На правах рукописи

КОЗЯКОВ Антон Евгеньевич

ОСОБЕННОСТИ ПАТОМОРФОЛОГИИ АКСИЛЛЯРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ПРОГРЕССИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

14.03.02 – патологическая анатомия

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2020

Работа выполнена в Институте молекулярной патологии и патоморфологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (Новосибирск) и Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители:

доктор медицинских наук,
профессор **Войцицкий Владимир Евгеньевич**

доктор биологических наук,
профессор **Лушникова Елена Леонидовна**

Официальные оппоненты:

Горчаков Владимир Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН» (Новосибирск), заведующий лабораторией функциональной морфологии лимфатической системы.

Жукова Наталья Анатольевна, доктор медицинских наук, ФГБУН Новосибирский институт органической химии имени Н.Н.Ворожцова СО РАН, старший научный сотрудник лаборатории фармакологических исследований.

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России (Барнаул)

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2020 г. в _____ час. на заседании совета Д 001.048.05 в ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» по адресу 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины»http://frcftm.ru

Автореферат разослан «_____» _____ 2020 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета
доктор биологических наук,
профессор **Молодых Ольга Павловна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Рак молочной железы (РМЖ) продолжает оставаться одной из наиболее значимых медико-социальных проблем (Каприн А.Д. и др., 2018), поскольку за последние десятилетия не отмечено ни значительного снижения первичного выявления этой патологии (по среднемировым оценкам – 46,3 на 100 тыс. населения, более 40% от всех злокачественных опухолевых процессов у женщин) (DeSantis C.E. et al., 2014; Miller K.D. et al., 2016), ни существенного прогресса в предотвращении рецидивов РМЖ, метастазирования опухолевых клеток, что влияет на качество жизни пациентов и их выживаемость (смертность – 13,0 на 100 тыс.). Следует отметить, что около 19% случаев РМЖ диагностируется у женщин в возрасте от 30 до 49 лет, 44% случаев – у женщин в возрасте 65 лет и старше (Miller K.D. et al., 2016).

Одним из безусловных достижений последних десятилетий является снижение смертности от РМЖ в ряде развитых стран, особенно в молодом возрасте, что в основном связывают с внедрением программ раннего скрининга РМЖ с помощью маммографии и разработкой новых более эффективных противоопухолевых препаратов (Senkus E. et al., 2015). В то же время важно подчеркнуть, что во многих развивающихся странах смертность от РМЖ не снижается или даже растет, что обусловливает общее увеличение смертности от РМЖ в мире в последние десятилетия.

Такая динамика заболеваемости и смертности от РМЖ обусловливает необходимость всестороннего изучения данной патологии, особенно факторов риска, генетической предрасположенности, молекулярных механизмов прогрессирования опухолевого роста, метастазирования опухолевых клеток, а также выделения маркеров прогноза исхода заболевания после проведения хирургического и/или химиотерапевтического лечения (Кушлинский Н.Е. и др., 2005; Завьялова М.В. и др., 2013; Tao Z. et al., 2015). К ценным прогностическим маркерам выживаемости при РМЖ наряду с гистологическим типом опухоли и степенью ее злокачественности относят так называемую вовлеченность регионарных лимфатических узлов в опухолевый процесс, а именно наличие или отсутствие в них метастазов и вызванные этим изменения дренажа региональной зоны (Ганцев Ш.Х. и др., 2012, 2019; Завьялова М.В. и др., 2013; Гордеева О.О. и др., 2019; Soerjomataram I. et al., 2008).

По данным некоторых авторов, при вовлеченности в опухолевый процесс 10 и более аксиллярных лимфатических узлов риск смерти от РМЖ в течение 10 лет возрастает на 70% по сравнению с теми индивидами, у которых в патологический процесс вовлечены 1 – 3 лимфатических узла (Weiss R.B. et al., 2003). В связи с этим большое внимание в последнее время уделяется выяснению значимости, надежности и безопасности биопсии аксиллярных лимфатических узлов при РМЖ для установления их метастатического статуса до и после неоадъювантной химиотерапии и, как следствие, для оценки эффективности лечения и определения возможной продолжительности жизни (Yagata H. et al., 2013; Li C.Z. et al., 2015; Kang Y.J. et al., 2017). Не все авторы одинаково высоко оценивают диагностическую и прогностическую значимость биопсий лимфатических узлов, нередко подчеркивают, что она разнится в зависимости от гистологических вариантов РМЖ, эффективности химиотерапии или статуса лимфатических узлов после химиотерапии (Ozmen V. et al., 2010; Yagata H. et al., 2013), но все исследователи считают необходимым продолжение детального изучения лимфатических узлов при РМЖ с целью получения дополнительной информации о характере их структурной реорганизации, в том числе и при отсутствии в них метастазов.

Одним из важнейших факторов, определяющих характер структурно-функциональной реорганизации регионарных лимфатических узлов при неопластическом процессе, является ангиогенез, на выраженность которого в значительной степени влияют продуцируемые опухолевыми клетками цитокины.

Степень разработанности темы исследования. Анализ литературы свидетельствует о том, что основное внимание при изучении регионарных лимфатических узлов уделяется выяснению их метастатического статуса и его изменению после химиотерапии. Другие структурные преобразования лимфатических узлов, как правило, не оцениваются, что не позволяет устанавливать весь спектр негативных эффектов злокачественного опухолевого роста, в том числе РМЖ, на функционально и анатомически связанные с неопластическими очагами органы и ткани. Значительная структурная реорганизация лимфатических узлов, которые относятся к периферическим органам иммунной системы, может негативно влиять на созревание иммунокомпетентных клеток и, как следствие, на развитие иммунных реакций, что может усугублять состояние онкологических больных, снижать качество их жизни после химиотерапевтического и хирургического лечения (Sclafani L.M., Baron R.H., 2008). Следует также отметить недостаточное использование структурно-функциональных характеристик лимфатических узлов без метастазов для разработки прогностических критериев не только долгосрочной выживаемости, но и развития коморбидной патологии с учетом агрессивности опухолевого процесса.

В литературе приводятся многочисленные результаты исследований, указывающих на то, что васкуляризация злокачественных опухолей может быть независимым прогностическим фактором прогрессии рака, его инвазии, развития местных и отдаленных метастазов. Также достаточно много публикаций, ставящих под сомнение значимость ангиогенеза в опухоли, как предиктора дальнейшего развития рака. Изменения васкуляризации опухоли происходят при воздействии различных факторов и релизов, продуцируемых как самими раковыми клетками, так и окружающими тканями при их гипоксии. Все эти цитокины попадают в регионарные лимфатические узлы и должны также проявить в их тканях свое про- и антиангиогенное действие. Не исключено, что по изменениям васкуляризации биоптированных лимфатических узлов станет возможным как прогноз интенсивности ангиогенеза в самой первичной опухоли, так и оценка эффективности проводимого лечения.

Цель исследования – изучить особенности структурной реорганизации и васкуляризации аксиллярных лимфатических узлов на разных стадиях рака молочной железы и установить характер взаимосвязей между выраженностью структурных изменений в разных компартментах лимфатических узлов и стадией злокачественного процесса.

Задачи исследования:

1. Провести патоморфологическое изучение аксиллярных лимфатических узлов без метастазов на разных стадиях РМЖ.
2. Установить выраженность структурной реорганизации аксиллярных лимфатических узлов без метастазов на разных стадиях РМЖ.
3. С помощью иммуногистохимического метода изучить интенсивность ангиогенеза в аксиллярных лимфатических узлах без метастазов на разных стадиях РМЖ.
4. Определить корреляцию между показателями васкуляризации и выраженностью склеротической трансформации, а также между стадией РМЖ и количественными характеристиками соединительной ткани и сосудов в регионарных лимфатических узлах.

Научная новизна. Впервые при комплексной патоморфологической оценке аксиллярных лимфатических узлов на разных стадиях РМЖ установлены особенности их структурной реорганизации и васкуляризации, отражающие прогрессирование злокачественного процесса в молочных железах. Впервые установлено, что выраженная склеротическая трансформация аксиллярных лимфатических узлов является следствием значительных склеротических изменений во всех структурных компартментах (увеличение объемной плотности соединительной ткани во всех структурных компартментах на IIб стадии в 15 – 25 раз, $p<0,05$), включая светлые центры лимфоидных узелков. Показано, что особенно быстро склеротические изменения развиваются в паракортикальной зоне и по ходу мозговых синусов.

