

*Доросевич А.Е.<sup>1,2</sup>, Абросимов С.Ю.<sup>1</sup>, Бехтерева И.А.<sup>3</sup>, Судиловская В.В.<sup>4</sup>*

## **Сравнительный анализ корреляционных взаимосвязей вегетативного нервного и сосудистого компонентов коммуникационных систем при предраке и раке молочной железы и шейки матки**

1 - кафедра патологической анатомии ГБОУ ВПО Смоленская государственная медицинская академия Минздрава РФ; 2 - Смоленский областной институт патологии; 3 - патологоанатомическое отделение клинической молекулярной морфологии ГБОУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова г. Санкт-Петербург; 4 - ФБГУ «Национальный медико-хирургический центр (НМХЦ) им. Н.И. Пирогова», г. Москва

*Dorosevich A.E., Abrosimov S.U., Bekhtereva I.A., Sudilovskaya V.V.*

## **The comparative analysis of correlative interrelations of vegetative nervous and vascular components of communicative systems in case of precancer and cancer of mammary gland and cervical carcinoma**

### **Резюме**

Представлены результаты сравнительного анализа корреляционных взаимосвязей вегетативного нервного и сосудистого компонентов коммуникационных систем при предраке и раке молочной железы и шейки матки. Показано, что прослеживается наличие явных закономерностей в количественных показателях корреляционных взаимодействий клеточного микроокружения - одной из частей коммуникационных систем в молочной железе и шейке матки при дисплазиях и раке.  
**Ключевые слова:** вегетативные нервы и сосуды, предрак и рак молочной железы и шейки матки

### **Summary**

The results of comparative analysis of correlative interrelations of vegetative nervous and vascular components of communicative systems in case of precancer and breast cancer and cervical carcinoma are shown in the article. The obvious regularities in quantitative indicators of correlative interrelations of cellular microenvironment – as one of the component of communicative systems in breast and in uterine cervix in case of dysplasia and cancer are seen.

**Keywords:** vegetative nervous and vessels, precancer and cancer of breast and cervical carcinoma

### **Введение**

Научные изыскания в любой области знаний предусматривают поиск и последующий поэтапный анализ существования закономерностей в развитии наблюдаемых процессов. Такой анализ и его правильная оценка возможны только при доказанном наличии стереотипных проявлений деятельности биологической системы в различных условиях ее существования.

На протяжении ряда лет нами разрабатывалась гипотеза о существовании местных саморегулирующихся на молекулярном, тканевом и клеточном уровнях биологических систем (подсистем), работающих на уровне гистона, определяющих возможные варианты течения и типовые проявления их деятельности. Такие системы были названы «коммуникационными». Коммуникационные системы определялись как «открытые системы, состоящие из совокупности структурно-функциональных

единиц: сосуды микроциркуляторного русла, нервные терминалы, непосредственное клеточное окружение указанных структур, находящихся в гистофизиологических взаимоотношениях, обеспечивающих структурные основы гомеостаза [1,2].

