

Действие лазероиндуцированной термотерапии на кинетику роста и морфологию саркомы М-1

Ю.С. Романко¹, В.А. Молочков², Т.Е. Сухова², В.В. Попучиев¹, А.В. Молочков³, Е.И. Третьякова², С.В. Корнев⁴, Ю.А. Белый⁵, К.В. Аكوпова²

¹Отдел лазерной и фотодинамической терапии (руководитель — проф. М.А. Каплан) ФГБУ Медицинский радиологический научный центр Минздравсоцразвития России, Обнинск; ²отделение дерматовенерологии и дерматоонкологии (руководитель — проф. В.А. Молочков) ГУ МОНКИ им. М.Ф. Владимирского; ³кафедра кожных и венерических болезней (зав. — проф. А.В. Молочков) медицинского факультета Российского университета дружбы народов им. П. Лумумбы; ⁴кафедра клинической медицины (зав. — проф. С.В. Корнев) медицинского факультета Балтийского федерального университета им. И. Канта; ⁵калужский филиал МНТК Микрохирургия глаза им. акад. С.Н. Федорова

Изучены параметры роста и морфология саркомы М-1 после действия лазероиндуцированной термотерапии. Основное противоопухолевое действие лазероиндуцированной термотерапии (ЛИТТ) обусловлено сочетанным разрушением микроциркуляторного русла и развитием некроза. Предполагается, что полученные результаты могут служить теоретической основой для разработки протокола ЛИТТ в клинической практике.

Ключевые слова: лазероиндуцированная термотерапия, саркома М-1

EFFECTS OF LASER-INDUCED THERMOTHERAPY ON M-1 SARCOMA GROWTH KINETICS AND MORPHOLOGY

Yu.S.Romanko, V.A.Molochkov, T.E.Sukhova, V.V.Popuchiev, A.V.Molochkov, E.I.Tretyakova, S.V.Korenev, Yu.A.Belyi, K.V.Akopova

The parameters of M-1 sarcoma growth and morphology after laser-induced thermotherapy (LITT) were studied. The antitumor effect of LITT was mainly due to destruction of the microcirculatory bed and development of necrosis. These results can serve as the theoretical base for development of LITT protocol for clinical practice.

Key words: laser-induced thermotherapy, M-1 sarcoma

Малоинвазивные щадящие лазерные технологии существенно уменьшают сроки и стоимость лечения, риск и тяжесть осложнений, представляя особый интерес в связи с возможностью их широкого использования [2]. Метод лазероиндуцированной термотерапии (ЛИТТ) основан на необратимости повреждения патологических клеток и тканей при воздействии высокой температуры (43—45°C) и отсутствии повреждений со стороны здоровой окружающей ткани [1].

Цель работы — изучить влияние ЛИТТ на кинетику роста и морфологию саркомы М-1.

Материалы и методы

Исследование проведено на половозрелых самцах белых беспородных крыс массой тела 160—180 г, содержащихся в условиях вивария при естественном освещении и сбалансированном рационе питания в осенне-зимний период времени. Объектом исследования служила быстрорастущая соединительнотканная опухоль — саркома М-1. Она достаточно агрессивна, и ее самопроизвольное рассасывание наблюдается редко. Саркома М-1 относится к метастазирующим, радиорезистентным, быстрорастущим опухолям с достаточно коротким инкубационным периодом, не превышающим 5—7 дней. Животные с трансплантированной опухолью живут 4—5 нед. Эта опухоль характеризуется достаточно большой биомассой и высокой степенью

перевиваемости [4]. Саркома М-1 представляет низкокодифференцированную соединительно-тканную опухоль с высоким пролиферативным потенциалом и низким уровнем спонтанного апоптоза [3].

С соблюдением правил асептики из опухоли крысы-донора получили материал для имплантации, который перенесли в чашку Петри с раствором Хенкса и добавлением 50 ЕД пенициллина. Далее удалили капсулу, некротизированные и геморрагические участки паренхимы опухоли и разрезали ее на фрагменты массой по 5—6 мг. После этого с помощью троакара кусочки опухоли вводили под кожу в правое бедро животных. За 7 дней до начала эксперимента с целью повышения точности измерения опухолей проводили обработку кожи бедра депиляционным кремом [4]. Размер опухолей измеряли 2—3 раза в неделю. Определяли объем новообразований по формуле:

$$V (\text{объем опухоли, см}^3) = (\pi/6) \times D1 \times D2 \times D3,$$

где $D1$ — длина, $D2$ — ширина, $D3$ — высота опухоли в см.