Впервые обнаружено, что при развитии РМЖ в аксиллярных лимфатических узлах как

в целом, так и во всех их компартментах происходит быстрое и значительное увеличение васкуляризации: увеличиваются численность сосудов в единице площади среза (на IIб стадии возрастает в 15,2 раза, $p<0,05$) и их объемная плотность (в 12,3 раза, $p<0,05$). Впервые установлено, что неоангиогенез регистрируется даже в лимфоидных узелках, наиболее часто – в центрах размножения. Объемная плотность сосудов возрастает одновременно и параллельно увеличению их численной плотности, что свидетельствует о том, что не происходит дилатации уже существующих сосудов, а идет формирование сосудистой сети из новообразованных сосудов небольшого диаметра. Особенно выраженные изменения васкуляризации происходят в паракортексе и в мозговом веществе.

Впервые установлено, что в разных отделах аксиллярных лимфатических узлов больных с РМЖ имеется сильная или очень сильная прямая корреляционная связь ($r=0,981$ и $r=0,984$) между стадией процесса и показателями васкуляризации. Впервые показано, что у больных с РМЖ во всех компартментах аксиллярных лимфатических узлов существует положительная корреляционная связь между интенсивностью ангиогенеза и выраженностью склеротической трансформации (от $r=0,664$ до $r=0,707$).

Впервые сделано заключение, что значительная выраженность сосудистой сети в лимфатических узлах является дополнительным симптомом развития злокачественной опухоли в регионе лимфосбора. По степени увеличения количества сосудов или их объемной плотности в лимфатических узлах можно косвенно судить о длительности онкологического процесса и о размерах самой опухоли.

Теоретическое и практическое значение работы. Получены новые знания об особенностях структурной реорганизации и интенсивности ангиогенеза в регионарных к злокачественной опухоли лимфатических узлах без метастазов на разных стадиях РМЖ. Полученные результаты обосновывают необходимость и важность выявления не только метастазов в регионарных лимфатических узлах, но и выяснения выраженности склеротических изменений и интенсивности ангиогенеза как маркеров прогрессии онкологического процесса. Показано, что выраженность склеротической трансформации возрастает по мере увеличения тяжести основной патологии. Значительное увеличение количественных характеристик сосудистой сети в лимфатических узлах также с высокой вероятностью является симптомом развития злокачественной опухоли в регионе лимфосбора. Полученные результаты позволяют считать, что по степени увеличения количественных характеристик сосудов в регионарных лимфатических узлах можно косвенно судить о длительности онкологического процесса и о размерах самой опухоли.

Методология и методы исследования. В работе использованы современные методы сбора и обработки исходной информации (комплексный патоморфологический анализ с применением иммуногистохимии и стереологии). Диссертация основана на принципах и методах комплексного клинико-морфологического анализа неопластических процессов при использовании теоретических разработок и обобщений о системности поражений органов и тканей при развитии злокачественных новообразований. Объект исследования – образцы аксиллярных лимфатических узлов больных на разных стадиях РМЖ. Предмет исследования – особенности структурной реорганизации и васкуляризации аксиллярных лимфатических узлов на разных стадиях РМЖ с проведением корреляционного анализа взаимосвязей между стадией РМЖ, выраженностью структурной реорганизации и интенсивностью ангиогенеза.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. При развитии РМЖ увеличиваются объемная и численная плотности сосудов в аксиллярных лимфатических узлах.
2. Во всех структурных компартментах аксиллярных лимфатических узлов при РМЖ выявляется сильная или очень сильная положительная корреляционная связь между интенсивностью ангиогенеза и выраженностью склеротических изменений.
3. В разных структурных компартментах аксиллярных лимфатических узлов при РМЖ

имеется сильная или очень сильная прямая корреляционная связь между стадией процесса и количественными показателями склеротической трансформации или васкуляризации.

Степень достоверности результатов. Все использованые методические приемы (комплексный патоморфологический анализ с применением иммуногистохимии и стереологии) и способы статистической обработки соответствуют поставленным цели и задачам и позволяют получить достоверные и доступные анализу результаты. Диссертация выполнена на достаточном клиническом материале (изучены аксиллярные лимфатические узлы 104 больных на разных стадиях РМЖ) с использованием сертифицированного оборудования, современных высокоинформативных методов исследования и анализа результатов. Сформулированные научные положения, выводы и практические рекомендации основаны на результатах собственных исследований, не носят характера умозрительных заключений и вытекают из результатов работы.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы патологической анатомии» (Новосибирск, 2015), на объединенном заседании сотрудников кафедр ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, межлабораторной конференции сотрудников Института молекулярной биологии и биофизики и ГБУЗ НСО «Новосибирский областной онкологический диспансер» (Новосибирск, 2018), заседании Ученого совета Института молекулярной патологии и патоморфологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (Новосибирск, 2019).

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты диссертационной работы внедрены в научно-исследовательскую работу кафедры онкологии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и в ГБУЗ НСО «Новосибирский областной онкологический диспансер».

Публикации. По теме диссертации опубликованы 6 работ, из них 4 – в ведущих научных изданиях, рекомендованных ВАК для публикации результатов диссертационных исследований, в том числе входящих в базы данных Web of Science и Scopus.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы «Материал и методы исследования», 2 глав с результатами собственных исследований и их обсуждением, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа изложена на 130 страницах компьютерного текста, содержит 15 таблиц, иллюстрирована 28 микрофотографиями. Список литературы включает 308 источников (60 отечественных и 248 иностранных авторов).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование проведено на архивном материале, находящемся на хранении в патологоанатомическом отделении ГБУЗ НСО «Новосибирский областной онкологический диспансер». Были изучены аксиллярные лимфатические узлы без метастазов, удаленные во время мастэктомии у 104 больных, которые находились на лечении в отделении маммологии в 2009-2014 г.г. с диагнозом «Рак молочной железы». Неоадъювантное противоопухолевое лечение у женщин указанных групп не проводили в связи с отсутствием показаний. Все больные из всех групп в предоперационном периоде в полной мере получали симптоматическое лечение и коррекцию сопутствующих заболеваний. В качестве контроля были исследованы подмышечные лимфатические узлы 14 умерших женщин, ранее находящихся на лечении в ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 1», онкологических заболеваний и следов от перенесенных операций и травм на груди у этих больных не было. Статистически достоверные отличия по возрасту между сравниваемыми группами отсутствовали.

Биоптированный материал изучали, и полученные данные протоколировали в соответствии с законодательством Российской Федерации и этическими принципами проведения медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования, изложенных в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации, принятой на 29-й Генеральной ассамблее WMA (Токио, Япония, октябрь 1975 г.), с изменениями, принятыми на 59-й Генеральной ассамблее WMA (Сеул, Южная Корея, октябрь 2008 г.). На работу получено разрешение Локального комитета по медицинской этике ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Росздрава (протокол № 23 от 23 декабря 2010 г.).

В зависимости от стадии болезни женщины составляли 3 группы:

1-я группа – 52 больных Iа стадии РМЖ ($T_1N_0M_0$).

2-я группа – 43 больных IIа стадии РМЖ ($T_2N_0M_0$).

3-я группа – 9 больных IIб стадии РМЖ ($T_3N_0M_0$).

В группу сравнения были включены аксиллярные лимфатические узлы 14 умерших женщин, ранее находившихся на лечении в ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 1», онкологических заболеваний и следов от перенесенных операций и травм на груди у этих больных не было.

Аксиллярные лимфатические узлы фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина не менее 24 ч, обезвоживали в градиенте этанола возрастающей концентрации, просветляли в ксилоле и заключали в парафин. Срезы толщиной 5 – 7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и по ван Гизону. Для оценки количественных параметров васкуляризации и интенсивности неоангиогенеза на срезах лимфатических узлов проводили непрямую иммунопероксидазную реакцию с моноклональными антителами против CD34-антигена в соответствии с рекомендациями производителя антител: использовали набор реагентов "Dako reagents kit" (Dako, Дания). Срезы изучали на световом микроскопе Axioimager M1 (Zeiss, Германия) при увеличении до 1200 раз.

