

На правах рукописи

СУЛТАНБАЕВ Александр Валерьевич

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАКТОРОВ РИСКА И ОЦЕНКА ИХ ВЛИЯНИЯ
НА ЛИМФОГЕННОЕ МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ
НА ПРИМЕРЕ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

14.01.12 – онкология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Уфа – 2012

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации.

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Ганцев Шамиль Ханафиевич

Официальные оппоненты: **Фатихов Рашит Габдуллович,**
доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, профессор кафедры госпитальной хирургии;

Демидов Сергей Михайлович,
доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, заведующий кафедрой онкологии и медицинской радиологии.

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации.

Защита диссертации состоится « » мая 2012 г. в часов на заседании диссертационного совета Д.208.006.04 при Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации по адресу: 450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3.

Автореферат разослан « » апреля 2012 г.

Учёный секретарь диссертационного совета
д.м.н., профессор

Рахматуллина И.Р.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Проблема метастазирования злокачественных новообразований всегда привлекала к себе внимание исследователей и клиницистов. В изучении метастазирования большую роль играет выявление механизмов, определяющих опухолевую прогрессию. При этом важнейшие данные о механизмах, лежащих в основе данного явления, могут быть получены преимущественно при анализе результатов экспериментальных исследований (Аничков Н.М. и др., 1989; Ганцев Ш.Х., 2012; Лойт А.А., 2005).

Метастазирование опухолей проходит через серию последовательных этапов, каждый из которых имеет особое значение в процессе метастазирования (Петренко В.М., 2010; Tiotta L.A., 1982). Обязательным этапом образования метастатического очага является продвижение клеток первичной опухоли по лимфатическим сосудам (Ганцев Ш.Х., 2012).

Разными авторами в норме и при патологии изучены основные факторы лимфогенного метастазирования злокачественных новообразований: состав и реологические свойства лимфы (Бородин Ю.И., 1990; Петренко В.М., 2008; Цыб А.Ф. и др., 2007), анатомо-морфологические свойства путей лимфооттока (Бородин Ю.И., 2010; Жданов Д.А., 1974; Куприянов В.В., 1975).

Для исследования периферической лимфы некоторые авторы рекомендуют выполнять её забор на 3–5 сутки после операции (Ермощенко М.В., 2007; Пак Д.Д., 2011; Keidan R.D., 1990; Tyndall S.H., 1994).

Несмотря на проведенные исследования, в настоящее время вопрос о влиянии состава и реологических свойств лимфы, морфометрических параметров лимфоциркуляторного русла на метастазирование злокачественных новообразований остается открытым. Поэтому тема нашей работы является актуальной.

Исходя из вышеизложенного, были определены цель и задачи настоящего исследования.

Цель исследования. Определить факторы риска и оценить их влияние на лимфогенное метастазирование на примере рака молочной железы.

Задачи исследования:

1. Изучить состав периферической лимфы и оценить его влияние на её вязкость при I–III стадиях рака молочной железы.

2. Изучить афферентные лимфатические сосуды «сторожевого» лимфатического узла при раке молочной железы *ex vivo*. Вывести по данным цифровой морфометрии количественные показатели, характеризующие перфузию аксиллярной области при раке молочной железы.

3. Сопоставить состав и свойства лимфы с состоянием лимфатических сосудов «сторожевого» лимфатического узла при раке молочной железы. Определить и сформулировать основные факторы, влияющие на метастазирование рака молочной железы в лимфатической системе.

4. Создать математическую модель лимфодинамики и внутрисосудистого метастазирования рака молочной железы.

Научная новизна работы. Изучен состав периферической лимфы и оценено влияние её компонентов на её динамическую вязкость при раке молочной железы I–III стадий. Установлена зависимость вязкости лимфы от её состава и стадии рака.

Изучены морфометрические характеристики лимфатических сосудов «сторожевых» лимфатических узлов аксиллярной области при раке молочной железы *ex vivo*. Установлено, что состояние лимфатических сосудов можно рассматривать как фактор риска метастазирования рака.

Впервые определены и сформулированы основные факторы, влияющие на метастазирование опухолевых клеток в лимфатической системе при раке молочной железы.

Впервые определено влияние состава лимфы на её реологические свойства, а также влияние реологических свойств лимфы и морфометрических параметров лимфоциркуляторного русла на метастазирование рака молочной железы.

Практическая значимость. Полученные данные реологических свойств, биохимического и клеточного состава лимфы при разных стадиях рака молочной железы, данные морфометрии лимфатических сосудов в норме и при раке молочной железы позволяют расширить возможности прогнозирования метастазирования.

В результате обобщения полученных данных сформулированы рекомендации по определению влияния реологических свойств лимфы, степени нелимфоангиогенеза и диаметра лимфатических сосудов на метастазирование злокачественных новообразований. Выделяя лимфоциркуляторное русло при использовании сонолипоструктора, можно определить степень нелимфоангиогенеза.

Личное участие автора в получении результатов. Автором осуществлено планирование научного исследования. Лично выполнены экспериментальные исследования *ex vivo*, включающие в себя определение реологических свойств лимфы, исследование биохимического и клеточного состава периферической лимфы, препарирование лимфатического аппарата аксиллярной области, видеофиксация всех этапов исследования с последующей цифровой обработкой. Ряд исследований выполнен совместно с канд. мед. наук Ишмуратовой Р.Ш. и канд. мед. наук Фроловой В.Ю.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. При раке молочной железы наблюдается изменение клеточного и биохимического состава лимфы, что влияет на её реологические свойства. Изменения состава и свойств лимфы являются факторами риска лимфогенного метастазирования.

2. Изменение морфометрических характеристик лимфатических сосудов и степень неолимфоангиогенеза при раке молочной железы являются факторами риска метастазирования рака.

3. При злокачественных новообразованиях повышение вязкости лимфы и высокая степень неолимфоангиогенеза влияют на метастазирование.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на заседании проблемной комиссии «Онкология», ученом совете лечебного факультета Башкирского государственного медицинского университета. Результаты диссертации доложены на 13 научной сессии ассоциации онкологов республики Башкортостан (Уфа, 2009); на научно-практической конференции онкологов, посвященной 65-летию образования Тюменской области (Тюмень, 2009); на научно-практической конференции, посвященной 90-летию Белорусского государственного медицинского университета (Минск, 2011). В завершённом виде диссертация доложена на заседании кафедры хирургии и онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии ИПО БГМУ (Уфа, 2012).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.01.12 – «Онкология» (медицинские науки). Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования данной специальности 14.01.12 – «Онкология», конкретно пунктам 2 и 4 паспорта научной специальности.

Публикации. Научные положения и основные практические результаты диссертационного исследования опубликованы в 13 печатных работах, в том числе в 7 работах в журналах, рекомендованных ВАК.

