

Изменения ультраструктуры и микроциркуляции стенки мочевого пузыря у пациентов с неинвазивными формами рака

В.Н. Павлов¹, А.А. Казихинов¹, В.Н. Крупин², О.С. Стрельцова², В.З. Галимзянов¹,
А.Р. Загитов¹, Р.Р. Ишемгулов¹, А.Т. Мустафин¹, Е.В. Загайнова³, Е. Б. Киселева³

¹Кафедра урологии с курсом ИПО ГОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Росздрава, Уфа;

²кафедра урологии ГОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия Росздрава,

³НИИ прикладной и фундаментальной медицины, Нижний Новгород

CHANGES OF THE ULTRASTRUCTURE AND MICROCIRCULATION OF BLADDER WALL IN PATIENTS WITH NON-INVASIVE TYPES OF CANCER

V.N. Pavlov¹, A.A. Kazihinurov¹, V.N. Krupin², O.S. Streltsova², V.Z. Galimzyanov¹,
A.R. Zagitov¹, R.R. Ishemgulov¹, A.T. Mustafin¹, Ye.V. Zagaynova³, Ye.B. Kiseleva³

¹Department of Urology of Bashkir State Medical University of Russian Public Health, Ufa; ²Department of Urology of Nizhny Novgorod State Medical Academy of Russian Public Health; ³Research Institute of Applied and Fundamental Sciences, Nizhny Novgorod

Bladder cancer relapses are associated with diffuse pattern of neoplastic changes in the mucous layer of the bladder; treatment efficacy depends on the degree of structural alterations in the bladder wall.

Materials and methods: for evaluation of microcirculation characteristics and structural alterations of mucous layer of the bladder we have used laser analyzer of capillary blood circulation («ЛАКК-01» produced by НПП «ЛАЗМА», Russia) and compact mobile optic tomograph (ИПФ РАН, Russia).

Results: conducted researches have shown alterations affecting both epithelial and submucous layers with their microcirculatory bed in perifocal to bladder tumor tissues.

Conclusions: complimentary application of laser Doppler flowmeter and compact mobile optic tomograph allows defining the type and extent of pathologic process in the bladder wall in superficial tumors and choosing optimal method of correction.

Введение

Рак мочевого пузыря (РМП) в структуре онкологической заболеваемости населения России занимает 8-е место у мужчин и 18-е — у женщин.

Особую проблему представляет лечение поверхностных опухолей мочевого пузыря (МП), т.е. опухолей с инвазией не глубже слизистого слоя (Ta, Tis, T1N0M0), на долю которых приходится около 70% всех РМП [1]. В последние годы основным методом лечения поверхностного РМП стала трансуретральная резекция (ТУР), практически вытеснившая другие органосохраняющие методы оперативного лечения. Однако частота возникновения рецидивов после ТУР крайне высока (50—90%).

Возникновение рецидивов связано с диффузным характером неопластических изменений в слизистой МП, множественностью опухолевых очагов, наличием невыявляемых очагов карциномы *in situ*, сопутствующих папиллярным опухолям, возможностью имплантации опухолевых клеток во время операции.

Известно, что неопластические и воспалительные процессы затрагивают главным образом базальные и парабазальные слои эпителия, базальную мембрану и компоненты соединительной ткани слизистой, реже — поверхностные слои эпителия. Жиз-

недеятельность клеток эпителия зависит от эффективности диффузии кислорода и питательных веществ из подлежащей соединительной ткани. В то же время при гипоксии ускоряется процесс мобилизации и деления незрелых эпителиальных клеток, блокируется их созревание [2, 3].

Таким образом, эффективность лечения этой категории больных зависит от информации о структурных изменениях стенки МП (изменение диаметра сосудов, числа функционирующих обменных микрососудов, изменение вязкости крови, образование агрегатов форменных элементов, замедление или ускорение кровотока) и патофизиологического понимания процессов, происходящих в уротелии (процессов переноса различных молекул, нарушения транспортировки кислорода и питательных веществ) [4].