Сроки для гистологического изучения саркомы были определены по динамике и дивергенции линий роста опухолей в исследуемых группах. Изучение эффективности ЛИТТ проведено на двух группах животных с имплантированными опухолями. Методом случайного отбора животных-опухоленосителей распределили на группы, в каждую вошло по 15—20 крыс (от 3 до 5 животных на каждую экспериментальную точку). При выполнении исследований после перевивки крыс с опухолевыми узлами правильной формы выделили две группы по 15 животных: 1-я — контрольная, в которой крыс-опухоленосителей не под-

Сведения об авторах:

Романко Ю. С. — д-р мед. наук, вед. науч. сотр., проф.; Молочков В. А. — д-р мед. наук, проф.; Сухова Т. Е. — канд. мед. наук, ст. науч. сотр. (tats64@mail.ru); Попучиев В. В. — д-р мед. наук, вед. науч. сотр.; Молочков А. В. — д-р мед. наук, проф.; Третьякова Е. И. — канд. мед. наук, науч. сотр.; Корнев С. В. — д-р мед. наук; Белый Ю. А. — д-р мед. наук, проф.; Аكوпова К. В. — науч. сотр. (k.v.akopova@gmail.com).

Результаты измерений объема опухолей (в см³) и параметры кинетики саркомы М-1 в контрольной и основной (леченой) группах животных ($M \pm m$)

Группа	Время от имплантации/прививки опухоли, сут (время от начала ЛИТТ, сут)						Параметры кинетики по формулам и уравнениям линий тренда		
	10 (-2)	12 (0)	13 (1)	16 (4)	24 (12)	33 (21)	G (t0 — t21)	β (t0 — t4)	α_1/α_2
Контрольная группа	0,11 ± 0,01	0,20 ± 0,02	—	0,73 ± 0,06	4,02 ± 0,20	12,47 ± 1,02	1,51 ± 0,13	2,86 ± 0,2	0,25/0,94
ЛИТТ (основная группа)	0,15 ± 0,03	0,28 ± 0,06	0,28 ± 0,01	0	0,02 ± 0,01	0	—	-0,99 ± 0,005	—

вергали какому-либо воздействию, 2-я — основная, где крысы-опухоленосители получили ЛИТТ.

В начале экспоненциальной стадии роста опухолей на 12—14-е сутки после прививки при достижении объема новообразований 0,2—0,4 см³ животным 2-й группы проводили ЛИТТ с помощью медицинского лазерного аппарата ЛАМИ. Параметры светового воздействия были следующие: λ (длина волны) 1060 нм; мощность излучения (P) — 2,5 Вт. Доставку излучения в опухоль проводили с помощью моноволоконного кварцевого световода диаметром волокна 0,6 мм.

В 1-й группе животных (контроль) материал для исследования брали на 12, 16, 24 и 33-е сутки роста опухолей. Во 2-й (основная) группе — через 3 ч, 1 сут, 4, 12 и 21 сут после проведения сеанса ЛИТТ. Опухоли выделяли под нембуталовым наркозом (50 мг/кг).

Животных умерщвляли после завершения опытов путем декапитации. Ткань новообразований вырезали в виде пластинок толщиной 3—4 мм с ориентацией вдоль длинной оси, фиксировали 1 сут в кислой жидкости Буэна, обезвоживали. Микротомные срезы толщиной 6 мкм помещали на предметные стекла, покрывали пленкой из поли-L-лизина ("Sigma"). Общую гистологию саркомы изучали на срезах, окрашенных гематоксилином и эозином.

При определении скорости прироста опухолей за этот период времени вычисляли среднюю геометрическую. Кинетику роста опухолей рассчитывали по уравнениям линий тренда для участков, соответствующих определенным стадиям развития саркомы [4].

Для статистической обработки полученных результатов использовали непараметрический U -критерий Манна—Уитни.

Результаты

Параметры роста новообразований суммированы в таблице и на рис. 1, 2.

Контрольная группа. Латентный период времени до появления опухолевых узелков составил 6—8 дней. Опухоли привились у всех животных, достигнув к 10-м суткам размера, позволяющего проводить измерения. Самопроизвольного рассасывания привившейся саркомы не выявили. В период 10—24 сут

новообразования росли в узком диапазоне варьирования. В линейном масштабе рост саркомы М-1 соответствует по средним значениям кривой, характерной для большинства быстрорастущих экспериментальных новообразований. Наиболее интенсивный рост опухолей наблюдается до 24 сут (t0 — t12). В этот период кривая роста отображается экспонентой: $Vt = V0 \times e^{\alpha t}$.