Внедрение в практику. Материалы диссертации используются в практике Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения РБ, а также в программе преподавания на кафедре хирургии и онкологии с курсами ИПО Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из общей характеристики работы, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы.

Диссертация изложена на 115 страницах машинописного текста, иллюстрирована 25 рисунками, 9 таблицами. Список литературы содержит 220 источников (114 отечественных и 106 зарубежных автора).

Материалы и методы исследования. Диссертационное исследование выполнено на кафедре хирургии и онкологии с курсами ИПО ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития РФ.

Объектами настоящего исследования послужили периферическая лимфа и лимфонодулярный комплекс тканей аксиллярной области, взятые у 78 лиц женского пола, прооперированных по поводу рака молочной железы. Работа выполнялась в 3 этапа: на первом этапе определялись состав и реологические свойства периферической лимфы; на втором этапе изучались морфометрические показатели лимфоциркуляторного русла; на третьем этапе определялось влияние реологических свойств лимфы и морфометрических параметров лимфоциркуляторного русла на метастазирование рака.

У всех исследуемых больных (78 пациенток) диагноз – рак молочной железы – был подтвержден при гистологическом исследовании. Помимо установления гистологического типа аденокарциномы, в каждом наблюдении определяли степень дифференцировки опухоли, размер опухоли и количество лимфатических узлов, пораженных метастазами. В группе исследуемых пациенток определялась трехлетняя продолжительность жизни.

В результате проведенного анализа выявлены особенности клинико-морфологических признаков рака молочной железы в целом и каждой стадии в отдельности.

Лимфу, поступающую по дренажу в интервале 3–5 суток, брали на исследование у послеоперационных больных раком молочной железы. В эти сроки геморрагический компонент уже отсутствовал.

Контрольную группу составили 5 пациенток, оперированных по поводу доброкачественных новообразований молочной железы, у которых в послеоперационном периоде наблюдалась лимфорея.

Исследование биохимического состава лимфы проводили на полуавтоматическом фотометре CORMAY MULTI. Клеточный состав лимфы определяли на гематологическом анализаторе МЭК-6400.

Вязкость лимфы определяли на ротационном вискозиметре Вискотестер Нааке VT550. Измерение вязкости проводилось в компьютерном режиме с управляющей программой «Applications software». Измерения выполняли при градиентах скорости 1 с^{-1} , $0,75\text{ с}^{-1}$ и $0,6\text{ с}^{-1}$. Для достижения необходимой температуры использовали термостат TW 2.02, который соединили с термостатирующей рубашкой вискозиметра. Вязкость лимфы определяли при температуре $36,6^{\circ}\text{C}$.

Для определения плотности лимфы при температуре 20°C измеряли массу (m) и объем (V) жидкости. Массу определяли на весах ВЛР-200. Объем лимфы измеряли в пикнометре объемом 5 мл ГОСТ 7465-67. Плотность лимфы соответствовала отношению массы взвешенной лимфы к её объему.

Для исследования морфометрических параметров лимфатических сосудов «сторожевых» лимфатических узлов был произведен забор лимфонодулярных комплексов тканей аксиллярной области во время оперативного вмешательства по поводу рака молочной железы I–III стадий. Контрольную группу составили 10 комплексов тканей аксиллярной области, полученные в бюро судебно-медицинской экспертизы г. Уфы от 10 трупов женского пола. Причиной смерти этих женщин не являлись онкологические заболевания.

При выделении лимфатических сосудов аксиллярной зоны использовался ультразвуковой аппарат LySonix 3000® с PulseSelect™ (США). Все этапы исследования фиксировались на цифровой фотоаппарат. Морфометрию лимфатических сосудов проводили с использованием программы Image-Pro Plus 6.0 (рис. 1).

На основании полученных данных моделировались процессы, происходящие в лимфоциркуляторной системе, оценивалось влияние вязкости лимфы,

суммарной площади поперечного сечения лимфатических сосудов на скорость течения лимфы и перепад давления в лимфатическом сосуде.

Полученный материал обработан статистически с определением показателей, характеризующих связь между изучавшимися явлениями в их цифровом выражении.

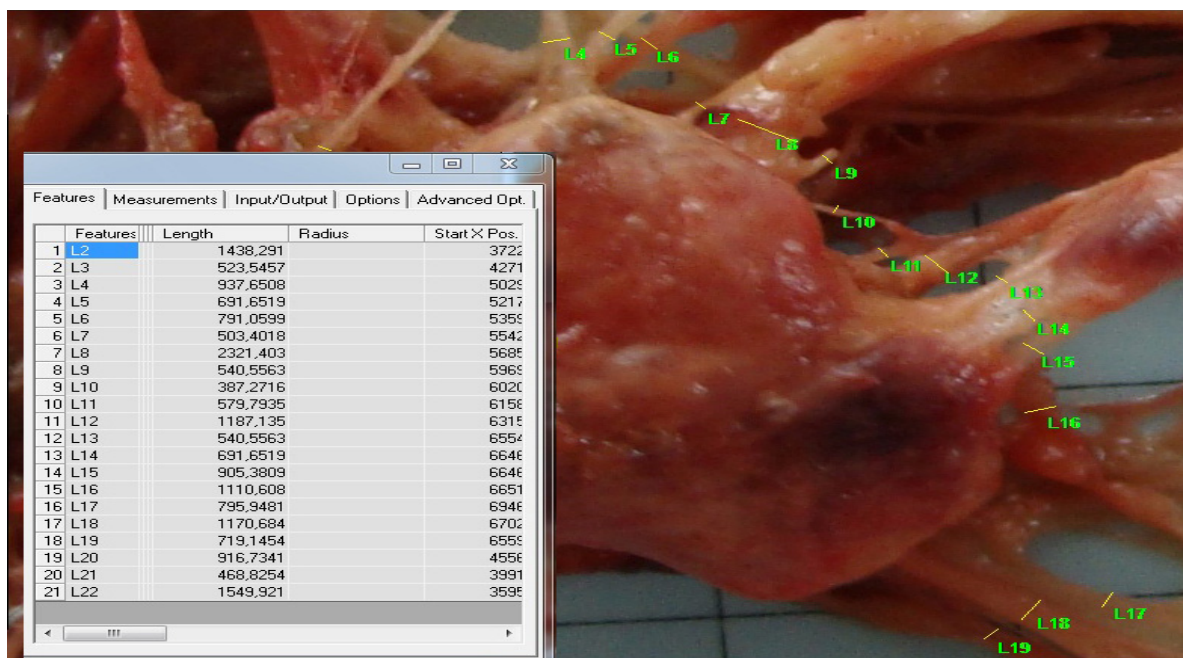


Рис. 1. Морфометрия лимфатических сосудов «сторожевого» лимфатического узла в программе Image-Pro Plus 6.0

На основании полученных данных вычислены средние величины (M), средние квадратические отклонения ($\pm\sigma$). Связь между исследуемыми показателями определялась методом корреляционного анализа Спирмена ($\pm\rho$) и Пирсона ($\pm r$), достоверность коэффициента корреляции оценивалась по критерию Стьюдента (t) и средней квадратичной ошибки ($\pm m$). Между сравниваемыми группами различия считались достоверными при $p < 0,05$. Для обозначения показателей лабораторных исследований в работе использована Международная система измерений (СИ).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведен анализ состава лимфы у пациенток в возрасте 48–68 лет с I–III стадией рака молочной железы. Значения показателей состава лимфы в контрольной группе (норма) и при разных стадиях рака молочной железы представлены в таблице 1.