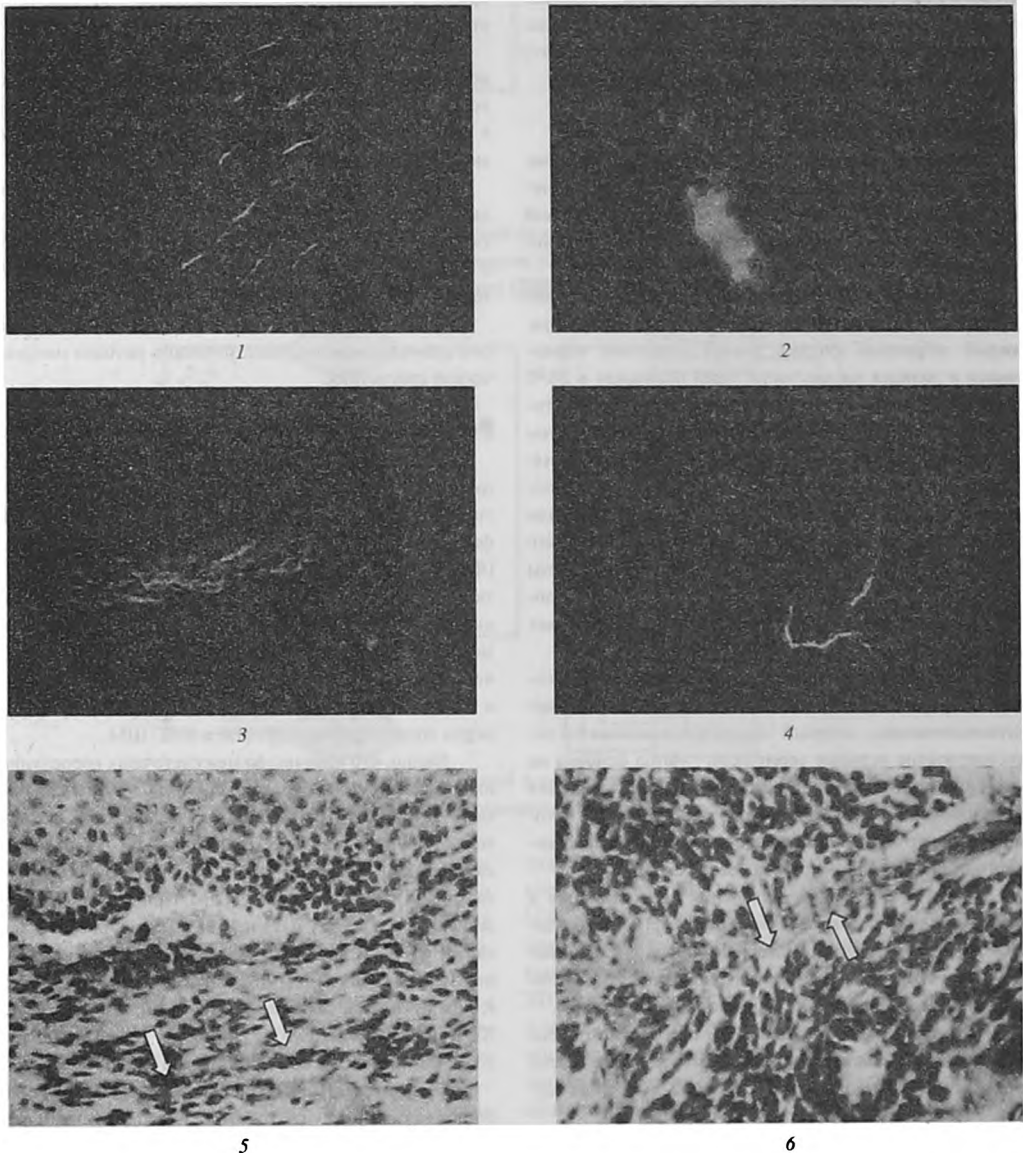
Первоначально, работавшие в этом направлении патоморфологи, при визуальном анализе микроскопических данных и последующих обсуждениях отметили целый ряд особенностей гистоархитектоники вегетативных нервных терминалов (ВНТ) и сосудов микроциркуляторного русла (МЦР) при предопухолевых и опухолевых процессах в виде появления относительно нормы отличительных признаков [1,2]. Это были, особенно при раках, появляющиеся признаки хаотичности и фрагментации (Рис. 1), зон «излиятия» медиатора (Рис. 2), «изломанности» вегетативных нервных волокон (Рис.3), неравномерности распределения медиатора (Рис. 4), варикозных

утолщений (Рис.5), а так же эффект, напоминающий «пустые» миелиновые оболочки (Рис. 6).

В связи с указанными наблюдениями возник интерес по выявлению возможных количественных и качественных изменений в клеточной составляющей стромы, располагающейся в непосредственной близости от элементов коммуникационных систем – вегетативных

нервных терминалей и сосудов микроциркуляторного русла. Поэтому был проведен целый ряд морфометрических исследований, результаты которых обрабатывались статистически с позиций «доказательной» медицины и морфологии.

