

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНО–ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
КЛИНИЧЕСКОЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЛИМФОЛОГИИ»

На правах рукописи

Волкова Мария Сергеевна

**ЛИМФАТИЧЕСКИЙ РЕГИОН МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В НОРМЕ, ПРИ
ИНДУЦИРОВАННОЙ ОПУХОЛИ, ХИМИОТЕРАПИИ И
ФИТОКОРРЕКЦИИ**

(анатомо–экспериментальное исследование)

14.03.01 – анатомия человека

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Диссертация на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук,

профессор В. В. Асташов;

доктор медицинских наук,

профессор П. М. Ларионов

Новосибирск – 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	10
1.1 Состояние лимфатических узлов при злокачественном опухолевом росте.....	10
1.2 Молочная железа в норме и при опухолевом процессе.....	15
1.3 Воздействие химиотерапевтических препаратов на опухолевый рост в молочной железе.....	19
1.4 Фитотерапия при злокачественных опухолях различной локализации	22
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	27
2.1 Объект исследования.....	27
2.2 Инициация экспериментальной опухоли молочной железы.....	28
2.3 Методы неoadъювантной полихимиотерапии, фитокоррекции и фитопрофилактики, используемые в эксперименте.....	31
2.4 Методы морфофункциональных исследований.....	33
2.4.1 Морфологические исследования.....	33
2.4.2 Исследование кровотока в молочной железе и опухоли молочной железы у экспериментальных животных.....	35
2.4.3 Иммуногистохимическое исследование кровеносных и лимфатических сосудов молочной железы и опухоли молочной железы.....	36
ГЛАВА 3 МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКСИЛЛЯРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ И МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС В НОРМЕ.....	38
3.1 Кровеносные и лимфатические сосуды молочной железы у интактных крыс-самок.....	38
3.2 Аксилярный лимфатический узел.....	39
3.3 Исследование кровотока в молочной железе интактных крыс-самок.....	41
ГЛАВА 4 МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКСИЛЛЯРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ	

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ.....	43
4.1 Опухоль молочной железы.....	43
4.2 Аксиллярный лимфатический узел.....	46
4.3 Исследование кровотока.....	49
ГЛАВА 5 МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКСИЛЛЯРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В УСЛОВИЯХ ХИМИОТЕРАПИИ.....	55
5.1 Опухоль молочной железы.....	55
5.2 Аксиллярный лимфатический узел.....	55
5.3 Исследование кровотока.....	59
ГЛАВА 6 МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКСИЛЛЯРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА ФОНЕ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ И ФИТОКОРРЕКЦИИ....	62
6.1 Опухоль молочной железы.....	62
6.2 Аксиллярный лимфатический узел.....	62
6.3 Исследование кровотока.....	65
ГЛАВА 7 МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКСИЛЛЯРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ ПРИМЕНЕНИИ ФИТОКОМПЛЕКСА В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ.....	71
7.1 Опухоль молочной железы.....	71
7.2 Аксиллярный лимфатический узел.....	73
7.3 Исследование кровотока.....	76
ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	78
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	103
ВЫВОДЫ.....	105
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	107

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	109
СПИСОК ІЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРІАЛУ.....	137

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

При исследовании механизмов биологических эффектов на организм неблагоприятных факторов окружающей среды существенная роль отводится лимфатической системе [158]. Известно, что изменения морфологии и функционирования лимфатических узлов отражает влияние окружающей среды на лимфатическую систему [21; 132; 23]. Морфофункциональное состояние «сторожевых» аксиллярных лимфатических узлов 1-го порядка при онкологической патологии, в том числе и при раке молочной железы (РМЖ), до настоящего времени, является прогностическим критерием [173; 221; 258; 220]. Состояние лимфатической системы, а именно изменения структуры и транспортной функции аксиллярных лимфоузлов 1-го порядка, а также изменения в кровеносном и лимфатическом русле молочных желез (МЖ) при РМЖ, в том числе и при РМЖ, индуцированном канцерогенами, в доступной литературе не исследовано.

Заболеваемость РМЖ среди женщин составляет до 11 % среди всей онкологической патологии у женщин, так РМЖ выявляется у 1,4 миллионов женщин ежегодно [215]. В 2012 году у 56154 больных в Российской Федерации впервые верифицирован РМЖ [67]. На долю смертности от РМЖ в Российской Федерации в 2011 году среди женщин пришлось 17,3 % от всех злокачественных новообразований [185].