Данные, отраженные в таблице 1, показывают, что при всех стадиях рака молочной железы уровень альбумина статистически ниже по сравнению с уровнем этого показателя в контрольной группе ($p < 0,05$). При всех стадиях рака молочной железы уровень глобулина, фибриногена, АлАТ и АсАТ статистически выше по сравнению с уровнем данных показателей в контрольной группе ($p < 0,05$). Также отмечается, что при II и III стадиях рака уровень креатинина увеличивается и имеет статистически значимое различие с уровнем аналогичного показателя в контрольной группе ($p < 0,05$). При всех стадиях рака уровень глюкозы в лимфе меньше, чем уровень данного показателя в контрольной группе ($p < 0,05$).

Таблица 1

Состав лимфы в норме и при I–III стадиях рака молочной железы (РМЖ), $M \pm m$

Показатели	Группы			
	контрольная (n=5)	РМЖ I ст. (n=14)	РМЖ II ст. (n=36)	РМЖ III ст. (n=28)
Общий белок, г/л	35±1,7	32,84±1,9	32,29±1,18	32,25±1,46
Альбумин, г/л	20,3±0,7	15,51±1,6*	14,52±1,05*	12,12±1,24*
Глобулин, г/л	14,7±0,4	17,33±1,62*	17,77±1,11*	20,16±1,40*
Фибриноген, г/л	0,7±0,05	0,87±0,08*	0,98±0,05 *	1,18±0,06*
Билирубин общий, ммоль/л	9,02±0,2	9,19±0,18	9,28±0,15	9,27±0,22
Холестерин, ммоль/л	1,9±0,03	1,83±0,07	1,53±0,13	1,88±0,21
Мочевина, ммоль/л	5,98±0,26	5,34±0,13	6,04±0,24	6,67±0,39
Креатинин, ммоль/л	90,2±3,4	91,71±1,36	99,1±3,54*	102,21±3,6*
Глюкоза, ммоль/л	2,6±0,27	2,0±0,25*	2,1±0,2*	1,19±0,07*
Na, ммоль/л	140±3,2	141±5,5	138,3±1,53	139,4±2,5
K, ммоль/л	4,3±0,1	4,1±0,11	4,47±0,52	4,26±0,17
АлАТ, Ед/л	20±2,5	24,57±3,48*	39,79±9,57*	78,16±10,9*
АсАТ, Ед/л	22±3,2	26,14±2,88*	40,04±8,86*	73,16±8,2*
Щелочная фосфатаза, Ед/л	75±5,0	75,60±3,40	84,81±5,89	88,88±7,5
Лейкоциты, $\times 10^9$ /л	2,1±0,10	2,42±0,20	2,46±0,20	2,53±0,36

* – $p < 0,05$ (в сравнении с контрольной группой).

Уровень белковых фракций в лимфе при раке молочной железы и в норме представлен на рисунке 2.

Связь между стадией рака и составом лимфы определялась методом корреляционного анализа.

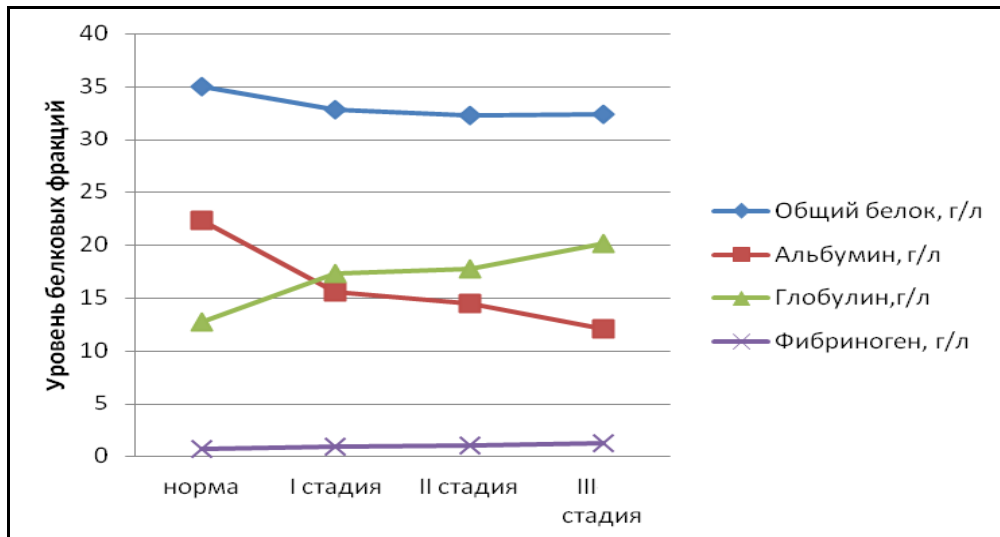


Рис. 2. Уровень содержания белковых фракций лимфы в норме и при раке молочной железы

Проведенный корреляционный анализ показал, что между стадией рака молочной железы и содержанием альбуминов лимфы имеется умеренная отрицательная корреляционная зависимость $\rho = -0,504$, с вероятностью безошибочного прогноза $p < 0,01$ ($t = 5,09$; $m_r = 0,099$). Между стадией заболевания и содержанием глобулинов лимфы определяется умеренная положительная связь $\rho = 0,449$, с вероятностью безошибочного прогноза $p < 0,01$ ($t = 4,401$; $m_r = 0,102$). Проведенный корреляционный анализ между стадией рака молочной железы и составом фибриногенов лимфы показал, что имеется умеренная положительная связь $\rho = 0,676$, с вероятностью безошибочного прогноза $p < 0,01$ ($t = 7,997$; $m_r = 0,0845$).

Следовательно, результаты проведенного исследования позволяют утверждать, что в генеральной совокупности существует корреляционная связь между стадией рака молочной железы и содержанием белковых фракций лимфы.