В данной работе мы попытались объединить некоторые результаты сравнительного анализа корреляцион-



**Рис.1- 6. Патоморфология нервных терминалей в опухолях.**

1. Хаотичность и фрагментация адренергических нервных терминалей в тканях рака молочной железы (РМЖ). Метод Фалька x 360.
2. Зона «излития» медиатора адренергических нервных терминалей в тканях РМЖ. Метод Фалька x 180.
- 3.«Изломанность» нервных волокон в составе адренергического нервного ствола в тканях РМЖ. Метод Фалька x 360.
4. Неравномерность распределения медиатора в адренергических нервных терминалях в тканях РМЖ. Метод Фалька x 360.
5. Холанергические нервные терминали с варикозными утолщениями в тканях рака шейки матки (РШМ). Метод Karnovsky - Roots x 400.
6. «Пустые» миелиновые оболочки в тканях рака шейки матки (РШМ). Метод Karnovsky - Roots x 400.

ных взаимосвязей вегетативного нервного и сосудистого компонентов коммуникационных систем при предраке и раке молочной железы и шейки матки по материалам ряда независимых (выполненных разными исследователями) научных работ с целью выявления схожести, а значит, существования закономерностей в вариациях клеточных взаимоотношений (корреляционных связях) при разных патологических процессах (дисплазии и раки) в разных органах (молочная железа и шейка матки). Первоначальный интерес для сравнения представлял и тот факт, что указанные органы являются гормонально зависимыми.

## Материалы и методы

Во всех проведенных исследованиях использовались одинаковые принципы забора и обработки материала, а так же методы морфометрии и статистической обработки, что позволило провести адекватный сравнительный анализ.

Операционный, биопсийный и трупный материал подвергался обработке в первые часы после его забора. Каждый забранный кусочек тканей тщательно маркировался и делился на две части: один помещали в 10 % - нейтральный формалин и подвергали стандартной гистологической проводке с последующим изготовлением парафиновых блоков. Вторую часть полученного материала помещали в специальный контейнер для криообработки биологического материала [3] и замораживали в парах жидкого азота при температуре - 20 С. Из него готовили параллельные серийные криостатные срезы толщиной 10 мкм и 7 мкм (в зависимости от гистологической окраски) и исследовали с помощью следующих методов:

1. Karnovsky - Roots [4] для выявления холинергических нервных терминалей (ХНТ). Использовали ацетилтихохолинниодид, который опосредованно выявлял холинсодержащие нервные терминали. Метод основан на выявлении ацетилхолинэстеразы путем восстановления тиохолинниодидом феррицианида до ферроцианида, который реагирует с ионами меди с образованием нерастворимого ферроцианида меди (пигмента Хэтчетта).

2. Falk et al [5,6] для выявления катехоламинов в адренергических нервных терминалях (АНТ) использовался параформальдегид. Материал проводили на аппарате для ускоренной обработки биологического материала по методу Falk [7] в модификации Крохиной [8].

3. Импрегнации азотнокислым серебром по Гросс - Бильшовскому для выявления чувствительного звена вегетативной нервной дуги и вегетативных нервных терминалей без учета их медиаторного состава.

Кроме того, криостатные срезы окрашивали гематоксилином и эозином для обзорной микроскопии и микроморфометрирования.

Для идентификации и детализации сосудисто-стромального и паренхиматозного компонентов из парафиновых блоков готовились серийные срезы, которые окрашивали пикрофуксином по ван Гизону, Габу – Дыбану и Вейгерту.

Обзорная и спектральная оценка гистологических

срезов производилась на микроскопах типа "Биолам" и "Люмам - ИЗ". Для идентификации спектра люминесценции катехоламинов в адренергических нервных структурах использовали интерференционный светофильтр (фотонасадка - ФМЭЛ -1) - N 6 с длиной волны 480 нм. В качестве светофильтров возбуждения использовались светофильтры ФС -1-2 и СЗС- 24-4, отсекающие инфракрасную область спектра, запирающий светофильтр - со стеклами ЖС - 18 и ЖЗС - 19.

Морфологическую идентификацию структур тканей осуществляли с помощью фазово-контрастного устройства типа КФ - 4 при сравнении исходных срезов с параллельными им срезами, окрашенными гематоксилином и эозином.