Кривая выпрямляется в линейных координатах после 24 сут (t12 — t21). В интервале времени 24—33 сут по уравнению линии тренда определяется линейная зависимость роста объема по формуле: $Vt = V0 + \alpha t$. В начальном периоде роста (t0 — t4) получен коэффициент $\beta = 2,86 \pm 0,2$; в интервале t0 — t12 $\alpha_1 = 0,25$; в период t12 — t21 $\alpha_2 = 0,94$. По средней геометрической прирост массы новообразований составил $1,51 \pm 0,13$. Замедление скорости роста отдельных опухолей было отмечено с 4-й недели после имплантации.

На 12—16-е сутки в начале экспоненциальной фазы роста саркома М-1 представляла новообразование с явлениями тканевой и клеточной атипии, состоящее из веретенообразных и полиморфных клеток. Опухолевые узлы отграничены от окружающих тканей тонкой соединительнотканной капсулой, инфильтрированной незначительным количеством полиморфно-ядерных лейкоцитов и мононуклеаров. Отметим зональную неоднородность сосудистого русла. Наиболее васкуляризованы были периферические участки, прилегающие к здоровым тканям. От располагающихся в подкожной клетчатке и капсуле магистральных сосудов ответвлялись капиллярные петли, которые затем вращались в паренхиму опухоли. В подкапсульной зоне опухолевые клетки располагались рыхло, отделены

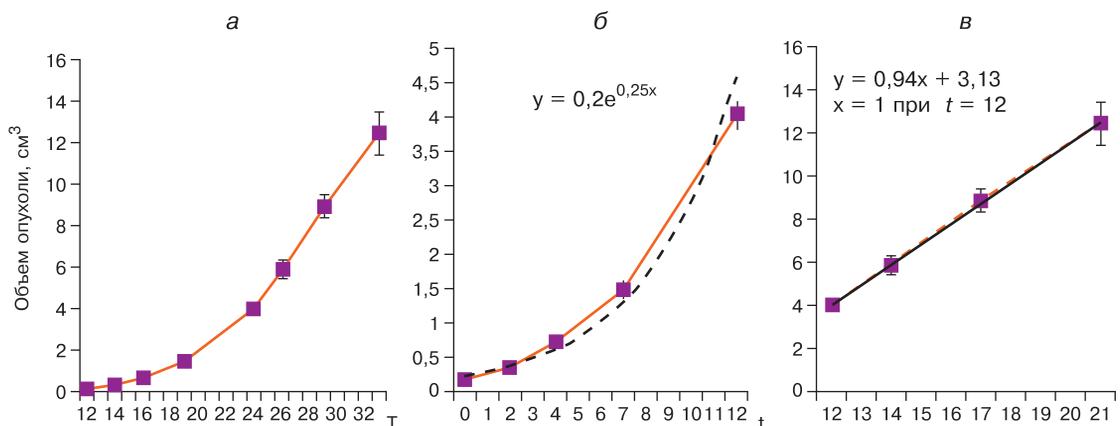


Рис. 1. Кинетика роста саркомы М-1 в контрольной группе. Рост опухолей: а — по средним значениям; б — в экспоненциальной фазе; в — в линейной стадии. Здесь и на рис. 2: Т — время от имплантации опухоли, сут; t — время от начала ЛИТТ, сут.

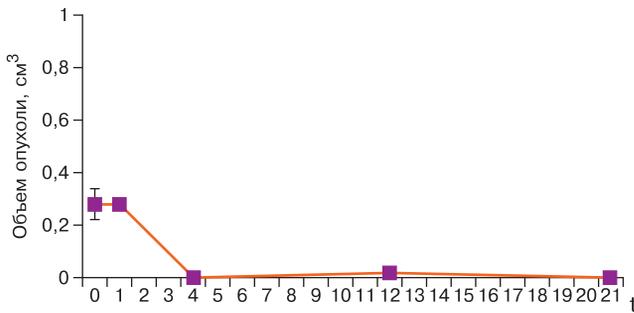


Рис. 2. Кинетика роста саркомы М-1 после ЛИТТ, рост опухолей по средним значениям.