Корреляционный анализ показывает, что между стадией заболевания и содержанием мочевины выявляется умеренная положительная корреляционная зависимость $\rho = 0,483$, с вероятностью безошибочного прогноза $p < 0,01$ ($t = 4,83$; $m_r = 0,1$). Между стадией заболевания и уровнем креатинина определяется слабая положительная связь $\rho = 0,281$, с вероятностью безошибочного про-

гноза $p < 0,05$ ($t=2,55$; $m_r=0,11$). Коэффициент корреляции между глюкозой и стадией заболевания определяется как умеренная отрицательная $\rho = -0,309$, с вероятностью безошибочного прогноза $p < 0,05$ ($t=2,83$; $m_r=0,109$). Между стадией рака и уровнем содержания аланинаминотрансферазы определяется умеренная положительная связь $\rho = 0,554$, с вероятностью безошибочного прогноза $p < 0,01$ ($t=5,8$; $m_r=0,095$). Коэффициент корреляции между уровнем содержания аспартаминотрансферазы и стадией заболевания равен $\rho = 0,613$, с вероятностью безошибочного прогноза $p < 0,01$ ($t=6,76$; $m_r=0,09$).

Коэффициент корреляции между количественным содержанием лейкоцитов и стадией рака определяется как слабая положительная $\rho = 0,23$, $p < 0,05$ ($t=1,8$; $m_r=0,12$). Между другими компонентами лимфы и стадией рака молочной железы связь не выявлена.

Следовательно, результаты проведенного исследования позволяют утверждать, что в генеральной совокупности существует корреляционная связь между стадией рака молочной железы и составом лимфы.

Для определения вязкости периферической лимфы проведен ее анализ у пациенток с I–III стадией рака молочной железы. Результатами исследования установлено, что при градиенте скорости $0,75\text{c}^{-1}$ и $0,6\text{c}^{-1}$ корреляционной зависимости от стадии рака нет ($p > 0,05$).

Результаты определения вязкости лимфы при градиенте скорости 1c^{-1} и плотности отражены в таблице 2.

Таблица 2

Вязкость и плотность лимфы в норме, при I–III стадиях рака молочной железы, $M \pm m$

Показатели	Группы			
	контрольная (n=5)	РМЖ I ст. (n=14)	РМЖ II ст. (n=36)	РМЖ III ст. (n=28)
Вязкость лимфы, mPas	1,68±0,04	1,77±0,03*	1,84±0,09*	2,18±0,19*
Плотность лимфы, гр/мл.	1,024±0,02	1,023±0,021	1,024±0,03	1,025±0,027

* – $p < 0,05$ (в сравнении с контрольной группой).

Как свидетельствуют данные, отраженные в таблице 2, у пациенток с возрастанием стадии рака молочной железы повышается вязкость лимфы. При

всех стадиях рака вязкость лимфы выше по сравнению с уровнем данного показателя в контрольной группе, с вероятностью статистически значимого прогнозирования ($p < 0,05$). Плотность лимфы при всех стадиях рака по сравнению с уровнем данного показателя в контрольной группе статистически значимых различий не имеет ($p > 0,05$). На рисунке 3 представлена зависимость вязкости лимфы от стадии рака молочной железы.



Рис. 3. Зависимость вязкости лимфы от стадии рака молочной железы

Корреляционный анализ показывает, что между стадией заболевания и вязкостью лимфы определяется умеренная положительная связь ($\rho = 0,35$; $p < 0,05$). Плотность изученной лимфы составила $1,02 \pm 0,02$ г/см³. Корреляционная зависимость плотности лимфы от стадии рака и от вязкости лимфы нами не установлена ($p > 0,05$).

Методом корреляционного анализа определялась связь между реологическими свойствами и составом исследуемой лимфы, что позволило выявить факторы, влияющие на увеличение вязкости лимфы. Между концентрацией компонентов исследуемой лимфы и её плотностью корреляционной связи не выявлено ($p > 0,05$).

Результатами исследования установлено, что повышение вязкости лимфы связано с тремя наиболее информативными факторами: повышением уровня глобулина, фибриногена и лейкоцитов. Между уровнем глобулина и вязкостью лимфы определяется сильная прямая корреляционная связь ($r = 0,81$; $p < 0,05$).

На рисунке 4 представлена зависимость вязкости лимфы от уровня глобулинов.

Между уровнем фибриногена и вязкостью лимфы ($r=0,96$; $p<0,05$) определяется сильная положительная корреляционная связь. На рисунке 5 представлена зависимость вязкости лимфы от уровня фибриногена при I–III стадиях рака молочной железы.