Частота возникновения метастазов у больных, получавших комплексную или комбинированную терапию по поводу РМЖ в 70,6 % случаев, у 50 % выявляются отдаленные метастазы [6]. Структурные и функциональные нарушения в близлежащих к основному очагу опухоли лимфатических узлах предшествуют диссеминации опухолевых клеток [152; 159; 188]. Состояние «сторожевых» аксиллярных лимфатических узлов 1-го порядка при РМЖ в настоящее время и определяет прогноз заболевания [175; 225; 250; 201]. Более того, показано усиление лимфангиогенеза при РМЖ [41].

Предотвращение развития и лечение, проявившихся побочных, в том числе и токсических эффектов противоопухолевых препаратов – актуальная проблема химиотерапии онкологической патологии, в том числе и при РМЖ. Применение лекарственных веществ, в том числе и нетоксических антиканцерогенных фитосборов, в группах повышенного онкологического риска является перспективными направлениями в химиопрофилактике онкологической патологии [7]. На фоне приема фитоадаптогенов отмечено удлинение времени до развития спонтанных и индуцированных опухолей, снижение скорости роста и частоты возникновения опухолей, уровня метастазирования, увеличение безрецидивного периода в течение заболевания, продолжительности и качества жизни [37; 27; 48; 157; 265; 266].

Так, фитосбор из пищевых волокон и лекарственных трав, разработанный в Научно-исследовательском институте клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, обладает противоопухолевым и антифлагогенным эффектом. Изучение морфологии лимфатического региона МЖ на фоне проведения комбинированной неoadъювантной полихимиотерапии с фитокомплексом, как потенциального способа преодоления эндотоксикоза и побочных эффектов неoadъювантной полихимиотерапии при РМЖ является актуальной проблемой [160].

Цель исследования

Оценка структурной организации аксиллярных лимфатических узлов 1-го порядка, МЖ в норме и при экспериментальной опухоли молочной железы (ОМЖ), индуцированной N-метил-N-нитрозомочевинной (МНМ), у крыс-самок Wistar на фоне неoadъювантной полихимиотерапии, фитокоррекции и их комбинации.

Задачи исследования

1. Получить новые данные о структуре аксиллярных лимфатических узлов 1-го порядка, морфофункциональном состоянии кровеносных и лимфатических сосудов МЖ в норме.
2. Получить новые данные о структуре аксиллярных лимфатических узлов 1-го порядка при ОМЖ до и после неоадьювантной полихимиотерапии.
3. Изучить структуру аксиллярных лимфатических узлов 1-го порядка при ОМЖ при комбинации неоадьювантной полихимиотерапии с фитокоррекцией.
4. Исследовать структуру аксиллярных лимфатических узлов 1-го порядка при ОМЖ с фитокоррекцией.

Научная новизна исследования

Иммуногистохимическим исследованием операционного материала МЖ у интактных крыс-самок Wistar показано преобладание площади кровеносных сосудов над площадью лимфатических сосудов в норме. При ОМЖ у крыс-самок Wistar показано увеличение количества кровеносных и лимфатических сосудов по сравнению с нормой. Показано, что на фоне развития ОМЖ в аксиллярных лимфатических узлах 1-го порядка выявлены структурные изменения, свидетельствующие о нарушении транспорта лимфы и противоопухолевого иммунного ответа, активации микроциркуляции в тканях.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что неоадьювантная полихимиотерапия приводит к развитию нарушений в структуре лимфатических узлов, а именно подавление транспортной и лимфопоэтической функций, уменьшением количества опухолевых клеток в лимфатических узлах и деструкцией опухоли.

Впервые показано, что комбинация фитокомплекса и неоадьювантной полихимиотерапии при ОМЖ приводит к выраженной деструкции опухоли, по сравнению с группой без фитокоррекции, и сопровождается структурными преобразованиями в аксиллярных лимфатических узлах 1-го порядка, свидетельствующих о лимфокоррегирующем действии фитокомплекса, активации

клеточных эффекторов противоопухолевой резистентности, замедлении лимфотока и активации бласттрансформации и фагоцитоза.