Одним из неинвазивных и безопасных методов, позволяющих получить информацию о состоянии стенки МП, является оптическая когерентная томография (ОКТ) — метод получения изображения микроструктур биоткани в поперечном сечении в ближнем инфракрасном диапазоне с высоким (10—15 мкм) уровнем разрешения [5]. Принимающее устройство регистрирует отраженный оптический сигнал, который меняется в зависимости от микронеоднородностей тканей. Разрешение

10—15 мкм позволяет регистрировать изменения на уровне слоев тканей (уротелий, подслизистый слой и т. д.). Глубина получения изображений может достигать 3 мм.

В ранее проведенных исследованиях ОКТ показала хорошую чувствительность (от 82 до 98%) и специфичность (от 72 до 85%) в идентификации плоских (неэкзофитных) подозрительных на малигнизацию зон в МП [6—8].

Лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) — новый неинвазивный метод оценки микроциркуляторных расстройств — была разработана в 1980 г. R. Vonneg и стала широко применяться в экспериментальных условиях с середины 80-х годов прошлого века [9].

Физический принцип метода основан на использовании доплеровского эффекта для оценки микроциркуляции. Суть эффекта состоит в изменении частотной характеристики лазерного луча, отраженного от движущихся компонентов крови, в основном эритроцитов [10].

Оценка изменений микроструктуры и микроциркуляции слизистой оболочки нижних мочевыводящих путей с помощью ОКТ и ЛДФ могла бы быть полезна для клинициста при выборе метода лечения, составления плана операции, прогнозирования ожидаемых результатов лечения урологических больных.

Вышесказанное определило необходимость и целесообразность проведения параллельных исследований ультраструктуры и микроциркуляции слизистой оболочки у пациентов с поверхностными формами РМП ОКТ и ЛДФ в клиниках урологии

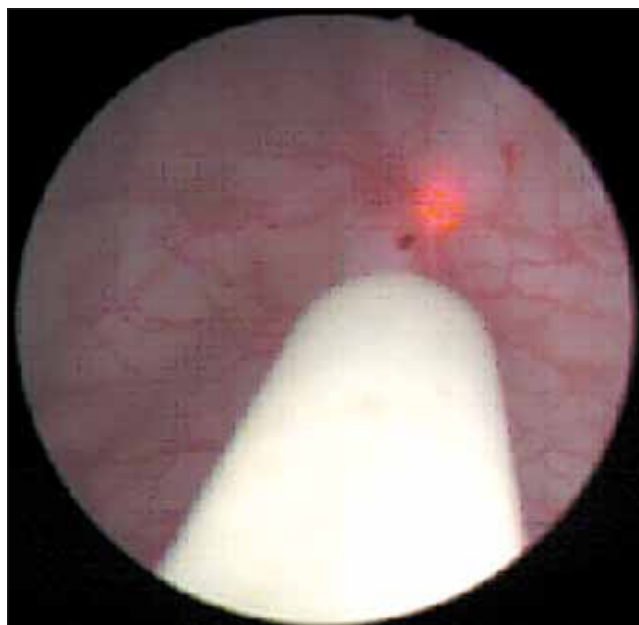


Рис. 1. Зонд анализатора в МП. Цистоскопическая картина

Башкирского медицинского университета и Нижегородской медицинской академии.

Цель исследования заключалась в изучении особенностей микроциркуляции и характера ультраструктурных изменений стенки МП при поверхностных формах рака.