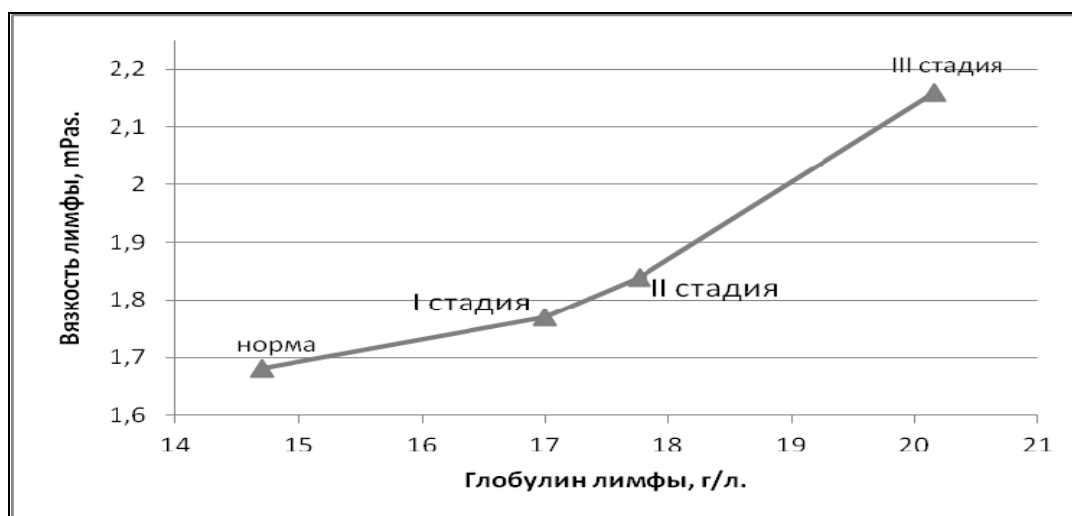


Рис. 4. Зависимость вязкости лимфы от уровня глобулина

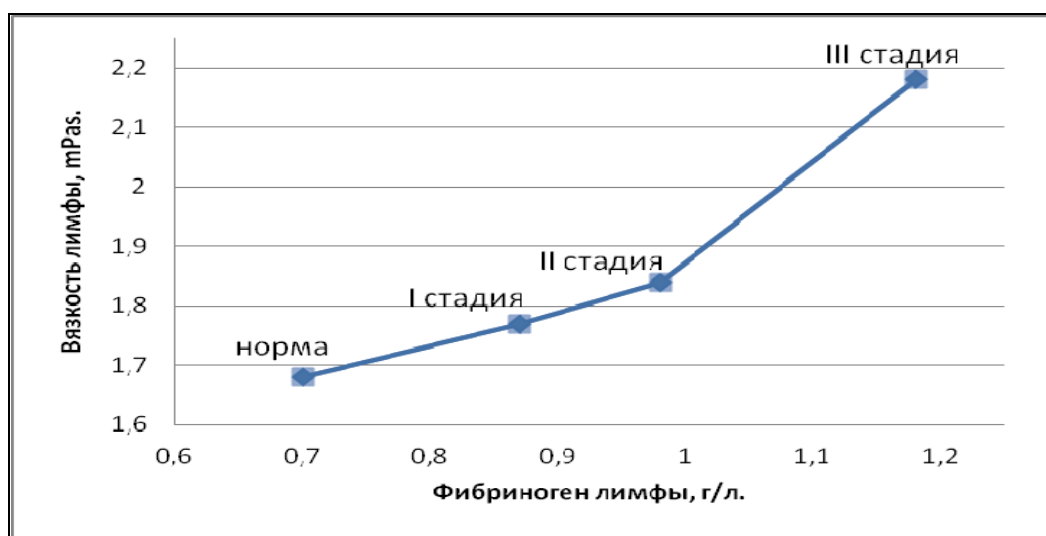


Рис. 5. Зависимость вязкости лимфы от уровня фибриногена

Между уровнем лейкоцитов и вязкостью лимфы определяется умеренная положительная связь ($r=0,41$; $p<0,05$).

Из результатов исследования следует, что при развитии рака молочной железы наблюдаются изменения состава и вязкости лимфы. С ростом стадии рака молочной железы уменьшается уровень глюкозы в лимфе и увеличивается уровень глобулина, фибриногена, мочевины, креатинина, АлАТ, АсАТ, лейкоцитов. Рост уровня фибриногена, глобулина и лейкоцитов в лимфе ведет к на-

рушению её реологии. Увеличение уровня мочевины, креатинина, АЛАТ и АсАТ отражает токсическое действие опухоли.

Второй этап исследования включал изучение и оценку состояния афферентных лимфатических сосудов при раке молочной железы. Для этого после операции – мастэктомия с лимфаденэктомией – выполнялось выделение лимфатических сосудов «сторожевого» лимфатического узла.

Морфометрия афферентных лимфатических сосудов позволила выполнить количественную и качественную оценку лимфатического аппарата в норме и при I–III стадиях рака молочной железы. Морфометрическое исследование выполнено на 78 препаратах при раке молочной железы и 10 в контрольной группе. Участок лимфатического сосуда, подвергшийся исследованию, располагался на расстоянии до 20 мм от капсулы «сторожевого» лимфатического узла. Для стандартизации исследования выполнено вычисление диаметра и среднего количества афферентных лимфатических сосудов, впадающих в лимфатический узел. В препаратах, взятых у группы больных раком молочной железы, в сравнении с препаратами контрольной группы наблюдалась более развитая сеть лимфатических сосудов. Обобщенные данные представлены в таблице 3.

Таблица 3

Количество лимфатических сосудов, впадающих в «сторожевой» лимфатический узел, и их диаметр при РМЖ в сравнении с контролем, ($M \pm m$)

Показатели	Группы			
	контрольная (n=10)	РМЖ I ст. (n=14)	РМЖ II ст. (n=36)	РМЖ III ст. (n=28)
Количество сосудов (ед.)	5,0±2,0	19±7,44*	19,97±3,6*	23,87±4,61*
Диаметр сосудов (мм)	0,48±0,05	0,71±0,14*	0,71±0,08*	0,84±0,12*

* – $p < 0,05$ (в сравнении с контрольной группой).

Как представлено в таблице 3, количество афферентных лимфатических сосудов при раке молочной железы в сравнении с данным показателем в контрольной группе увеличивается в два и более раз ($p < 0,05$). Диаметр афферентных лимфатических сосудов при раке молочной железы имеет статистически значимое различие с диаметром лимфатических сосудов контрольной группы ($p < 0,05$).

Корреляционный анализ показывает, что между стадией рака молочной железы и количеством лимфатических сосудов, перфузирующих «сторожевой» лимфатический узел, имеется сильная положительная корреляционная связь ($\rho=0,71$; $p<0,05$). Между стадией рака и диаметром лимфатических сосудов определяется умеренная положительная корреляционная связь ($\rho=0,32$; $p<0,05$).

Из полученных результатов следует, что при раке молочной железы по сравнению с нормой увеличивается количество и диаметр лимфатических сосудов. Изменения количества и диаметра афферентных лимфатических сосудов влияют на локальную микролимфоциркуляцию и логику метастатического процесса.

Для систематизации процесса нелимфоангиогенеза нами определены несколько его степеней. При 0 степени нелимфоангиогенеза количество лимфатических сосудов достигает 3–9. При I степени нелимфоангиогенеза количество сосудов достигает 10–17, при II степени оно может достигать – 18–25 и при III степени – 25 и более лимфатических сосудов. Полученные результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4

Степень нелимфоангиогенеза при раке молочной железы

Стадия РМЖ	Степень нелимфоангиогенеза				Количество сосудов	
	0	I	II	III	минимальное	максимальное
I	2	7	3	2	7	26
II	1	17	16	2	5	39
III	2	3	7	16	8	55

Данные, представленные в таблице 4, показывают, что при I стадии рака молочной железы чаще всего в выборке наблюдалась I степень нелимфоангиогенеза (7 наблюдений), при II стадии рака чаще всего отмечены I–II степени нелимфоангиогенеза (33 случая), при III стадии рака в основном определялась III степень нелимфоангиогенеза (16 случаев).

Резюмируя второй этап исследования, можно констатировать, что при раке молочной железы наблюдаются явления нелимфоангиогенеза и расширение просвета афферентных лимфатических сосудов.

При динамическом наблюдении за больными отмечено, что при III стадии рака молочной железы в течение трех лет в результате прогрессии заболевания умерли 5 (22%) пациенток.

Вязкость лимфы, количество и диаметр лимфатических сосудов у живых (I подгруппа) и умерших (II подгруппа) пациенток представлены в таблице 5.

Таблица 5

Вязкость периферической лимфы, количество и диаметр афферентных лимфатических сосудов «сторожевого» лимфатического узла, $M \pm m$

Подгруппы	Вязкость периферической лимфы, mPas	Количество афферентных лимфатических сосудов, n	Диаметр афферентных лимфатических сосудов, mm
I (n=23)	2,16±0,15	28,63±1,54*	0,77±0,046
II (n=5)	2,20±0,13	13±0,54	0,846±0,057

* – $p < 0,05$ (в сравнении со II подгруппой).