Количественный морфометрический анализ проводили во всех наблюдениях с применением метода подсчета абсолютных значений клеточных элементов стромы в непосредственной близости от вегетативных нервных терминалей и сосудов микроциркуляции.

Весь полученный цифровой материал обрабатывался с применением непараметрических методов математической статистики.

## Результаты и обсуждение

Сравнительный количественный анализ корреляционных связей между клеточным микроокружением: гистиоцитами (Гц), плазматическими клетками (Пл), фиброцитами (Фц), лимфоцитами (Лф), фибробластами (Фб) в тканях дисплазий молочной железы (ДП МЖ) и тканях контрлатеральной от опухоли стороне шейки матки (КЛС ШМ), в которой практически всегда встречались морфологические признаки дисплазии, показал общие черты распределений данных связей как вокруг АНТ, так и ХНТ. Рисунок 7 иллюстрирует особенности распределения корреляций при ДП МЖ и КЛС ШМ.

Видно, что количество межклеточных корреляционных связей в зависимости от АНТ и ХНТ в тканях ДП МЖ меньше, чем в КЛС МЖ, но они распределены относительно пропорционально. Так, около АНТ наблюдается 2 связи при ДП МЖ и 8 – при КЛС ШМ, а около ХНТ – 4 связи в ДП МЖ и 7 – в КЛС ШМ. При этом общие доли зависимостей между АНТ и ХНТ сбалансированы. Всего связей АНТ -10, а ХНТ -11. Кроме того, имеются корреляции между одноименными клетками вокруг АНТ и ХНТ. К ним относятся связи между Гц и Фц, Фц и Фб АНТ и ХНТ ДП МЖ и КЛС ШМ; Гц и Лф, Пл и Фц, Фц и Лф ХНТ; Гц и Пл, Пл и Фц, Фц и Лф АНТ и ХНТ.

Сравнительный количественный анализ корреляционных связей между клеточным микроокружением в тканях рака молочной железы (РМЖ) и тканях рака шейки матки (РШМ) иллюстрирует рисунок 8. В сравнении с рисунком 7 количество межклеточных корреляционных зависимостей вокруг АНТ и ХНТ в тканях РМЖ и РШМ диспропорционально. Имеется явная тенденция к обеднению данных связей вокруг АНТ. Их всего 8 в отличие от ХНТ, где связей – 13. Правда, при сравнении с ДП МЖ связей по АНТ стало 4 (было 2), а по сравнению с ХНТ – их стало 13. Имеются корреляции между одноименны-

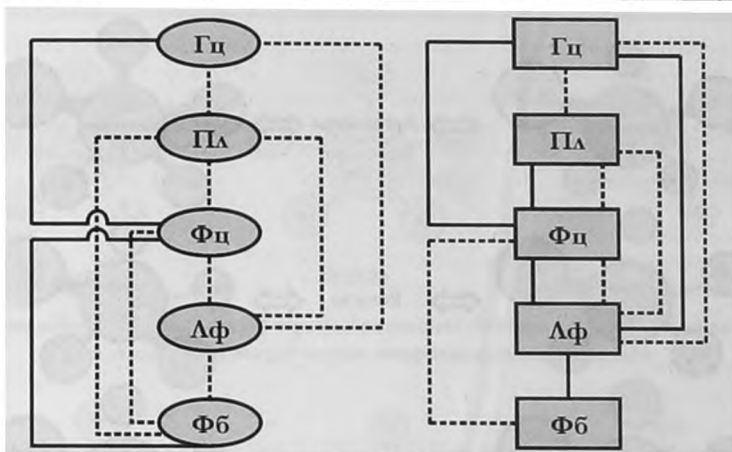


Рис.7 Сравнительные схемы корреляционных связей при дисплазии молочной железы (сплошная линия) и в контрлатеральной стороне от опухоли шейки матки (пунктирная линия) вокруг адренергических (●) и холинергических (■) терминалей.