Материалы и методы

Для оценки микроциркуляции методом ЛДФ нами использован лазерный анализатор капиллярного кровообращения «ЛАКК-01» (НПП «ЛАЗМА», Россия) [10]. Принимая во внимание рекомендации группы по стандартизации неинвазивных методов исследования Европейского общества дерматологов, данные для клинического применения ЛДФ, мы проводили исследования в утренние часы в операционной, при температуре комфорта 23—25°C. С целью стабилизации психоэмоционального статуса пациента перед процедурой с ним проводилась беседа. Для снижения тонуса сфинктерно-детрузорной зоны цистоскопия выполнялась под перидуральной анестезией. После осмотра в МП вводился зонд анализатора и под контролем зрения устанавливался перпендикулярно слизистой (рис. 1). Показания снимали с трех точек: с фокуса опухоли, с уротелия в 1 и 2 см от опухоли. Продолжительность исследования составила 3 мин.

При исследовании микроциркуляции пузырно-уретрального сегмента оценивали следующие показатели:

- Показатель микроциркуляции (ПМ), отражающий средний уровень перфузии (средний поток эритроцитов) в единице объема ткани за единицу времени.
- Среднеквадратичное отклонение амплитуды колебаний кровотока от величины ПМ (δ), отображающее усредненную временную колеблемость микроциркуляторного потока, или флакса (flux).

Среди флаксмоций выделяют различные ритмические составляющие, которые характеризуются амплитудой (А) и частотой (F). В физиологическом плане наибольший интерес представляют низкочастотные колебания кровотока (LF) от 4 до 10—12 колебаний в минуту, обусловленные вазомоторной активностью; высокочастотные флаксмоции (HF) от 12 до 30 колебаний в минуту, связанные с дополнительным включением механизмов активации крови из микроциркуляторного русла за счет дыхательных экскурсий (в норме они выражены слабо); и флаксмоции в области кардиоритма — от 50 до 90 колебаний в минуту. Определенный интерес представляет собой низкочастотный ритм, более медленный, чем вазомоторный, так называемый α -ритм, обусловленный ритмическими сокращениями эндотелиоцитов.

- Коэффициент вариации, соответствующий соотношению между изменчивостью перфузии (флаксом) и средней перфузией (ПМ), $K_v = \delta / \text{ПМ} \times 100\%$.

Коэффициент указывает на процентный вклад вазомоторного компонента в общую модуляцию тканевого кровотока.

По классификации В.И. Козлова различают несколько типов микроциркуляции: физиологическая норма, спастическая, спастико-атоническая, застойная и стагическая формы нарушений микроциркуляции.

Указанные параметры дают общую интегральную оценку микроциркуляции исследуемого участка ткани [11].

Для выявления структурных изменений слизистой оболочки МП методом ОКТ использовали компактный переносной оптический томограф (ИПФ РАН, Россия) [6]. Во время эндоскопических манипуляций гибкий зонд оптического когерентного томографа проводили через инструментальный канал операционного цистоскопа и прижимали под контролем зрения к исследуемому участку стенки МП. ОКТ фокуса опухоли выполняли из двух точек, затем пошагово изучали перифокальную зону в 1 и 2 см. Из зон сканирования по показаниям выполняли биопсию.

Для оценки состояния микроциркуляции слизистой оболочки в неизменном МП была сформирована контрольная группа из 25 пациентов, которым проводилась диагностическая цистоскопия при дифференциальной диагностике заболеваний верхних мочевыводящих путей. Исследуемая группа представлена 97 пациентами с поверхностными формами РМП.

Изучение ультраструктуры фокуса опухоли и перифокальных зон при поверхностных формах РМП выполнено у 120 пациентов.

Результаты

На основании оценки состояния микроциркуляции слизистой оболочки в неизменном МП у 25 пациентов получены параметры нормальной микроциркуляции, с которыми в последующем производилось сравнение результатов исследования микроциркуляции стенки МП у больных с поверхностными формами рака (табл. 1).

Полученные данные указывают на достаточно высокие показатели микроциркуляции в области шейки МП и в зоне треугольника Лъето, что подтверждается анатомическими особенностями кровообращения МП.

Показатели микроциркуляции в различных зонах МП у пациентов с поверхностными формами рака (97 пациентов) значительно отличались от контрольной группы (табл. 2).