По результатам сравнительного анализа отмечено, что по количеству лимфатических сосудов между I и II подгруппами определяются статистически значимые различия ($t=5,07$; $p=0,000044$). По вязкости лимфы и по диаметру лимфатических сосудов между I и II подгруппами статистически значимых различий нет ($p > 0,05$).

В дальнейшем нами были проведены исследования и моделирование лимфодинамики, логистики метастатического процесса при РМЖ.

При моделировании оценивалось влияние вязкости лимфы, суммарной площади поперечного сечения лимфатических сосудов на скорость течения лимфы и перепад давления в лимфатическом сосуде. Нами предполагалось, что через лимфатический узел расход лимфы не изменяется, а объемный расход лимфы в сосудах ($Q_{об}$) пропорционален количеству образующейся лимфы в тканях (V) за единицу времени (t). Допускалось, что количество образующейся лимфы в ткани за единицу времени (J) в норме и при раке остается постоянной: $J = \Delta V / \Delta t$, (1).

Образующаяся лимфа транспортируется лимфатическими сосудами в лимфатический узел. Объемный расход лимфы в системе сосудов складывается из суммарного объемного расхода лимфы через сосуды: $J = Q_{об} = \sum Q_i$, (2).

При условии, когда образующаяся лимфа больше её суммарного объемного расхода ($J > \sum Q_i$), возникает отек ткани.

Расход лимфы через участок сосуда цилиндрической формы определяется по формуле Пуазейля: $Q_i = \pi R_i^4 \Delta p_i / 8 l \eta$, (3), где η – динамическая вязкость жидкости, l – длина сосуда, R – радиус сосуда, Δp – падение давления на участке сосуда длиной l .

Для определения влияния вязкости на лимфодинамику нами выполнена следующая постановка задачи: вязкость лимфы изменяется согласно полученным результатам (табл. 2); количество и диаметр сосудов при всех стадиях рака соответствует контрольной группе, остается постоянной. При подстановке полученных данных по вязкости лимфы (η) по формуле 3 определяется, что при I стадии рака расход лимфы ($Q_{I\text{ стадия}}$) через лимфатический сосуд составляет 0,91 от расхода лимфы в норме ($Q_{\text{норма}}$):

$$Q_{I\text{ стадия}} / Q_{\text{норма}} = \eta_{\text{норма}} / \eta_{I\text{ стадия}} = 0,91.$$

При II стадии РМЖ расход лимфы составляет 0,87 от нормы:

$$Q_{II\text{ стадия}} / Q_{\text{норма}} = \eta_{\text{норма}} / \eta_{II\text{ стадия}} = 0,87.$$

При III стадии РМЖ расход лимфы составляет 0,7 от нормы:

$$Q_{III\text{ стадия}} / Q_{\text{норма}} = \eta_{\text{норма}} / \eta_{III\text{ стадия}} = 0,7.$$

Таким образом, у больных уменьшение расхода лимфы должно приводить к росту остаточной лимфы. Из результатов анализа следует, что остаточная лимфа будет составлять (рис. 6): при I стадии РМЖ – 9%; при II стадии РМЖ – 13%; при III стадии РМЖ – 30%.

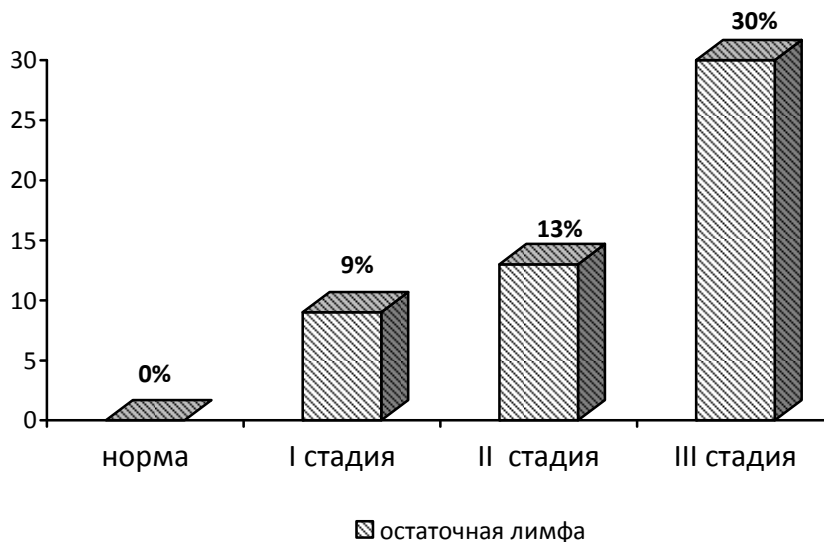


Рис. 6. Доля остаточной лимфы от количества образованной лимфы при раке молочной железы

Рост остаточной лимфы приводит к повышению давления в лимфоциркуляторном русле, что в свою очередь изменяет структуру лимфатических сосудов. Исходя из полученных результатов, нами представлена графическая модель изменения структуры лимфатического сосуда при возрастании давления в нем (рис. 7).