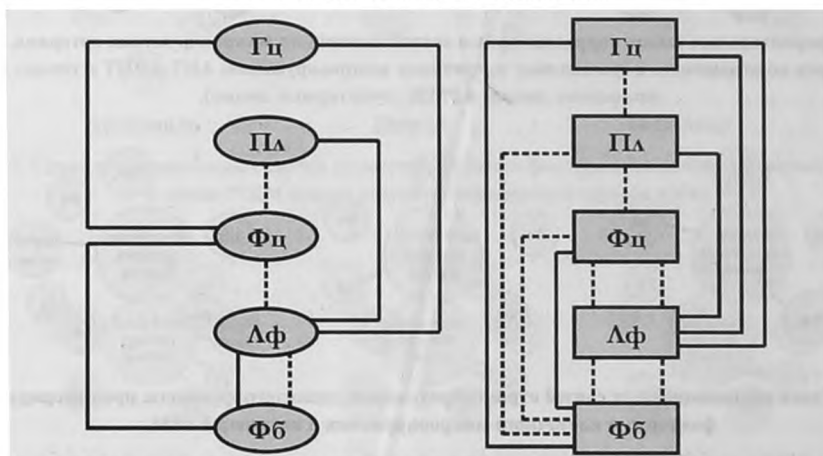


Рис.8 Сравнительные схемы корреляционных связей в тканях рака молочной железы (сплошная линия) и рака шейки матки (пунктирная линия) вокруг адренергических (●) и холинергических (■) терминалей

ми клетками вокруг АНТ и ХНТ. К ним относятся связи между Фц и Фб, Лф и Фб, Фц и Лф, Фц и Пл, Пл и Лф, Гц и Лф РМЖ и РШМ; Внутри группы АНТ одноименных связей нет, а ХНТ – имеются общие корреляции Фц и Фб, Фц и Лф, Лф и Фб, Пл и Лф.

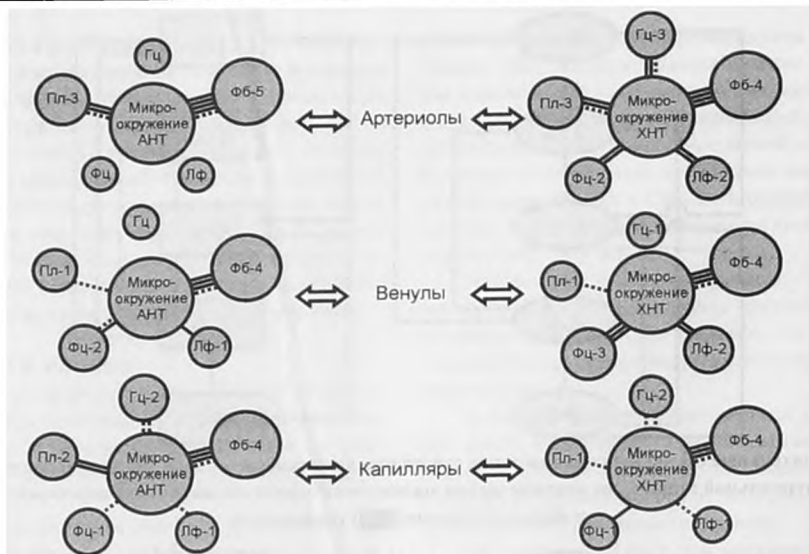
Сравнение схем корреляционных зависимостей клеток вегетативного микроокружения АНТ и ХНТ показывает выраженное по сравнению с дисплазиями увеличение количества зависимостей вокруг ХНТ.

Проведен сравнительный анализ на наличие корреляционных зависимостей микроокружения АНТ и ХНТ при ДП МЖ и РМЖ к рассмотренным выше клеткам, расположенным в непосредственной близости от сосудов микроциркуляторного русла (артериолам, венулам и капиллярам), которые также по определению мы считаем элементами коммуникационных систем. Результаты представлены на рисунке 9.

Анализ схем, представленных на Рис. 9, показывает, что при РМЖ, как и в вышеописанных схемах, резко

падает показатель количества корреляций между клетками как около АНТ, так и ХНТ. Всего их 19. При ДП МЖ общее их количество 40. Это может указывать на закономерность данного проявления. Причем наибольшая разобщенность в клеточных взаимодействиях при ДП характерна для артериол, а при РМЖ – для артериол и венул. Кроме того, заметны диспропорции между взаимосвязями клеток, являющихся по функциональному признаку строомообразующими - Фб, Фц, контролирующими повреждение, регенерацию (пролиферацию и дифференцировку) - Пл, Гц, Лф, гранулоциты (Гр), которые должны активно участвовать в процессах воспроизводства паренхимы (Пар).