В исследуемой группе выявлено значительное снижение параметров микроциркуляции как в опухолевой ткани, так и в зоне основания опухоли МП. Мы объяснили этот эффект перераспределением кровотока по магистральному типу с развитием крупных сосудов, врастающих в опухоль и питающих ее и, как следствие, низким уровнем перфузии крови в капиллярном звене микроциркуляторного русла опухоли.

При этом амплитудно-частотный спектр (АЧС) характеризуется спазмом артериол и дилатацией веноулярного аппарата, что соответствует спастико-атоническому типу нарушения микроциркуляции.

По мере удаления от визуального очага поражения МП прослеживается постепенное увеличение показателей микроциркуляции до субнормальных значений. Для АЧС в этой зоне характерно развитие нарушения микроциркуляции по спастическому типу.

С помощью оптической когерентной томографии в фокусе опухоли мы получили ОКТ-изо-

Таблица 1. Показатели микроциркуляции стенки МП в норме

Анатомическая зона	Показатель микроциркуляции	Среднее квадратичное отклонение	Коэффициент вариации
Задняя стенка МП	21,8±0,7	2,02±0,8	9,28±3,8
Левая стенка МП	20,1±0,6	2,60±0,4	14,2±3,4
Правая стенка МП	20,9±0,7	3,66±0,6	17,5±3,7
Верхушка МП	19,2±0,9	3,34±0,8	17,4±4,2
Зона треугольника Лъето	25,7±2,5	3,98±0,5	15,5±2,0
Шеечная область МП	28,3±1,2	4,7±0,7	16,9±1,9

Таблица 2. Показатели микроциркуляции в фокусе опухоли МП и в перифокальной зоне

Анатомическая зона	Показатель микроциркуляции	Среднее квадратичное отклонение	Коэффициент вариации
Опухоль	9,99±1,1	0,76±0,2	7,60±1,8
Основание опухоли	4,6±0,7	0,85±0,7	18,47±0,5
Уретелий в 1 см	12,8±0,7	1,4±0,8	10,93±1,8
Уретелий в 2 см	19,2±0,9	3,34±0,8	17,4±4,2

бражения, на которых стенка МП бесструктурна и однородна. Граница между уротелием и подслизистыми структурами не определяется (рис. 2).

В перифокальных зонах (до 2 см) при визуальном нормальной слизистой в 8% случаев ОКТ-изображения соответствуют дисплазии эпителия. При этом структура стенки МП характеризуется нарушением организации слоев, нечеткой, неконтрастной границей между уротелием и подслизистым слоем (рис. 3).

Отмечаемые изменения ультраструктуры стенки МП в перифокальных зонах, соответствующие паранеопластическим процессам (гиперплазия, метаплазия, дисплазия эпителия), зависели от степени злокачественности опухоли. При G₁ эти процессы выявлялись крайне редко и локализовались в непосредственной близости к фокусу опухоли (видимая граница). При G₂ зона изменений значительно расширялась (до 10—12 мм). При G₃ изменения выявлялись на значительном расстоянии от опухоли (до 25 мм).

Анализ биопсийного материала, взятого в 1 см от фокуса опухоли, показал наличие атипичных клеток в 11%, в 2 см подобные изменения выявлены в 4% случаев.

Обсуждение

Проведенные исследования показали, что в перифокальных по отношению к опухоли зонах стенки

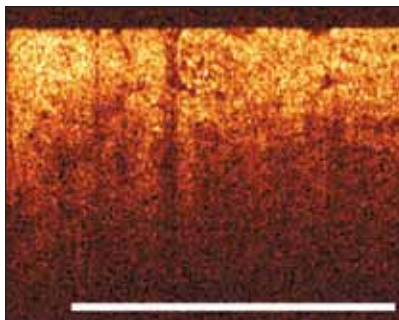


Рис. 2. ОКТ-изображение РМП: стенка бесструктурна, однородна, граница между уротелием и подслизистыми структурами не определяется