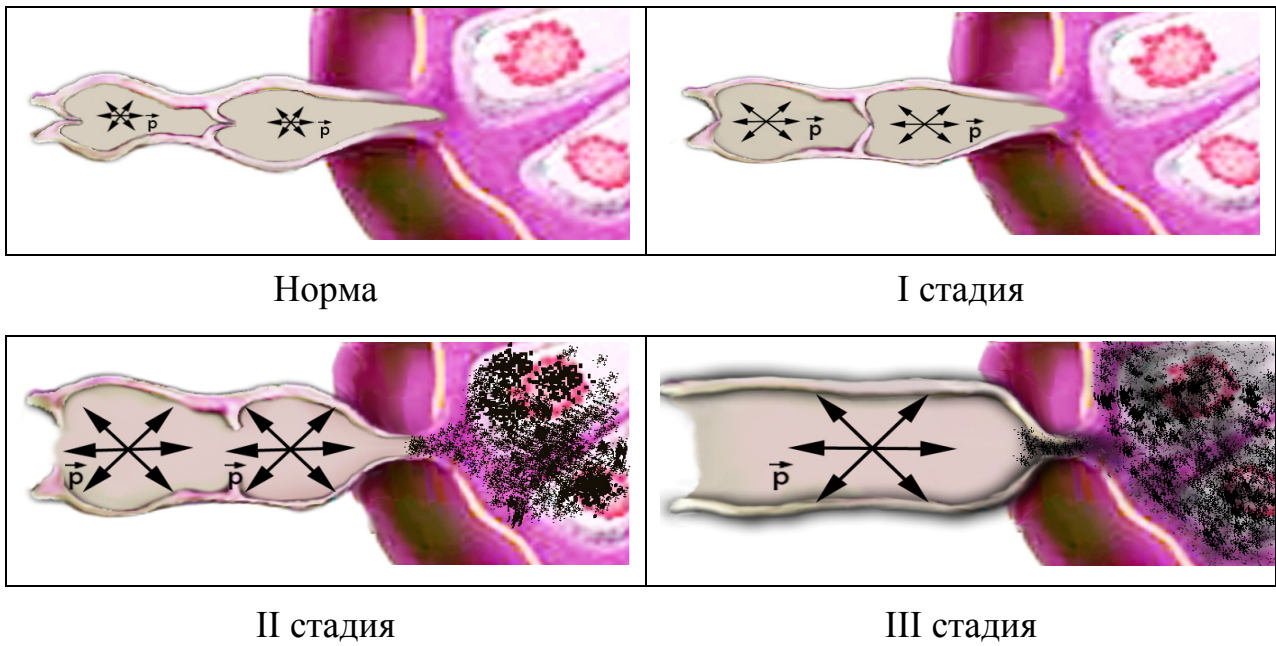


Рис. 7. Графическая модель изменения гидростатического давления и лимфатического сосуда при нарушении оттока лимфы

На данной модели (рис. 7) представлены лимфатические сосуды в норме и при раке молочной железы. На рисунке определяется, что с увеличением стадии рака наблюдается рост остаточной лимфы, который приводит к повышению давления и изменению структуры лимфатического сосуда.

В исследуемых группах при оценке перепада давления в лимфоциркуляторном русле нами предполагалось, что количество образованной в ткани за единицу времени лимфы, оттекающей по лимфатическим сосудам, остается постоянной: $J = (\pi/8 \ln) \sum R_i^4 \Delta p_i$, (4).

При сопоставлении вязкости лимфы и радиуса сосудов по формуле 4 получается, что у больных раком молочной железы по сравнению с контрольной группой в лимфатическом сосуде уменьшается перепад давления.

Если количество суммарного расхода лимфы при раке (Q_p) соответствует количеству суммарного расхода лимфы в норме (Q_0), то:

$$(\pi/8 \ln_0) \sum R_{i0}^4 \Delta p_{i0} = (\pi/8 \ln_p) \sum R_{ip}^4 \Delta p_{ip}, \quad (5)$$

отсюда отношение Δp_{i0} в норме к Δp_{ip} при раке:

$$\Delta p_{i0} / \Delta p_{ip} = (\pi/8 \ln_p) \sum R_{ip}^4 / (\pi/8 \ln_0) \sum R_{i0}^4 = \eta_0 \sum R_{ip}^4 / \eta_p \sum R_{i0}^4, \quad (6).$$

Общее сечение сосудов определяется суммой R_i^4 . Учитывая, что отклонение радиуса сосудов (R_i) мало отличается от среднего ($\langle R \rangle$) значения (табл. 3),

можно допустить: $\sum R_i^4 = n \langle R \rangle^4$. Сопоставляя полученные данные с формулой 6, можно определить, что перепад давления в лимфатических сосудах по сравнению с контрольной группой при I стадии рака уменьшается в 9,5 раза:

$$\Delta p_{\text{норма}} / \Delta p_{\text{I стадия рака}} = 1,7 \times 19 \times 0,355^4 / 1,75 \times 5 \times 0,28^4 = 9,5.$$

При II стадии рака перепад давления в лимфатических сосудах уменьшается в 9,54 раза:

$$\Delta p_{\text{норма}} / \Delta p_{\text{II стадия рака}} = 1,7 \times 19,97 \times 0,355^4 / 1,84 \times 5 \times 0,28^4 = 9,54.$$

При III стадии рака перепад давления в лимфатических сосудах уменьшается в 18,84 раза:

$$\Delta p_{\text{норма}} / \Delta p_{\text{III стадия рака}} = 1,7 \times 23,87 \times 0,42^4 / 2,18 \times 5 \times 0,28^4 = 18,84.$$

Из проведенных расчетов следует, что повышение вязкости лимфы приводит к увеличению остаточной лимфы, а процесс нелимфоангиогенеза приводит к её перераспределению, что вызывает уменьшение перепада давления в лимфоциркуляторном русле.

Для определения отношения скорости течения лимфы и перемещения раковых клеток в I (живые пациентки) и II подгруппах (умершие пациентки) нами учитывалось среднее количество и средний диаметр афферентных лимфатических сосудов «сторожевого» лимфатического узла.

В расчетах расход (Q) лимфы определяется как произведение площади (S) поперечного сечения сосуда к скорости течения лимфы (V). Равенство расхода лимфы в обеих подгруппах выражается следующим образом:

$$Q = V_I S_I = V_{II} S_{II}, (7).$$

Численная реализация модели позволила нам определить различие стационарной скорости течения лимфы в I (V_I) и II (V_{II}) подгруппах:

$$V_{II} / V_I = S_I / S_{II} = \pi R_I^2 / \pi R_{II}^2 = 1,6$$

Из полученного результата следует, что скорость течения лимфы в I подгруппе была в реальных условиях в 1,6 раза меньше, чем во II подгруппе.

Результатами моделирования установлено, что при раке молочной железы нелимфоангиогенез приводит к уменьшению возрастающего давления и скорости течения лимфы, что можно рассматривать как локальную защитную реакцию организма.

ВЫВОДЫ

1. С возрастанием стадии рака молочной железы отмечены следующие изменения в периферической лимфе с вероятностью статистически значимого прогнозирования: уменьшение концентрации глюкозы ($\rho = -0,309$) и альбумина ($\rho = -0,504$); увеличение концентрации глобулина ($\rho = 0,449$), фибриногена ($\rho = 0,676$), креатинина ($\rho = 0,281$), мочевины ($\rho = 0,483$), аланинаминотрансферазы ($\rho = 0,554$) и аспаргатаминотрансферазы ($\rho = 0,613$); увеличение вязкости лимфы ($\rho = 0,324$). Отмечено, что повышение вязкости лимфы связано с тремя наиболее информативными факторами: повышением уровня глобулина ($r = 0,81$; $p < 0,05$), фибриногена ($r = 0,96$; $p < 0,05$) и лейкоцитов ($r = 0,41$; $p < 0,05$). Увеличение уровня мочевины, креатинина, АлАТ и АсАТ отражает токсическое действие опухоли.

2. По данным цифровой морфометрии, с увеличением стадии рака молочной железы отмечено увеличение количества ($\rho = 0,698$), диаметра ($\rho = 0,23$) лимфатических сосудов и увеличение суммарной площади поперечного сечения лимфатических сосудов, что влияет на скорость продвижения раковых клеток.