Проведен анализ корреляционных связей в тканях РШМ в двух зонах – КЛС и в зоне опухоли. В начале были изучены корреляционные взаимодействия в интактной ШМ, в которой с помощью факторного анализа выделили три основных фактора, которые обеспечивают регуляцию паренхиматозно-стромальных взаимоотно-



**Рис. 9.** Сравнительные схемы корреляционных связей клеточного микроокружения артериол, венул и капилляров по отношению к суммарному клеточному микроокружению АНТ и ХНТ в тканях ДП МЖ (сплошные линии) и РМЖ (пунктирные линии).



**Рис. 10.** Схема корреляционных связей стромообразующего, дезинтегрирующего, пролиферирующего факторов и клеточного микроокружения в интактной ШМ.

шений в интактной ШМ. Вышесказанное подтверждает положение, что синхронизация взаимоотношений элементов паренхимы и стромы – взаимообусловленный процесс, где стромальному компоненту на стадии становления опухоли принадлежит ведущая роль [1,9]

Первый фактор был назван стромообразующим, т. к. основными клетками в системе корреляционных связей были установлены фибробласт и фиброцит, они являются основными элементами в процессе стромообразования (Рис. 10).

Второй основной фактор имеет корреляционные связи с гранулоцитарными лейкоцитами, которые одними из первых реагируют на клеточные повреждения и запускают механизм клеточной дезинтеграции. Следовательно, данный фактор можно условно назвать дезинтегрирующим (Рис.10).

Третий основной фактор в данной ситуации имеет устойчивые корреляции с паренхимой органа. Как известно, паренхиматозные клетки (в нашей ситуации это многослойный плоский эпителий) начинают активно реагировать на любое повреждение путем пролиферации и созревания резервных клеток. Таким образом, они запу-

скают механизмы регенерации. Учитывая данный факт, нам представляется возможным назвать третий фактор пролиферирующим (Рис. 10).

Выделение этих трех основных факторов в интактной шейке матки помогло нам в дальнейшем в проведении корреляционного анализа при различной патологии ШМ, а именно при дисплазии и раке шейки матки. Как известно, прогрессия папилломавирусных поражений шейки матки приводит к дисплазии эпителия, а в дальнейшем и плоскоклеточному РШМ. Патогенетические механизмы, определяющие возможные морфогенетические потенции патологического процесса, можно раскрыть путем изучения межклеточных взаимодействий, поддерживающих структуру и функцию любой ткани, включая и опухолевую, так как известно, что изменения эпителиального и стромального компонентов происходят синхронно.

При сравнении этих двух зон (контрлатеральной зоны от РШМ и зоны опухоли) выяснилось, что вокруг различных звеньев МЦР происходит смена клеточных популяций, которые коррелируют со стромообразующим, дезинтегрирующим и пролиферирующим факторами (Рис. 11, 12, 13).



Рис. 11. Схема корреляционных связей стромообразующего фактора и клеточного микроокружения в ткани РШМ вокруг сосудов микроциркуляторного русла.



Рис. 12. Схема корреляционных связей дезинтегрирующего фактора и клеточного микроокружения в ткани РШМ вокруг сосудов микроциркуляторного русла.



Рис. 13. Схема корреляционных связей пролиферирующего фактора и клеточного микроокружения в ткани РШМ вокруг сосудов микроциркуляторного русла.

Наиболее стабильными вокруг артериол были корреляции между первым фактором (стромообразующим) и Фц, Фб и Гц, данная зависимость сохранялась в обеих зонах (Рис.11).

Вторым по стабильности был второй фактор (дезинтегрирующий), который сохранил зависимость от Лф и Пл, однако в зоне РШМ данный фактор стал зависим от Гр (Рис.12).