Морфометрический анализ аксиллярных лимфатических узлов проводили с использованием цифровой видеокамеры микроскопа и программного обеспечения морфологического модуля Axiovision (Zeiss, Германия). При использовании объектива с увеличением x5 конечная площадь тестового прямоугольника составляла 5 600 000 мкм^2 (стороны 2800x2000 мкм), при объективе x10 – 1 400 000 мкм^2 (стороны 1400x1000 мкм), при объективе x20 – 350 000 мкм^2 (стороны 700x500 мкм), при объективе x40 – 87 500 мкм^2 (стороны 350x250 мкм).

Статистическую обработку результатов проводили на прикладной статистической программе MS Excel (Microsoft, USA), определяли коэффициент корреляции, среднее арифметическое и стандартное отклонение.

Различия между средними считали достоверными при $p \leq 0,05$, При расчетах учитывали, что распределение исследуемых признаков было близким к нормальному.

Кроме того, были изучены парные коэффициенты корреляции между показателями васкуляризации и выраженностью склеротической трансформации, а также между стадией РМЖ и уровнем развития соединительной ткани или показателями развития сосудов в лимфатических узлах в целом и отдельно в каждой из их структур.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По гистологическому строению все опухоли были представлены инфильтрирующим протоковым папиллярным или тубулярным РМЖ (табл. 1). При установлении гистологических вариантов РМЖ и их морфологической характеристики руководствовались методическими рекомендациями для врачей патологоанатомов и онкологов (Рак молочной…, 2014).

Микроскопически карциномы молочной железы характеризовались структурной гетерогенностью, которая была наиболее выражена в инфильтрирующих карциномах. Опухо-

левая паренхима была представлена скоплениями эпителиоподобных клеток (часто мономорфными), которые образовывали однослойные трубочки, цепочки, гнезда, мелкоальвеолярные структуры. Одновременно встречались фолликулоподобные образования, состоявшие преимущественно из низкодифференцированных, перстневидных, клеток. В ряде случаев вокруг видоизмененных протоковых структур формировались муфтообразные скопления гомогенных масс. Следует отметить высокую атипию ядер опухолевых клеток в фолликулоподобных образованиях. Во всех случаях регистрировался выраженный фиброз молочных желез в очаге поражения с формированием грубоволокнистой соединительной ткани. Значительная реорганизация соединительнотканного каркаса при карциномах молочной железы проявлялась также в выраженном очаговом и очагово-диффузном гиперэластозе, который манифестировал с разной выраженностью в разных участках одного и того же препарата.

Таблица 1. Частота встречаемости гистологических вариантов рака молочной железы в группах исследования в соответствии со стадией

Возрастные группы	Стадия РМЖ		
	Iа	IIа	IIб
Инфильтрирующий протоковый РМЖ	52	43	9
в том числе:			
инфильтрирующий папиллярный РМЖ	27	21	6
инфильтрирующий тубулярный РМЖ	25	23	3

По мере прогрессирования патологического процесса (на II стадии) возрастала структурная гетерогенность опухолевых образований молочной железы, в опухолевой паренхиме все чаще встречались солидные образования разных размеров, в которых ядра клеток характеризовались выраженной атипией. Вблизи подобных образований часто располагались массы мономорфного вещества повышенной эозинофильности, которые при окраске по ван Гизону с докраской по Вейгерту окрашивались как эластические структуры. Следует также отметить выраженный фиброз стромы опухолевых узлов и мультипликацию эластических волокон (гиперэластоз), которые были похожи на спутанные комки ниток. Видоизмененные эластические волокна концентрировались преимущественно вокруг протоковых образований разных размеров. Такие выраженные изменения стромы молочной железы обусловлены нарушениями паренхиматозно-стромальных отношений в результате дисморфогенеза эпителиальных структур, редукции/атрофии миоэпителиальных клеток и реактивной активации соединительнотканных клеток. Важно отметить наличие диффузной и диффузно-очаговой мононуклеарной инфильтрации опухолевой ткани, а также формирование небольших фолликулов, состоящих из мононуклеаров, преимущественно лимфоцитов.

Дальнейшее прогрессирование злокачественного роста (IIб стадия) характеризовалось усилением структурной гетерогенности, появлением некротических изменений опухолевых узлов (иногда значительных, захватывающих большую часть узла), а также кribriформных структур, различающих своими размерами. Опухолевые клетки формировали не только условно протоковые и медулярные структуры, но также ленточные и цепочковые структуры, которые врастали в соединительную ткань. Вблизи таких образований всегда находились небольшие группы опухолевых клеток или одиночные опухолевые клетки, которые также диффузно инфильтрировали близлежащие участки молочной железы. Сохранялся выраженный фиброз и гиперэластоз (преимущественно перидуктулярный).

Соотношение структурных элементов аксиллярных лимфатических узлов на разных стадиях рака молочной железы. В аксиллярных лимфатических узлах женщин из группы сравнения строма была представлена умеренно выраженной соединительной тканью, которая и в корковом, и в мозговом веществе выявлялась преимущественно периваскулярно. Небольшие соединительнотканные прослойки наблюдались также вокруг лимфоидных узелков. Отмечался умеренный отек паренхимы, обусловленный посмертными изменениями. Капсула органа была неравномерно разволокнена.

В аксиллярных лимфатических узлах пациенток с I стадией РМЖ следует отметить незначительное утолщение капсулы, а также ее неравномерное разволокнение. В корковом веществе наблюдались небольшие скопления коллагеновых волокон, преимущественно периваскулярно. Незначительно утолщались соединительнотканные прослойки вокруг лимфоидных узелков, в самих узелках коллагеновые волокна не выявлены. В мозговом веществе склеротические процессы были выражены в большей степени, чем в других отделах.

На II стадии РМЖ капсула аксиллярных лимфатических узлов была утолщена по сравнению с группой сравнения на 36% (табл. 2). В корковом веществе разрастания коллагеновых волокон наблюдались не только в трабекулах по ходу промежуточных синусов, но и непосредственно в лимфоидной паренхиме. Вокруг лимфоидных узелков появлялись утолщенные пучки коллагеновых волокон, признаки склеротической трансформации регистрировались также в самих узелках. Значительной склеротической трансформации подвергались мозговые тяжи и трабекулы.

Таблица 2. Объемная плотность (в %) основных структурных компартментов аксиллярных лимфатических узлов больных на разных стадиях РМЖ (M±m)

Структурный компартмент	Группа сравнения	Стадия РМЖ		
		Ia	IIa	IIб
Капсула	1,36±0,49	1,55±0,60	1,85±0,67	4,20±0,84*,#,+
Соединительная ткань в корковом веществе	0,78±0,80	1,35±0,75	13,10±2,40*,#	19,20±1,30*,#,+
Соединительная ткань в мозговом веществе	1,86±1,56	2,25±1,55	14,90±2,06*,#	27,20±2,77*,#,+
Краевой синус	1,01±1,18	0,85±0,75	0,80±0,77	1,20±1,30
Корковое плато	15,90±1,51	13,80±1,41	9,45±1,15*,#	8,60±1,67*,#
Паракортикальная зона	26,90±4,11	27,10±5,13	16,67±4,66	7,60±4,93*,#
Узелки без центра размножения	3,50±1,09	2,80±0,77	2,67±0,68	2,60±0,89
Узелки с центром размножения	11,80±1,63	12,10±1,85	13,37±1,02	8,80±1,64
Мантийная зона	5,36±0,93	4,95±1,10	5,35±0,88	3,80±0,84
Центры размножения	6,43±0,94	7,10±1,02	7,97±0,97	5,00±1,00
Мякотные тяжи	17,80±1,42	18,30±1,68	12,67±1,43*,#	9,80±1,30*,#
Мозговые синусы	19,20±1,72	20,10±2,05	15,00±0,97	10,80±1,33*,#,+

Примечание. РМЖ – рак молочной железы; * – $p \leq 0,05$ относительно группы сравнения, # – $p \leq 0,05$ относительно Ia стадии РМЖ; + – $p \leq 0,05$ относительно IIa стадии РМЖ.