3. В рамках настоящей работы создана математическая модель течения лимфы и установлено, что у пациенток II подгруппы (умершие при III стадии рака молочной железы) скорость течения лимфы была выше в 1,6 раза, чем у пациенток I подгруппы.

4. Результаты эксперимента указывают, а результаты моделирования подтверждают, что повышение вязкости лимфы и появление новообразованных лимфатических сосудов способствуют уменьшению скорости диссеминации злокачественных новообразований.

Практические рекомендации:

1. При определении реологических показателей и состава периферической лимфы следует производить забор лимфы на 3–5-е сутки после мастэктомии.

2. Для определения степени неолимфоангиогенеза лимфатический аппарат необходимо выделить методом сонолипострукции.

3. Степень неолимфоангиогенеза и вязкость лимфы следует рассматривать как факторы прогноза метастазирования.

4. Представленную в настоящей работе модель метастазирования рака можно использовать как универсальную модель при формировании теории метастазирования.

Список работ автора, опубликованных по теме диссертации

1. Султанбаев, А.В. Особенности лимфореологии при раке молочной железы / А.В. Султанбаев, В.Ю. Фролова // Креативная хирургия и онкология. – 2009. – № 2. – С. 67–68.
2. Стадирование рака молочной железы по критерию N EX VIVO на основе новых технологий / Ш.Х. Ганцев, М.Г. Галеев, А.Г. Пухов, Р.Ш. Ишмуратова, Д.С. Турсуметов, В.Ю. Тихонова, А.В. Султанбаев, М.А. Татунов, Ф.Ш. Зайнуллин // Вестник Южно-Уральского государственного университета. – 2009. – № 27 (160), вып. 20. – С. 89–92.
3. Ганцев, Ш.Х. Особенности лимфореологии при раке молочной железы / Ш.Х. Ганцев, Р.Ш. Ишмуратова, А.В. Султанбаев // Тюменский Медицинский Журнал. Онкология. – 2009. – № 3-4: Материалы юбилейной научно-практической конференции онкологов, посвященной 65-летию образования Тюменской области. – С. 25–26.
4. Цветная лимфография для оценки перфузии лимфатических узлов ex vivo при раке молочной железы / Ш.Х. Ганцев, А.Г. Пухов, М.А. Татунов, Р.Ш. Ишмуратова, В.Ю. Фролова, А.В. Султанбаев // Вестник Южно-Уральского государственного университета. – 2010. – № 6. – С. 59–61.
5. Новые технологии и возможности стадирования рака молочной железы по критерию N ex vivo / Ш.Х. Ганцев, М.Г. Галеев, Р.Ш. Ишмуратова, Д.С. Турсуметов, В.Ю. Тихонова, А.В. Султанбаев, Ш.М. Хуснутдинов, М.А. Татунов, Ф.Ш. Зайнуллин // Опухоли женской репродуктивной системы. Маммология/гинекология. – 2010. – № 2. – С. 40–43.
6. Новые хирургические технологии для уточнения закономерностей лимфогенного метастазирования при раке / Ш.Х. Ганцев, И.Р. Рахматулина, Р.Ш. Ишмуратова, А.В. Султанбаев, М.А. Татунов, Д.С. Турсуметов, А.Ф. Ямалов // Уральский медицинский журнал. Педиатрия. – 2010. – № 6 (71). – С. 95–98.
7. Аксилярный лимфатический аппарат при раке молочной железы: атлас / Ш.Х. Ганцев, М.Г. Галеев, Р.Ш. Ишмуратова, Ш.М. Хуснутдинов, К.Ш. Ганцев, А.В. Султанбаев, М.А. Татунов, В.Ю. Фролова. – М.: МИА, 2010. – 143 с.
8. Оценка перфузии лимфатического узла при метастазах рака молочной железы в эксперименте / Ш.Х. Ганцев, М.А. Татунов, Р.Ш. Ишмуратова,

А.В. Султанбаев // Вестник Академии наук Республики Башкортостан. – 2010. – № 2. – С. 9–11.

9. Аксиллярный лимфатический аппарат при раке молочной железы: атлас с пер. на англ. / Ш.Х. Ганцев, М.Г. Галеев, Р.Ш. Ишмуратова, Ш.М. Хуснутдинов, К.Ш. Ганцев, А.В. Султанбаев, М.А. Татунов, В.Ю. Фролова. – М.: МИА, 2011. – 2-е изд., доп. – 194 с.

10. **Динамика изменения биохимического состава периферической лимфы при раке молочной железы / Ш.Х. Ганцев, А.В. Султанбаев, Р.Ш. Ишмуратова, В.Ю. Фролова, Ш.Р. Кзыргалин // Опухоли женской репродуктивной системы. Маммология/гинекология. – 2011. – № 4. – С. 37–41.**

11. Уровень иммуноглобулинов в раневой лимфе при раке молочной железы / Ш.Х. Ганцев, Р.Ш. Ишмуратова, В.Ю. Фролова, А.В. Султанбаев, Ш.И. Мусин // БГМУ: 90 лет в авангарде медицинской науки и практики: сборник научных трудов. – Минск, 2011. – С. 41–42.

12. Характер перестройки структуры лимфатического русла при раке молочной железы / Ш.Х. Ганцев, Р.Ш. Ишмуратова, В.Ю. Фролова, М.А. Татунов, А.В. Султанбаев // БГМУ: 90 лет в авангарде медицинской науки и практики: сборник научных трудов. – Минск, 2011. – С. 41.

13. **Логистика лимфогенного метастазирования при раке молочной железы / Ш.Х. Ганцев, А.В. Султанбаев, Р.Ш. Ишмуратова, В.Ю. Фролова, А.Т. Ахметов, Ш.Р. Кзыргалин // Креативная хирургия и онкология. – 2012. – № 2. – С. 10–16.**

Список сокращений

РМЖ – Рак молочной железы

АлАТ – Аланинаминотрансфераза

АсАТ – Аспартатаминотрансферазы

Na – Натрий

K – калий

СУЛТАНБАЕВ Александр Валерьевич

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАКТОРОВ РИСКА И ОЦЕНКА
ИХ ВЛИЯНИЯ НА ЛИМФОГЕННОЕ МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ
НА ПРИМЕРЕ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Издательская лицензия № 06788 от 01.11.2001 г.
ООО «Издательство «Здравоохранение Башкортостана»
450000, РБ, г. Уфа, а/я 1293, тел.: (347) 250-81-20; тел./факс: (347) 250-13-82.
Подписано в печать 12.04.2012 г.
Формат 60x84/16. Гарнитура. Times New Roman.
Бумага офсетная. Отпечатано на ризографе.
Усл. печ. л. 1,4. Уч.-изд. л. 1,0.
Тираж 100. Заказ № 700.