Самым нестабильным оказался третий фактор (пролиферирующий), который кардинально поменял корреляционную зависимость от клеточных популяций (Рис. 13). Если в контралатеральной зоне от РШМ третий фактор зависел от Гц, Гр и паренхимы, то в зоне опухоли данный фактор зависел от популяции ЛФ и паренхимы.

Стабильность паренхимы легко объяснима. Если была бы утеряна данная корреляция, то ни о каком опухолевом росте, возможно, не могла бы идти речь, так как пролиферация и следующая за ней клеточная атипия эпи-

телия является основным признаком прогрессии злокачественного процесса.

## Выводы

1. Сравнительный анализ особенностей корреляционных взаимосвязей клеточных популяций вокруг вегетативного нервного и сосудистого компонентов коммуникационных систем при различных локализациях (молочная железа и шейка матки) позволяет выявлять общие типовые закономерности течения биологических процессов в норме и патологии.

2. При раке молочной железы и раке шейки матки происходит диспропорциональное, по сравнению с дисплазиями обеих локализаций, увеличение количества корреляций между рассматриваемыми клеточными популяциями, расположенными в непосредственной близости с холинергическими терминалами, что так же подтверждает существование типовых закономерностей в морфогенезе предрака и рака указанных органов.

3. Выявленные особенности корреляционных взаимодействий в интактной шейке матки показывают паренхиматозно-стромальные взаимоотношения, которые позволяют выделить стромаобразующий, дезинтегрирующий и пролиферирующий фактор. Данные факторы играют ведущую роль в морфогенезе рака шейки матки. ■

*Доросевич А.Е. , д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии ГБОУ ВПО Смоленская государственная медицинская академия Минздрава РФ, директор Смоленского областного института патологии, г. Смоленск; Абросимов С.Ю. , д.м.н.,*

*профессор кафедры патологической анатомии ГБОУ ВПО Смоленская государственная медицинская академия Минздрава РФ, г. Смоленск; Бехтерева И.А. , к.м.н., врач-патологоанатом патологоанатомического отделения клинической молекулярной морфологии ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова», г. Санкт-Петербург; Судилова В.В. , к.м.н., врач-патологоанатом ФБГУ «Национальный медико-хирургический центр (НМХЦ) им. Н.И. Пирогова», г. Москва; Автор, ответственный за переписку - Доросевич Александр Евдокимович, 214018, Смоленская область, г. Смоленск, проспект Гагарина, д. 27, oguzsoip@yandex.ru, Телефон: +74812554124+74812556269*

## Литература:

1. Доросевич А.Е., Абросимов С.Ю., Голубков М.А. Вегетативные нервные терминалы и их клеточное микроокружение – одно из интегрирующих звеньев стромального компонента при дисплазиях и раке молочной железы // Архив патологии.- 1994.- Т.56.- иб.- С.49-53.
2. Доросевич А.Е. Коммуникационные системы и опухолевый рост: Актовая речь. - Смоленск: Универсум, 2007.- 44 с.
3. Абросимов С.Ю. Камера для криообработки биологического материала // Открытия. Изобретения.- 1992.- и 42. - С.77. Патент и 1775584.
4. Karnovsky M.J., Roots L. A «direct coloring»thiocholine method for choline esterase.// J. Histochem. Cytochem. - 1964.- V.12.- N2.- P.219-221.
5. Falck B. Observations on the possibilities of the cellular location of monoamines by fluorescence method. // Acta physiologica scandinavica.- 1962.- N56.- Suppl. 197.- P.6-25.
6. Falck B, Hillarp N, Thime S., Torp A. Fluorescence of catecholamines and related compounds of condensed with formaldehyde // J. Histochem. Cytochem. - 1962.- V10.- N3.- P348-354.
7. Абросимов С.Ю., Доросевич А.Е. Обработка биологического материала методом Фалька и его модификаций с помощью устройств оригинальной конструкции. // БЭЕМ. - 1993.- T116.- и 12.- С.633-636.
8. Крохина Е.М. Функциональная морфология и гистохимия вегетативной иннервации сердца.- М.: Медицина, 1973. - 231 с.
9. Hanahan D., Weinberg R.A. Halmarks of cancer: Next Generation // Cell.- 2011.- Vol. 144, N4.- P. 646-674.