На IIб стадии РМЖ отмечалось наиболее значительное утолщение капсулы аксиллярных лимфатических узлов – в 3 раза по сравнению с группой сравнения и в 2,7 раза по сравнению с Ia стадией РМЖ ($p<0,05$). Заметное утолщение капсулы аксиллярных лимфатических узлов (2,3 раза) происходило также относительно женщин со IIa стадией РМЖ (см. табл. 2). В корковом веществе формировались широкие прослойки соединительной ткани, которые располагались преимущественно субкапсулярно и по ходу кровеносных

сосудов и лимфатических синусов. Часто регистрировались гнездные скопления многослойных концентрических образований из коллагеновых волокон. Отмечались выраженные склеротические изменения лимфоидных узелков – как центральных, так и периферических зон. Наиболее значительной склеротической трансформации подвергалось мозговое вещество аксиллярных лимфатических узлов. Обширные прослойки соединительной ткани формировались по ходу мозговых тяжей и трабекул. В некоторых случаях происходило фрагментирование мозгового вещества в результате значительного разрастания соединительной ткани, можно было говорить о формировании крупноячеистого соединительнотканного остова.

Объемная плотность соединительной ткани в корковом веществе аксиллярных лимфатических узлов на IIа стадии РМЖ увеличилась соответственно в 16,7 и 9,7 раза относительно группы сравнения и Iа стадии, на IIб стадии этот показатель становился больше соответственно в 24,6; 14,2 раза и на 46,6% по сравнению с группой сравнения, Iа и IIа стадиями (см. табл. 2). Объемная плотность соединительнотканных прослоек в мозговом веществе лимфатических узлов на IIа стадии РМЖ возросла в 8 и 6,6 раза, соответственно, относительно группы сравнения и Iа стадии. На IIб стадии РМЖ этот показатель был больше соответственно в 14,6; 12,1 раза и на 82,6% по сравнению с группой сравнения, Iа и IIа стадиями (см. табл. 2). Объемная плотность коркового плато аксиллярных лимфатических узлов на IIа и IIб стадиях РМЖ достоверно уменьшалась соответственно на 68,3 и 84,9% по сравнению с группой сравнения, и соответственно на 46 и 60,5% – по сравнению с Iа стадией (см. табл. 2).

Объемная плотность паракортикальной зоны только на IIб стадии РМЖ была меньше в 3,5 и 3,6 раза, соответственно, относительно группы сравнения и I стадии (см. табл. 2). Объемная плотность лимфоидных узелков с центрами размножения и самих центров на IIб стадии была достоверно меньше на 51 и 58%, соответственно, чем на IIа стадии (см. табл. 2). Объемная плотность мякотных тяжей у больных РЖМ IIа и IIб стадий сократилась соответственно на 41,3 и 81,6% относительно группы сравнения и соответственно на 45,2 и 86,7% по сравнению с Iа стадией (см. табл. 2). Объемная плотность просвета мозговых синусов на IIа стадии РМЖ стала меньше соответственно на 28 и 34%, чем в группе сравнения и на Iа стадии, а на IIб стадии этот показатель был ниже соответственно на 77,8; 86,1 и 38,9%, чем в группе сравнения, на Iа и IIа стадиях (см. табл. 2).

Таким образом, по мере прогрессирования РМЖ в аксиллярных лимфатических узлах происходило утолщение капсулы, расширение соединительнотканных прослоек в корковом и мозговом веществе. Одновременно уменьшалась площадь коркового плато, паракортикальной зоны, лимфоидных узелков с центрами размножения, мякотных тяжей и мозговых синусов.

Любой онкологический процесс, в том числе и РМЖ, сопровождается хроническим воспалением (Virtanen E. et. al., 2014; Principi M. et. al., 2014; Khatami M., 2014). Это воспаление может начинаться еще до развития рака и быть одной из его причин. Кроме того, инвазивный рост опухоли повреждает окружающие ткани и поддерживает воспалительную реакцию. Клеточный и тканевой детрит, находящийся в лимфе при хроническом воспалительном процессе в регионе лимфосбора, оседает на уровне промежуточных синусов коркового вещества и мозговых синусов. Такие крупные фрагменты тканевого детрита подвергаются резорбции макрофагами, и при незавершенности фагоцитоза могут инкапсулироваться. Постепенно происходит разрастание соединительной ткани как в корковом, так и мозговом веществе лимфатических узлов, возможно даже полное замещение всех структур данных органов соединительной тканью. Важно отметить, что склерозирование аксиллярных лимфатических узлов нарастает по мере увеличения стадии РМЖ так же, как это происходит в самих молочных железах.

Особенности развития соединительной ткани в разных отделах аксиллярных лимфатических узлов на разных стадиях рака молочной железы. В аксиллярных лим-

фатических узлах объемная плотность соединительной ткани на IIа стадии РМЖ возрастала соответственно в 10,6 и 7,8 раза, относительно группы сравнения и Iа стадии, а на IIб стадии была больше соответственно в 17,6; 12,9 раза и на 65,7%, чем в группе сравнения, на Iа и IIа стадиях (табл. 3).

Таблица 3. Объемная плотность (в %) соединительной ткани в разных отделах аксиллярных лимфатических узлов больных на разных стадиях РМЖ (M±m)

Структурный компартмент	Группа сравнения	Стадии РМЖ		
		Iа	IIа	IIб
Весь узел	2,64±1,39	3,60±1,76	28,01±3,65*,#	46,42±2,07*,#
в том числе:				
корковое вещество	0,78±0,30	1,35±0,75	13,11±2,41*,#	19,21±1,30*,#
мозговое вещество	1,86±0,56	2,25±1,55	14,90±2,06*,#	27,21±2,77*,#
Корковое вещество				
в том числе:				
корковое плато	0,21±0,03	1,0±0,33	5,75±1,16*,#	5,60±0,89*,#
паракортикальная зона	0,57±0,24	0,35±0,19	5,75±1,53*,#	7,20±1,10*,#
узелки без центра размножения	0	0	0	1,80±0,64*,#
узелки с центром размножения	0	0	1,61±0,79	4,61±0,67*,#
Мозговое вещество				
в том числе:				
мякотные тяжи	1,00±0,14	1,00±0,18	5,70±1,34*,#	6,80±1,48*,#
мозговые синусы	0,86±0,25	1,25±0,57	9,15±0,66*,#	20,41±1,97*,#

Примечание. РМЖ – рак молочной железы; * – $p \leq 0,05$ относительно группы сравнения, # - $p \leq 0,05$ относительно Iа стадии рака молочной железы.

В корковом плато объемная плотность соединительнотканных прослоек на IIа и IIб стадиях РМЖ увеличилась соответственно в 26,9 и 26,2 раза относительно группы сравнения и в 5,8 и 5,6 раза по сравнению с Iа стадией РМЖ (см. табл. 3). В паракортикальной зоне объемная плотность соединительной ткани на IIб стадии РМЖ была больше в 12,6 раза, чем в группе сравнения, и в 20,6 раза выше, чем на Iа стадии заболевания.

У женщин без РМЖ (группа сравнения) и на Iа стадии болезни соединительная ткань полностью отсутствовала в лимфоидных узелках как без центров размножения, так и с герминативными центрами. На IIа стадии РМЖ небольшие прослойки плотной волокнистой соединительной ткани появлялись только в центрах размножения отдельных органов. Однако на IIб стадии признаки склероза той или иной степени выраженности были найдены уже во всех узелках всех лимфатических узлов (см. табл. 3).

Объемная плотность соединительной ткани в мякотных тяжах на IIа и IIб стадиях РМЖ была больше соответственно в 5,7 и 6,8 раза, чем в группе сравнения и на Iа стадии заболевания (см. табл. 3). В мозговых синусах аксиллярных лимфатических узлов объемная плотность соединительнотканных прослоек на IIа стадии РМЖ возросла соответственно в 10,7 и 7,3 раза относительно группы сравнения и Iа стадии, а на IIб была выше в 23,8; 16,3 и 2,2 раза, соответственно, по сравнению с группой сравнения, Iа и IIа стадиями (см. табл. 3).

Таким образом, в аксиллярных лимфатических узлах по мере прогрессирования опухолевого процесса в молочной железе значительно увеличивался объем соединительной ткани. Необходимо отметить, что прослойки соединительной ткани на IIа стадии РМЖ выявлялись в некоторых наблюдениях даже в центрах размножения лимфоидных фолликулов. Особенно быстро склероз прогрессировал в паракортексе и в мозговых синусах, где объемная плотность соединительной ткани возрастала в несколько десятков раз.

Наши данные согласуются с данными других исследователей, которые также отмечали значительное усиление склерозирования лимфатических узлов при злокачественных процессах в регионе лимфосбора (Лебедев А.А., 2009; Колотова Н.М. и др., 2010). Имеются сообщения даже о полном замещении некоторых структур лимфатических узлов различными типами соединительной ткани (Лебедев А.А., 2009; Колотова Н.М. и др., 2010), в том числе жировой тканью (Майбородина В.И., 2009; Лебедев А.А., 2009).