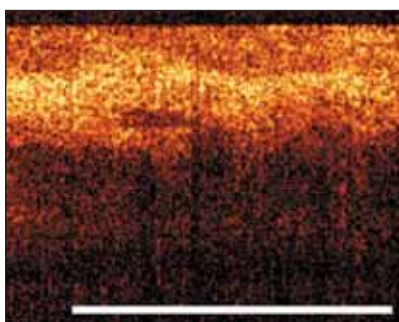


Рис. 3. ОКТ-изображение дисплазии тяжелой степени: неравномерная толщина уротелиального слоя, нарушение организации слоев, нечеткая граница между первым и вторым слоями

МП имеются изменения, которые затрагивают не только эпителиальный слой, но и подслизистую структуру с ее микроциркуляторным руслом. Характер этих изменений напрямую зависит от степени дифференцировки опухоли, стадии процесса и расстояния от визуально определяемого фокуса опухоли.

Так, полученные результаты исследований свидетельствуют о том, что ультраструктурные изменения стенки МП, определяемые методом ОКТ, выявлены на расстоянии до 2 см от фокуса опухоли. При этом нарушения микроциркуляции в этой зоне соответствуют спастико-атоническому типу. По мере удаления от фокуса опухоли прослеживается постепенное увеличение показателей микроциркуляции до субнормальных значений, что согласуется с данными ОКТ-исследований.

Выводы

1. Исследование параметров микроциркуляции и ультраструктуры стенки МП при поверхностных формах рака методом ЛДФ и ОКТ свидетельствует о патологических процессах,

в которые вовлечены как эпителий, так и подслизистые структуры с их микроциркуляторным руслом.

2. Комплементарное использование методик ЛДФ и ОКТ позволяет уточнить тип и распространенность патологического процесса в стенке МП при поверхностных формах рака и выбрать оптимальный метод коррекции.

Литература

1. Матвеев Б.П., Фигурин К.М., Карякин О.Б. Рак мочевого пузыря. М.: Вердана, 2001.
 2. Шварцбург П.М. Хроническое воспаление повышает риск развития эпителиальных новообразований, индуцируя предраковое микроокружение: анализ механизмов дисрегуляции. *Вопр онкол* 2006;52(2):137—44.
 3. Ceradini D.J., Kulkarni H., Callaghan M.J. et al. Progenitor cell/trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF. *Nat Med* 2004;10:858—64.
 4. Чернух А.М., Александров П.Н., Алексеев О.В. Микроциркуляция. М., 1984.
 5. Huang D., Swanson E.A., Lin C.P. et al.

Optical Coherence Tomography. *Science* 1991;254:1178—81.
 6. Загайнова Е.В., Стрельцова О.С., Гладкова Н.Д. и др. Оптическая когерентная томография в урологии. Руководство по оптической когерентной томографии. Под ред. Н.Д. Гладковой, Н.М. Шаховой, А.М. Сергеева. М.: Физматлит и Медицинская книга, 2007.
 7. Стрельцова О.С. Повышение радикальности органосохраняющих операций при раке мочевого пузыря. Дис. ... канд. мед. наук. М., 2004.
 8. Manyak M.J., Gladkova N., Makari J.H. et al. Evaluation of superficial bladder transitional cell carcinoma by optical coher-

ence tomography. *J Endourol* 2005;19(5):570—4.
 9. Bonner R.F., Nossal R. Modal for laser doppler measurments of blood flow in tissue microcirculation. *Appl Optics* 1981;20:2097—107.
 10. Козлов В.И., Сидоров В.В. Лазерный анализатор капиллярного кровотока ЛАКК-01. В кн.: Применение лазерной доплеровской флоуметрии в медицинской практике. Второй всероссийский симпозиум. М., 1998. с. 5—8.
 11. Colantuoni A., Bertugea S., Intaglietta M. Microvascular vasomation: origin of laser doppler flux motion. *Int Microcirc Clin Exp* 1994;14(3):151—8.