy mikroskopii*. (Morphological diagnosis. Preparation of material for histologic study and electron microscopy.) St. Petersburg: SpetsLit. 2013; 128 p. (In Russ.)]

3. Тупицын Н.Н. Субпопуляции иммуноцитов в гистологических срезах рака молочной железы. *Вопр. онкол.* 1994; (7-12): 314-318. [Tupitsyn N.N. Immunocytes subpopulations in histological sections of breast cancer. *Voprosy onkologii*. 1994; (7-12): 314-318. (In Russ.)]

4. Цыплаков Д.Э., Петров С.В. Изменения микроциркуляторного русла регионарных лимфатических узлов в процессе метастазирования рака. *Казанский мед. ж.* 1987; (1): 29-31. [Tsyplakov D.E. Regional lymph nodes microvasculature changes in cancer metastasis. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 1987; (1): 29-31. (In Russ.)]

5. Цыплаков Д.Э., Петров С.В. Ультраструктура регионарных лимфатических узлов в процессе метастазирования рака. *Казанский мед. ж.* 1990; (4): 302-303. [Tsyplakov D.E., Petrov S.V. Ultrastructure of regional lymph nodes metastasis in cancer. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 1990; (4): 302-303. (In Russ.)]

6. Цыплаков Д.Э., Петров С.В. Влияние кровеносного микроциркуляторного русла на клеточный иммунный ответ в лимфатических узлах, регионарных к раковой опухоли (иммуногистохимическое и ультраструктурное исследование). *Гематол. и трансфузиол.* 1995; (6): 3-7. [Tsyplakov D.E., Petrov S.V. Influence of blood microvasculature on the cellular immune response in the cancer regional lymph nodes (immunohistochemical and ultrastructural studies). *Gematologiya i transfuziologiya*. 1995; (6): 3-7. (In Russ.)]

Gematologiya i transfuziologiya. 1995; (6): 3-7. (In Russ.)]

7. Цыплаков Д.Э., Петров С.В. Гиперпластическая фолликулярная реакция регионарных лимфатических узлов при раке (иммуногистохимия, ультраструктура, прогностическое значение). *Арх. патол.* 1997; (4): 55-61. [Tsyplakov D.E., Petrov S.V. Hyperplastic follicular response of regional lymph nodes to cancer (immunohistochemistry, ultrastructure, predictive value). *Arkhiv patologii*. 1997; (4): 55-61. (In Russ.)]

8. Хузин Ф.Ф., Цыплаков Д.Э. Прогностическое значение выявления скрытых микрометастазов в регионарных лимфатических узлах. *Казанский мед. ж.* 2010; (1): 69-72. [Khuzin F.F., Tsyplakov D.E. Prognostic value of detection of latent micrometastasis in the lymph nodes regional to the cancer. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2010; (1): 69-72. (In Russ.)]

9. Hellström K.E., Hellström I. Lymphocyte-mediated cytotoxicity and blocking serum activity to tumor antigens. *Adv. Immunol.* 1974; 18: 209-277.

10. Hirschl S., Black M.M., Kwon C.S. Ultrastructural characteristic of sinus histiocytic reaction in lymph nodes draining various stades of breast cancer. *Cancer*. 1976; 38: 807-818.

11. Hossler F.E. Lymphatic tissues. In: *Ultrastructure atlas of human tissues*. John Wiley & Sons, Inc. 2014; 359-383.

12. Gough. J., Melcher A.A., Ahmed A. et al. Macrophages orchestrate the immune response to tumor cell death. *Cancer Reserch*. 2001; 61: 7240-7247.

13. Pavelka M., Roth J. *Functional ultrastructure. Atlas of tissue biology and pathology*. Springer. 2010; 381 p.

14. Zhao L., Liu L., Gao J. et al. T lymphocytes maintain structure and function of fibroblastic reticular cells via lymphotoxin (LT). *BMC Immunol.* 2014; 15: 33-41.

УДК 616.33-006.6: 616-073.43: 616-073.757.1

РОЛЬ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ДОПЛЕРОГРАФИИ И МУЛЬТИСПИРАЛЬНОЙ КОМПЬЮТЕРНО-ТОМОГРАФИЧЕСКОЙ АНГИОГРАФИИ В ДИАГНОСТИКЕ РАСПРОСТРАНЁННЫХ ФОРМ РАКА ЖЕЛУДКА

Ирода Закирходжаевна Пулатова*, Исамухамедова Мухарам Ахатовна

Ташкентский институт усовершенствования врачей, г. Ташкент, Узбекистан

Поступила 24.11.2015; принята к печати 31.12.2015.

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2016-59

Цель. Оценка результатов ультразвуковой доплерографии и мультиспиральной компьютерно-томографической ангиографии у больных раком желудка и чувствительности данных методов диагностики для выявления поражения магистральных сосудов брюшной полости.

Методы. Обследованы 32 пациента в возрасте от 37 до 82 лет, у которых диагноз аденокарциномы желудка был подтверждён гистологически. Контрольную группу составили 30 практически здоровых человек аналогичного возраста. Всем больным на дооперационном этапе проведены трансабдоминальная ультразвуковая эхография органов брюшной полости и желудка в серовальном режиме (В-режим до и после наполнения желудка дегазированной жидкостью), ультразвуковая доплерография сосудов брюшной полости и стенок желудка, мультиспиральная компьютерно-томографическая ангиография. Осуществлены анализ результатов исследования и сравнение их с интраоперационными данными.

Результаты. У больных раком желудка отмечено статистически значимое увеличение пиковой систолической скорости в чревном стволе, верхней брыжеечной артерии, левой желудочной артерии и снижение индекса резистентности в этих же сосудах ($p < 0,05$) с наличием атипической васкуляризации в стенках поражённого желудка. Проанализированы данные, полученные при проведении мультиспиральной компьютерно-томографической ангиографии. Чувствительность ультразвуковой доплерографии в дооперационном выявлении поражения магистральных сосудов брюшной полости у больных раком желудка составила 77,8%, мультиспиральной компьютерно-томографической ангиографии – 88,9%, комбинации этих двух методов – 96,3%.

Вывод. Анализ использованных диагностических методов исследования больных раком желудка показал, что ультразвуковая доплерография должна быть включена в стандарт обследования больных для оценки состояния магистральных сосудов брюшной полости, что важно при решении вопроса о возможности оперативного вмешательства; чувствительность комбинации доплерографии и мультиспиральной компьютерно-томографической