Следует отметить, что на выраженность склероза лимфатических узлов могут оказывать влияние и некоторые цитокины, продуцируемые опухолевыми клетками. Такие цитокины, как TGF-beta и FGF-1, не только стимулируют ангиогенез, но и потенцируют пролиферацию фибробластов и синтез ими компонентов соединительной ткани (Kadin M.E. et al., 1990; Zhang L. et al., 1999). Однако такие склеротические изменения в лимфатических узлах связывают не только с опухолью, но и с возрастом (Черенкова М.М., 2008; Куликова О.В., 2008; Лебедев А.А., 2009).

Особенности количественных изменений сосудов в разных отделах аксиллярных лимфатических узлов на разных стадиях рака молочной железы. При оценке численной плотности сосудов во всем лимфатическом узле выявлено, что данный показатель у больных на IIа стадии РМЖ возрос в 8 и 6,7 раза, соответственно, относительно группы сравнения и Iа стадии, а на IIб был больше в 15,2; 12,8 раза и на 90,8%, соответственно, чем в группе сравнения, на Iа и IIа стадиях (табл. 4). Количество сосудов на 10^5 мкм^2 среза коркового вещества на IIа стадии болезни возросло в 7,7 и 7 раз, соответственно, относительно группы сравнения и Iа стадии, на IIб этот показатель вырос соответственно в 13,6; 12,5 раза и на 78,1% по сравнению с группой сравнения, Iа и IIа стадиями (см. табл. 4).

Таблица 4. Численная плотность сосудов (на 10^5 мкм^2 площади среза) в разных отделах аксиллярных лимфатических узлов больных на разных стадиях РМЖ (M±m)

Структурный компартмент	Группа сравнения	Стадия РМЖ		
		Iа	IIа	IIб
Весь узел	3,57±3,06	4,25±2,31	28,4±4,09$^{*,\#}$	54,21±3,11$^{*,\#,+}$
Корковое вещество	1,79±1,58	1,95±1,19	13,7±2,77$^{*,\#}$	24,40±0,89$^{*,\#,+}$
Мозговое вещество	1,79±1,67	2,30±1,98	14,70±2,28$^{*,\#}$	29,80±2,77$^{*,\#,+}$
Корковое плато	1,07±0,92	1,40±1,14	5,85±1,27$^{*,\#}$	7,20±1,10$^{*,\#}$
Паракортикальная зона	0,71±0,99	0,55±0,76	6,35±2,74$^{*,\#}$	8,40±1,95$^{*,\#}$
Узелки без центра размножения	-	-	-	2,41±0,89$^{*,\#,+}$
Узелки с центром размножения	-	-	1,51±1,93	6,40±1,82$^{*,\#}$
Мантийная зона	-	-	-	2,81±0,84$^{*,\#,+}$
Центры размножения	-	-	1,50±1,93	3,60±1,14$^{*,\#}$
Мякотные тяжи	0,71±0,73	0,91±1,07	4,85±1,14*$^{,\#}$	7,20±1,79$^{*,\#}$
Мозговые синусы	1,07±1,14	1,40±1,19	9,80±2,04$^{*,\#}$	22,61±2,30$^{*,\#,+}$

Примечание. РМЖ – рак молочной железы; * – $p \leq 0,05$ относительно группы сравнения, # – $p \leq 0,05$ относительно Iа стадии РМЖ; + – $p \leq 0,05$ относительно IIа стадии РМЖ.

Содержание сосудов в единице площади мозгового вещества лимфатических узлов на IIа стадии РМЖ возросло в 8,2 и 6,4 раза, соответственно, относительно группы сравнения и Iа стадии, а на IIб было больше в 16,6; 13 и 2 раза, соответственно, по сравнению с группой сравнения, Iа и IIа стадиями (см. табл. 4). В корковом плато численная плотность сосудов на IIа и IIб стадиях РМЖ стала больше в 5,5 и 6,7 раза, соответственно, чем в группе сравнения, и выше в 4,2 и 5,1 раза, соответственно, относительно Iа стадии (см. табл. 4). В паракортикальной зоне количество сосудов на IIб стадии РМЖ было больше в 11,5 раза относительно группы сравнения; при IIа и IIб стадиях этот показатель стал выше в 8,9 и 11,8 раза, соответственно, чем при Iа стадии (см. табл. 4).

Важно отметить, что сосуды всех типов у женщин без РМЖ (группа сравнения) и на Iа стадии болезни полностью отсутствовали в лимфоидных узелках как без центров размножения, так и с герминативными центрами. На IIа стадии РМЖ небольшие сосуды со склерозированными стенками появлялись только в центрах размножения отдельных органов. Однако на IIб стадии сосуды присутствовали уже во всех структурах всех узелков всех лимфатических узлов

Численная плотность сосудов в мякотных тяжах на IIб стадии РМЖ была больше в 10 раз относительно группы сравнения, а на IIа и IIб стадиях этот показатель возрос соответственно в 5,4 и 8 раз относительно Iа стадии (см. табл. 4). В мозговых синусах подмышечных лимфатических узлов количество сосудов в единице площади просвета синусов на IIа стадии РМЖ возросло в 9,2 и 7 раз, соответственно, относительно группы сравнения и Iа стадии, а на IIб стадии было выше в 21; 16 и 2 раза, соответственно, чес в группе сравнения, на Iа и IIа стадиях (см. табл. 4).

Таким образом, при возрастании стадии РМЖ в аксиллярных лимфатических узлах как в целом, так и во всех их зонах выявлено быстрое и значительное увеличение численной плотности сосудов. Сосуды появляются даже в лимфоидных узелках, причем, сначала в герминативных центрах. Более значительное увеличение численности сосудов обнаружено в паракортикальной зоне и по ходу мозговых синусов.

По мере развития злокачественной опухоли, при ее инфильтративном росте, повреждаются кровеносные сосуды. Следует учитывать, что рост большинства опухолей опережает рост сосудистой сети. Постепенно развивается и прогрессирует гипоксия опухолевых клеток (Liao Y. et. al., 2014; Zhang J. et. al., 2014; Liu B. et. al., 2014). Учитывая значительную пролиферативную активность клеток рака, недостаточность микроциркуляции может иметь важное значение для существования самой опухоли.

Оказавшись в условиях гипоксии, клетки опухоли вырабатывают и выделяют различные факторы, такие как VEGF, TGF, FGF и др., стимулирующие рост сосудов для восстановления или даже усиления своего кровоснабжения (Abbasi M.M. et al., 2014; Yanase M. et al., 2014; Ikeda K. et al., 2014).

Частично эти релизы попадают в лимфатическое русло и вместе с током лимфы транспортируются, как минимум, до регионарных лимфатических узлов, где также должны оказать свое ангиогенное действие.

Объемная плотность сосудов в разных отделах лимфатических узлов на разных стадиях рака молочной железы. Анализ объемной плотности сосудов показал, что во всем лимфатическом узле данный показатель у больных на IIа стадии РМЖ возрос в 6,3 и 6,5 раза, соответственно, относительно группы сравнения и Iа стадии, а на IIб была больше в 12,3; 12,7 раза и на 95,7%, также соответственно, по сравнению с контролем, Iа и IIа стадиями (табл. 5). Объемная плотность сосудов в корковом веществе лимфатических узлов на IIа стадии болезни увеличилась в 7 и 7,5 раза, соответственно, относительно группы сравнения и I стадии, а на IIб стала больше в 12,1; 13 раз и на 73,3%, соответственно, по сравнению с группой сравнения, Iа и IIа стадиями (см. табл. 5).

Объемная плотность сосудов в мозговом веществе лимфатических узлов на IIа стадии РМЖ возросла в 5,7 раза относительно группы сравнения и Iа стадии, а на IIб – стала больше в 12,4; 12,5 и 2,2 раза, соответственно, по сравнению с группой сравнения, Iа и IIа стадиями (см. табл. 5). В корковом плато объемная плотность сосудов на II и III стадиях РМЖ стала больше в 4,5 и 5,8 раза, соответственно, чем в группе сравнения, и в 4,1 и 5,3 раза выше, соответственно, чем на Iа стадии (см. табл. 5). В паракортикальной зоне объемная плотность сосудов на IIа и IIб стадиях также была выше в 16,6 и 21,6 раза, соответственно, относительно состояния на Iа стадии; на IIб стадии этот показатель превосходил таковой в группе сравнения в 12,6 раза (см. табл. 5).