друг от друга тонким слоем межклеточного матрикса. В участках солидного строения клетки саркомы М-1 располагались плотно. Форма ядер овальная вытянутая, в ряде случаев неправильная. На 24—33-е сутки после прививки паренхима новообразований у крыс контрольной группы сохраняла полиморфный гистеонидный тип строения. К 24-м суткам средний объем опухолей составляет 4 см³ и к 33-м суткам увеличивается до 12,5 см³. Тем не менее не обнаружили признаков прорастания опухолевыми клетками соединительно-тканной капсулы. Усилилась зональная неоднородность строения паренхимы. Салидный тип организации сохранялся по периферии.

На препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, центральные зоны опухолевых узлов представлены оксифильными полями спонтанного некроза. По периферии новообразований обнаружили небольшие по размеру очаги некроза.

ЛИТТ саркомы М-1. Через 3 ч после ЛИТТ микроскопически рыхлая соединительная ткань под кожей и вокруг опухолевых узлов пропитана плазмой. Определяются расширенные и полнокровные окружающие опухоль сосуды, в просвете которых формируются эритроцитарные тромбы. Вдоль погибших сосудов паренхима представлена полями и прослойками опухолевых клеток в состоянии коагуляции, между которыми отмечаются фрагменты опухолевой ткани со сжатыми и гиперхромными клетками. В просвете погибших сосудов — сетевидное эозинофильное содержимое и отдельные лейкоциты. Признаков массивного плазматического и геморрагического пропитывания паренхимы не выявили. Стенка отдельных

сосудов полностью разрушена, но кровоизлияния на относительно небольшой площади. Отметим полную остановку микроциркуляции и гемодинамики в новообразовании. Через 1 сут в зоне ЛИТТ подкожная припухлость. Воспалительный вал окружает погибшие ткани. Со стороны менее поврежденных тканей пролиферация фибробластов, с участием макрофагов активная элиминация неопластических клеток. Обнаружили капиллярные петли неопластического ангиогенеза. Признаки опухоли к 4-м суткам отсутствовали. До дистрофически измененных поперечно-полосатых мышц просматривается глубокий некроз опухолей и окружающих их тканей. К 12-м суткам отметили окруженные воспалительным валом и разрастающейся соединительной тканью фрагменты зон некроза новообразований и погибшей мышечной ткани. К 21-м суткам исчезла припухлость окружающих опухоль тканей. В толще склерозированной ткани — небольшие участки, содержащие небольшие группы недавно погибших и погибающих клеток новообразования. Эти зоны инфильтрированы лимфоидными клетками и макрофагами. Не выявили активной пролиферации опухолевых клеток.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о выраженной эффективности ЛИТТ в экспериментах на крысах с имплантированной соединительнотканной опухолью — саркомой М-1. Основное противоопухолевое действие ЛИТТ обусловлено сочетанным разрушением микроциркуляторного русла и развитием некроза. Полученные результаты, вероятно, могут стать теоретической основой для разработки эффективного протокола ЛИТТ в клинической практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Привалов В.А., Селиверстов А.В., Ревель-Мороз Ж.А. и др. // Хирургия. — 2001. — № 4. — С. 10—13.
2. Цыб А.Ф., Каплан М.А., Романко Ю.С., Попучиев В.В. Фотодинамическая терапия. — М.: МИА; 2009.
3. Южаков В.В., Хавинсон В.Х., Курилец Э.С. и др. // Высокие технологии в онкологии: Материалы V Всероссийского съезда онкологов. Казань, 4—7 окт. 2000 г. — Ростов н/Д: Изд-во РГМУ; 2000. — Т. 1. — С. 237—240.
4. Южаков В.В., Хавинсон В.Х., Фомина Н.К. и др. // Вопр. онкол. — 2001. — Т. 47, № 3. — С. 328—334.

Поступила 28.11.11

НОВЫЕ КНИГИ

С. А. Монахов. **Этюды к женскому здоровью.** — М.: Ритм; 2012. — 80 с., 295 ил.



В книге "Этюды к женскому здоровью", являющейся логическим продолжением книг автора "XX: итинерарий по изящным искусствам" и "Наружная художественная медицина", рассмотрены все периоды жизни женщины в контексте косметических изменений кожи. Материал книги базируется на современных научных данных клинических исследований по оценке эффективности и переносимости метода заместительной гормональной терапии у женщин климактерического периода в контексте соматического здоровья и замедления процессов возрастного старения кожи. Иллюстративный материал, сопровождающий

данные научных исследований, позволит максимально наглядно обосновать целесообразность медикаментозной коррекции возрастных изменений кожи женщины.

Издание предназначено для специалистов дерматовенерологов, косметологов, акушеров-гинекологов и может быть использовано в качестве учебного пособия для системы послевузовского профессионального образования врачей.

samskin@yandex.ru