Таблица 5. Объемная плотность (в %) сосудов (CD34-позитивных структур) в разных отделах аксиллярных лимфатических узлов больных на разных стадиях РМЖ (M±m)

Структурный компартмент	Группа сравнения	Стадия РМЖ		
		Iа	IIа	IIб
Весь узел	3,00±0,66	2,91±0,65	18,76±1,38*,#	36,84±1,92*,#
в том числе:				
корковое вещество	1,29±0,27	1,20±0,32	9,01±1,38*,#	15,62±0,89*,#
мозговое вещество	1,71±0,25	1,71±0,53	9,75±1,37*,#	21,22±2,17*,#
Корковое вещество				
в том числе:				
корковое плато	0,86±0,16	0,95±0,26	3,85±0,54*,#	5,01±0,71*,#
паракортикальная зона	0,43±0,11	0,25±0,04	4,15±0,81*,#	5,40±1,34*,#
узелки без центра размножения	0	0	0	1,40±0,35*,#
узелки с центром размножения	0	0	1,01±0,26	3,81±0,79*,#
Мозговое вещество				
в том числе:				
мякотные тяжи	0,57±0,16	0,70±0,20	3,30±0,57*,#	5,21±1,11*,#
мозговые синусы	1,14±0,27	1,01±0,36	6,45±0,66*,#	16,01±1,58*,# 3

Примечание. РМЖ – рак молочной железы; * - p≤0,05 относительно группы сравнения, # - p≤0,05 относительно Iа стадии рака молочной железы.

Сосуды всех типов полностью отсутствовали в лимфоидных узелках как без центров размножения, так и с герминативными центрами в лимфатических узлах у женщин в группе сравнения (женщины без РМЖ) и на Iа стадии болезни. На IIа стадии РМЖ небольшие сосуды со склерозированными стенками появились только в центрах размножения отдельных органов. Однако на IIб стадии сосуды присутствовали уже во всех узелках всех лимфатических узлов.

Объемная плотность сосудов в мякотных тяжах на IIа и IIб стадиях РМЖ была больше в 5,8 и 9,1 раза, соответственно, чем в группе сравнения, и выше в 4,7 и 7,4 раза, соответственно, по сравнению с Iа стадией РМЖ (см. табл. 5). В мозговых синусах подмышечных лимфатических узлов объемная плотность сосудов на IIа стадии РМЖ возросла в 5,7 и 6,5 раза, соответственно, относительно группы сравнения и Iа стадии, а на IIб была выше в 14; 16 и 2,5 раза, соответственно, чем в группе сравнения, на Iа и IIа стадиях (см. табл. 5).

Анализ изменений объемной плотности сосудов показал их однонаправленные изменения с численной плотностью сосудов (см. табл. 4, 5). То есть одновременно во всех структурах лимфатических узлов и в целом в органах возрастала как численность сосудов, так и их объемная плотность в той или иной зоне. Это может указывать на то, что не происходило расширения уже существующих сосудов, а имел место неоангиогенез, образование сосудистой сети из вновь сформированных сосудов.

Возможные причины ангиогенеза и увеличения как числа, так и площади сосудов в подмышечных лимфатических узлах больных при РМЖ по мере прогрессирования основной патологии могут быть обусловлены нарастающей гипоксией опухолей (Liao Y. et. al., 2014; Zhang J. et. al., 2014; Liu B. et. al., 2014), продукцией опухолевыми клетками различных проангиогенных цитокинов (Abbasi M.M. et al., 2014; Yanase M. et al., 2014; Ikeda K. et al., 2014) и транспортом их вместе с током лимфы в регионарные лимфатические узлы.

Корреляционные связи между численной плотностью сосудов и объемной плотностью соединительной ткани в разных отделах лимфатических узлов. Коэффициент корреляции между численной плотностью сосудов и объемной плотностью соединительной ткани в аксиллярных лимфатических узлах у женщин в группе сравнения (без РМЖ) был равен 0,395 (слабая прямая корреляция), у больных РМЖ с Iа стадией он составил 0,633 (сильная прямая корреляция), со IIа стадией – 0,766 (очень сильная положительная корреляция), с IIб стадией – 0,364 (слабая прямая корреляция) (табл. 6).

Таблица 6. Коэффициент корреляции (r_{xy}) между численной плотностью сосудов и объемной плотностью соединительной ткани в разных отделах аксиллярных лимфатических узлов больных на разных стадиях РМЖ

Структурный компартмент	Группа сравнения	Стадия РМЖ		
		Iа	IIа	IIб
Весь узел	0,395	0,633	0,766	0,364
Корковое вещество	0,265	0,673	0,770	0,514
Мозговое вещество	0,194	0,661	0,594	0,039
Корковое плато	-0,239	0,762	0,223	0,868
Паракортикальная зона	0,393	0,588	0,985	0,890
Узелки без центра размножения	-	-	-	0,802
Узелки с центром размножения	-	-	0,913	0,559
Мантийная зона	-	-	-	0,286
Центры размножения	-	-	0,913	0,681
Мякотные тяжи	-0,102	0,375	0,349	0,396
Мозговые синусы	0,649	0,688	0,676	0,322

По-видимому, такие значения на Iа и IIа стадиях болезни связаны с тем, что процессы ангиогенеза и склероза идут параллельно, чем больше численная плотность сосудов в лимфатическом узле, тем более выражено там развитие соединительной ткани. Отличия от женщин в группе сравнения обусловлены тем, что именно развитие опухоли инициировало и ангиогенез и склероз.

На IIб стадии РМЖ для всего лимфатического узла выявлена слабая положительная корреляция, что обусловлено разной выраженностью процессов ангиогенеза и фиброзирования в разных структурных компартментах лимфатического узла. В частности, для коркового вещества, коркового плато, паракортикальной зоны, узелков без центра и с центром размножения и центров размножения выявлены прямые сильные и очень сильные корреляционные связи между численной плотностью сосудов и объемной плотностью соединительной ткани. В мозговом веществе лимфатических узлов коэффициент корреляции постепенно снижался: от 0,661 при Iа стадии РМЖ (сильная положительная связь) до 0,039 на IIб стадии РМЖ (слабая положительная связь) (см. табл. 6). Такое уменьшение коэффициента корреляции в мозговом веществе на IIб стадии РМЖ, по-видимому, и обусловило снижение коэффициента корреляции для лимфатического узла в целом.

Установленные сильные прямые корреляционные связи между численной плотностью сосудов и объемной плотностью соединительной ткани (показателями, характеризующими процессы ангиогенеза и склероза) в аксиллярных лимфатических узлах на Iа и IIа стадиях РМЖ отражают их одновременное и однонаправленное изменение, но протекающее с разной интенсивностью. На IIб стадии РМЖ в мозговом веществе и мозговых синусах корреляционные связи между численной плотностью сосудов и объемной плотностью соединительной ткани существенно ослабевают по сравнению с таковыми в других зонах лимфатических узлов, что может отражать постепенно нарастающую гетероморфность разных зон лимфатических узлов по мере прогрессирования неопластического процесса.

В мякотных тяжах корреляционная связь была отрицательной в группе сравнения и слабой положительной на всех стадиях РМЖ (см. табл. 6), что, по-видимому, обусловлено тем, что в этих структурах находятся высокодифференцированные плазматические клетки, которые слабо подвержены различным воздействиям. Из-за своей устойчивости к токсическим воздействиям детрита из лимфы плазматические клетки погибают в меньшей степени, и структуры мякотных тяжей не так активно замещаются соединительной тканью и там не так быстро формируются сосуды.

Следует отметить, что другие исследователи также отметили относительную устойчи-

вость структур мякотных тяжей лимфатических узлов к различным воздействиям при развитии рака в регионе лимфосбора (Черенкова М.М., 2008; Майбородина В.И., 2009; Лебедев А.А., 2009; Зарубенков О.А., 2009; Колотова Н.М. и др., 2010).

В мозговых синусах коэффициент корреляции в группе сравнения, на Iа и IIа стадиях РМЖ указывал на прямую сильную связь между численностью сосудов и объемной плотностью соединительной ткани, на IIб стадии РМЖ сильная корреляционная связь сменялась слабой положительной (см. табл. 6). Изменения корреляционных взаимосвязей между исследуемыми показателями в мозговых синусов полностью повторяли динамику изменений коэффициента корреляции, рассчитанного для лимфатических узлов.

Корреляционные связи между объемными плотностями сосудов и соединительной ткани в разных отделах лимфатических узлов. Коэффициенты корреляции между объемными плотностями сосудов и соединительной ткани в разных структурных компартментах лимфатических узлов у пациенток с РМЖ были практически идентичными соответствующим показателям, полученным при изучении корреляции между численной плотностью сосудов и объемной плотностью соединительной ткани (табл. 7).

Таблица 7. Коэффициент корреляции (r_{xy}) между объемными плотностями сосудов и соединительной ткани в разных отделах аксиллярных лимфатических узлов больных на разных стадиях РМЖ

Структурный компартмент	Группа сравнения	Стадия РМЖ		
		Iа	IIа	IIб
Весь узел	-0,299	0,747	0,707	0,664
Корковое вещество	0,216	0,757	0,716	0,729
Мозговое вещество	-0,452	0,678	0,601	0,075
Корковое плато	0,508	0,860	0,726	0,790
Паракортикальная зона	0,132	0,787	0,983	0,953
Узелки без центра размножения	-	-	-	0,764
Узелки с центром размножения	-	-	0,913	0,969
Мантийная зона	-	-	-	0,869
Центры размножения	-	-	0,913	0,873
Мякотные тяжи	-0,294	0,358	0,406	0,800
Мозговые синусы	-0,075	0,825	0,645	0,107

Так, коэффициент корреляции между объемными плотностями сосудов и соединительной ткани в подмышечных лимфатических узлах на Iа стадии РМЖ составлял 0,747 (очень сильная положительная корреляция), на IIа стадии был равен 0,707 (очень сильная прямая корреляция), а на IIб стадии приобрел значение 0,664 (сильная положительная корреляция). При этом в группе сравнения обнаружена обратная корреляционная зависимость между изучаемыми показателями. В этой же группе выявлена отрицательная корреляция для изучаемых показателей в мозговом веществе в целом, а также отдельно в мякотных тяжах и мозговых синусах (см. табл. 7).

Значительное сходство корреляционных взаимосвязей между численностью сосудов и объемной плотностью соединительной ткани и между объемной плотностью сосудов и выраженностью склероза, скорее всего, объясняется тем, что увеличение количества вновь образованных сосудов в лимфатических узлах происходит одновременно с увеличением их объемной плотности. Постоянно появляются новые сосуды, происходит их постепенное созревание, формирование всех оболочек и периваскулярных тканей.

То есть при действии проангиогенных цитокинов, продуцируемых опухолевыми клетками при их гипоксии (Liao Y. et. al., 2014; Zhang J. et. al., 2014; Liu B. et. al., 2014) и попадающих в регионарные лимфатические узлы, в последних образуются новые сосуды с

тонкими стенками, состоящими из одного ряда клеток. В результате этого увеличивается численная плотность сосудов (содержание сосудов на единице площади среза той или иной структуры) и одновременно растет их объемная плотность.

На Iа и IIа стадиях РМЖ сильные корреляционные связи между объемными плотностями сосудов и соединительной были выявлены для всех структурных компартментов лимфатических узлов, кроме мякотных тяжей. На IIб стадии слабые корреляционные связи между анализируемыми показателями были установлены для мозгового вещества, мозговых синусов, в частности.

Сильная прямая корреляционная связь между объемными плотностями сосудов и соединительной ткани обусловлена одновременно идущими процессами неоангиогенеза и склероза. Эти процессы не только идут одновременно, но и, по-видимому, влияют друг на друга. Кроме того, замещение лимфоидной паренхимы соединительной тканью часто проходит через процесс воспаления, формирование грануляций (множество сосудов) с последующей склеротической трансформацией. Обратная корреляция у женщин без РМЖ, возможно, обусловлена тем, что процессы формирования соединительной ткани не связаны с процессами ангиогенеза, или, что постепенный склероз органов, например, возрастной, не сопровождается формированием новых сосудов.

Корреляция между стадией рака и объемной плотностью соединительной ткани в разных отделах лимфатических узлов. При изучении корреляционных связей между стадией РМЖ и объемной плотностью соединительной ткани установлено, что как в целом для аксиллярных лимфатических узлов, так и для отдельных их структурных компартментов эта связь является прямой сильной или очень сильной. Так, для изучаемых показателей коэффициент корреляции для всего узла составлял 0,980, для коркового вещества – 0,953, для мозгового – 0,976. То есть по мере развития опухоли, по мере увеличения стадии болезни возрастала и объемная плотность соединительной ткани как во всем органе в целом, так и отдельно в корковом и мозговом веществе. Причем склеротическая трансформация в этих зонах происходила одинаково интенсивно. Коэффициент корреляции в корковом плато был равен 0,823, в паракортексе – 0,817, в лимфоидных узелках без центров размножения – 0,647, в узелках с герминативными центрами – 0,727 (отдельно в мантийной зоне – 0,647 и в светлых центрах – 0,634), в мякотных тяжах – 0,858 и в мозговых синусах – 0,962.

В лимфатических узлах с началом развития рака или даже при предраковых процессах появляются и постепенно расширяются соединительнотканные прослойки. Возможные причины склероза подробно рассмотрены выше: это – хроническое воспаление в регионе лимфосбора и влияние цитокинов, стимулирующих пролиферацию фибробластов и синтез ими компонентов соединительной ткани. По мере прогрессирования опухоли причины склеротической трансформации лимфатических узлов усугубляются, и в этих органах становится все больше и больше соединительной ткани. Чем дольше опухоль присутствует в организме, тем более длительное время перитуморозный воспалительный процесс и другие факторы, являющиеся прямыми и косвенными причинами склероза регионарных лимфатических узлов, воздействуют на них, поддерживая уже запущенные склеротические процессы и являясь триггерными факторами появления новых участков с соединительной тканью. При переходе РМЖ из начальных стадий на поздние объем соединительной ткани становится все больше, и таким образом объясняется сильная прямая коррелятивная связь между исследуемыми показателями.

Развитие склероза в лимфатических узлах происходит не только при онкологических процессах. Склеротическая трансформация может быть связана с возрастом обследованных (Куликова О.В., 2008; Лебедев А.А., 2009), склероз описан при таких заболеваниях, как лимфедема (Майбородин И.В. и др., 1998, 2001; Бородин Ю.И. и др., 2000), нарушения венозного (Майбородин И.В. и др., 2005) и лимфовенозного оттока (Майбородин И.В. и др., 2003).

В связи с этим развитие соединительной ткани в лимфатических узлах не может быть признаком/симптомом рака в регионе лимфосбора, но при злокачественной опухоли в данных органах выраженность склероза прогрессивно возрастает. При этом обнаружение значительного склероза лимфатического узла не обязательно отражает наличие злокачественной опухоли в регионе лимфосбора данного органа.

Корреляция между стадией рака и васкуляризацией разных отделов лимфатических узлов. Выявлена сильная или очень сильная положительная корреляционная связь между стадией РМЖ и численной плотностью сосудов, а также между стадией РМЖ и объемной плотностью сосудов в разных отделах аксиллярных лимфатических узлов.

При оценке корреляционных связей между стадией РМЖ и численной плотностью сосудов установлено, что коэффициент корреляции для всего лимфатического узла равен 0,981, для коркового вещества – 0,967, для мозгового – 0,97. При оценке корреляционных связей между стадией РМЖ и объемной плотностью сосудов установлено, что коэффициент корреляции для всего лимфатического узла составлял 0,984, для коркового вещества – 0,978, для мозгового – 0,965.

Таким образом, количественные характеристики ангиогенеза, такие как численность сосудов на единицу площади среза и объемная плотность сосудов во всем лимфатическом узле, его корковом или мозговом веществе, увеличиваются при прогрессировании опухоли, при переходе к более тяжелым стадиям заболевания. Ангиогенез в указанных зонах выражен практически одинаково.

Коэффициент корреляции между стадией РМЖ и численной плотностью сосудов в корковом плато составил 0,861, в паракортексе – 0,821, в лимфоидных узелках без центров размножения – 0,667, в узелках с герминативными центрами – 0,747 (отдельно в мантийной зоне – 0,68, светлых центрах – 0,655), в мякотных тяжах – 0,885, в мозговых синусах – 0,959. Коэффициент корреляции между стадией РМЖ и объемной плотностью сосудов в корковом плато был равен 0,841, в паракортексе – 0,819, в лимфоидных узелках без центров размножения – 0,663, в узелках с герминативными центрами – 0,711 (отдельно в мантийной зоне – 0,625, в светлых центрах – 0,628), в мякотных тяжах – 0,900, в мозговых синусах – 0,952. То есть корреляционные связи между стадией РМЖ и количественными характеристиками васкуляризации практически во всех структурных компартментах узлов были прямыми очень сильными, и только в лимфоидных узелках как с центрами размножения, так и без центров – сильными.

По мере роста злокачественной опухоли в ее отделах ткани подвергаются гипоксии (Liao Y. et. al., 2014; Zhang J. et. al., 2014; Liu B. et. al., 2014). Это способствует продуцированию опухолевыми клетками различных проангиогенных факторов (Abbasi M.M. et al., 2014; Yanase M. et al., 2014; Ikeda K. et al., 2014), которые, попадая в регионарные лимфатические узлы, стимулируют там васкулогенез.

Скорее всего, на интенсивность ангиогенеза в лимфатических узлах влияет как длительность наличия опухоли в регионе лимфосбора, так и ее размер. То есть чем дольше существует опухоль в организме, тем более длительное время происходит продукция проангиогенных цитокинов и их воздействие на лимфатический узел. Чем больше размер опухоли, тем более выражена гипоксия ее различных отделов и более значительна выработка веществ, стимулирующих формирование сосудов, тем больше таких цитокинов попадает в лимфатический узел и тем более выражено воздействие этих релизов на рост сосудов в этом органе.

Таким образом, при исследовании регионарных лимфатических узлов без метастазов больных с РМЖ можно ожидать наличия большого числа сосудов и их значительной объемной плотности в различных структурных компартментах данных органов. И, наоборот, в отличие от склеротической трансформации, высокая интенсивность ангиогенеза в лимфатических узлах является свидетельством развития онкологического процесса. По выраженности ангиогенеза, численной плотности сосудов, их объемной плотности в лимфати-

ческих узлах можно косвенно судить о длительности онкологического заболевания и о размерах опухоли, являющейся источником проангиогенных цитокинов.

ВЫВОДЫ

1. Развитие РМЖ сопровождается значительным утолщением капсулы (в 3 раза на IIб стадии) аксиллярных лимфатических узлов и их выраженной склеротической трансформацией (объемная плотность соединительной ткани во всех структурных компартментах на IIб стадии возрастает в 15 – 25 раз, $p<0,05$). Признаки склероза появляются даже в светлых центрах лимфоидных узелков. Особенно быстро склеротические изменения развиваются в паракортикальной зоне и по ходу мозговых синусов.

2. Между стадией РМЖ и объемной плотностью соединительной ткани в аксиллярных лимфатических узлах регистрируется сильная или очень сильная прямая корреляционная связь ($r=0,980$). Выраженная склеротическая трансформация аксиллярных лимфатических узлов не является симптомом наличия злокачественной опухоли в регионе лимфосбора, но может быть дополнительным критерием, свидетельствующим об активности и выраженности неопластического процесса.

3. При прогрессировании РМЖ происходит быстрое и значительное усиление васкуляризации аксиллярных лимфатических узлов: численность сосудов в единице площади среза на IIб стадии возрастает в 15,2 раза ($p<0,05$), объемная плотность сосудов – в 12,3 раза ($p<0,05$). Наиболее выраженные изменения васкуляризации происходят в паракортексе и в мозговом веществе. Неоангиогенез регистрируется даже в лимфоидных узелках, более часто в центрах размножения. Объемная плотность сосудов возрастает одновременно и параллельно увеличению их численной плотности, что свидетельствует о формировании сосудистой сети из новообразованных сосудов небольшого диаметра.

4. В разных отделах аксиллярных лимфатических узлов установлена сильная или очень сильная положительная корреляционная связь между стадией РМЖ и количественными показателями васкуляризации ($r=0,981$ и $r=0,984$). У женщин без РМЖ и с РМЖ Iа стадии достоверных отличий в васкуляризации лимфатических узлов не обнаружено; различия проявляются только начиная со IIа стадии. Значительное развитие сосудистой сети в лимфатических узлах является симптомом развития злокачественной опухоли в регионе лимфосбора.

5. Во всех структурах аксиллярных лимфатических узлов при РМЖ регистрируется положительная корреляционная связь (от $r=0,664$ до $r=0,707$) между количественными показателями, характеризующими интенсивность ангиогенеза, и количественными показателями, характеризующими выраженность склеротической трансформации, что свидетельствует об однонаправленных и параллельных изменениях сосудистой сети и соединительнотканных структур. В лимфатических узлах женщин без РМЖ регистрируется отрицательная корреляционная связь между ангиогенезом и склеротическими изменениями ($r=-0,452$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При патоморфологическом исследовании аксиллярных лимфатических узлов пациенток с РМЖ необходимо оценивать не только наличие в них метастазов, но и выраженность склероза и интенсивность ангиогенеза.

2. При изучении лимфатических узлов без метастазов при РМЖ можно ожидать склеротической трансформации этих органов, тем более выраженной, чем тяжелее стадия основной патологии, так как при прогрессировании опухоли причины склеротической трансформации лимфатических узлов усиливаются.

3. Значительный склероз биоптированного лимфатического узла не является симпто-

мом наличия злокачественной опухоли в регионе лимфосбора, так как появление соединительной ткани в узле может быть вызвано и многими другими причинами.

4. В процессе исследования регионарных лимфатических узлов, непораженных метастазами, удаленных у пациенток с РМЖ, можно ожидать присутствия значительного количества сосудов или их высокой объемной плотности в разных структурных компартментах указанных органов.

5. Значительная выраженность сосудистой сети в лимфатических узлах с высокой вероятностью является симптомом развития злокачественной опухоли в регионе лимфосбора. По степени увеличения количества сосудов или их объемной плотности в лимфатических узлах можно косвенно судить о длительности онкологического процесса и о размерах самой опухоли.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Maiborodin I.V., Krasilnikov S.E., Kozjakov A.E., Babayants E.V., Kulidzhanyan A.P. The feasibility of tumor-related angiogenesis study as a prognostic factor for cancer development // **Novosti Khirurgii. – 2015. – Vol. 23 (3). – P. 339-347.** doi: 10.18484/2305-0047.2015.3.339

2. Бабаянц Е.В., Красильников С.Э., Кулиджанян А.П., Козяков А.Е., Майбородин И.В. Особенности поиска микрометастазов в лимфатических узлах // Актуальные вопросы патологической анатомии: Всероссийская науч.-практ. конф. с международн. участием: Материалы конф. – Новосибирск: Сибмедиздат НГМУ, 2015. – С. 35-38.

3. Козяков А.Е., Бабаянц Е.В., Майбородин И.В. Опухолевый ангиогенез в аксиллярных лимфатических узлах как фактор диагностики рака молочной железы // Актуальные вопросы патологической анатомии: Всероссийская науч.-практ. конф. с международн. участием: Материалы конф. – Новосибирск: Сибмедиздат НГМУ, 2015. – С. 110-112.

4. Maiborodin I.V., Kozjakov A.E., Babayants E.V., Krasilnikov S.E. Angiogenesis in lymph nodes in the development of cancer in the region of lymph collection // **Novosti Khirurgii. – 2016. – Vol. 24 (6). – P. 579-585.** doi: 10.18484/2305-0047.2016.6.579

5. Maiborodin I.V., Kozyakov A.E., Babayants E.V., Krasil'nikov S.E. Features of blood supply to axillary lymph nodes in breast cancer patients // **Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2017. – Vol. 163 (1). – P. 82-86.** doi: 10.1007/s10517-017-3743-9.

6. Козяков А.Е., Войцицкий В.Е., Бакарев М.А., Лушникова Е.Л. Патоморфологический анализ склерозирования и васкуляризации аксиллярных лимфатических узлов на разных стадиях рака молочной железы // **Современные проблемы науки и образования. – 2019. – № 1;** URL: http://www.science-education.ru/article/view?id=28447

Соискатель А.Е.Козяков