Теоретическая и практическая значимость работы

Установлено, что некоторые особенности структуры аксиллярных лимфатических узлов при ОМЖ, морфофункциональной организации гемо- и лимфоциркуляторного русла в ОМЖ, по сравнению с нормой, на наш взгляд, могут позволить персонализировать лекарственные препараты для проведения курсов неoadъювантной полихимиотерапии, а также вспомогательных методов и средств, способствующих коррекции функционирования лимфатической системы.

Морфологические данные, полученные в результате работы, свидетельствуют об активации противоопухолевой резистентности аксиллярных лимфатических узлов 1-го порядка при ОМЖ на фоне сочетанного применения неoadъювантной полихимиотерапии и фитокомплекса, что отражает необходимость дальнейшего изучения и внедрения такой комбинации цитостатиков с фитосбором в практическое здравоохранение.

Показано, что применение фитокомплекса в профилактических целях, в течение длительного периода, при формировании ОМЖ, приводит к структурным изменениям в опухоли. Фитокомплекс обладает антиметастатической активностью, активизирует выраженность локального иммунного ответа, стимулирует процессы фагоцитоза в аксиллярных лимфатических узлах. Полученные в ходе исследования экспериментальные данные позволят рекомендовать комбинацию неoadъювантной полихимиотерапии с фитокомплексом при РМЖ, а также использовать фитокомплекс для профилактики неопластической трансформации при доброкачественных фиброзно-кистозных гиперплазиях МЖ.

Положения, выносимые на защиту

1. В норме площадь кровеносных сосудов преобладает над площадью лимфатических сосудов микроциркуляторного русла МЖ у крыс-самок Wistar.
2. Введение МНМ приводит к формированию злокачественной опухоли в МЖ, усилению локального кровотока и вызывает структурные преобразования в аксиллярных лимфатических узлах 1-го порядка, тем самым свидетельствует о подавлении транспортной и лимфопоэтической функций.
3. Неоадьювантная полихимиотерапия приводит к паракортикальной гиперплазии, угнетению транспортной функции, уменьшению площади В-зависимой зоны в аксиллярных лимфатических узлах 1-го порядка, а также к деструкции ОМЖ. Применение фитокомплекса на фоне неоадьювантной полихимиотерапии активизирует дренажно-детоксикационную функцию аксиллярных лимфатических узлов 1-го порядка.
4. Прием фитокомплекса у крыс-самок Wistar, с индуцированной ОМЖ приводит к структурным преобразованиям в аксиллярных лимфатических узлах 1-го порядка, что проявляется в замедлении лимфотока, увеличении Т-зависимой зоны, активации макрофагов и лимфопоэза, уменьшении количества атипичных клеток и сопровождается трансформацией структуры опухоли.

Апробация материалов диссертации

Основные результаты исследования доложены и обсуждены на VII международной конференции «Гемореология и микроциркуляция (от функциональных механизмов в клинику)» (Ярославль, 2009), на Международном симпозиуме «Современные проблемы лимфологии» (Алматы, 2009), на IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием: «Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов» (Новосибирск, 2009), на научно-практической конференции, посвященной 65-летию санатория «Барнаульский»: «Роль и место санаторно-курортных и реабилитационных учреждений в системе медицинских кластеров Алтайского края» (Барнаул, 2010), на Internationaler Medizinischer Kongress «Euromedica –

Hannover 2010» (Hannover, Germany, 2006), на Международной научно-практической конференция «Инновационные технологии репродуктивной медицины», (Новосибирск, 2010), на X Международной конференции «Фундаментальные проблемы лимфологии» (Новосибирск, 2011), на IV съезде лимфологов России (Москва, 2011), на VIII Международной конференции «Системное кровообращение, микроциркуляция и гемореология (от ангиогенеза до центрального кровообращения)» (Ярославль, 2011) и на заседании научного персонала лаборатории физиологии протективной системы Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН (Новосибирск).

Внедрение результатов исследования в практику

Полученные результаты внедрены в практику научно-исследовательской работы лаборатории ультраструктурных исследований Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии», учебный процесс кафедры фундаментальной медицины медицинского факультета Новосибирского государственного университета, в практику работы «Медико-диагностического центра Аструм».

Публикации

По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе 3 статьи в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов для публикаций основных научных результатов материалов диссертации.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 143 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описаний материалов и методов исследования, 5 глав собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов и списка

литературы. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 4 таблиц и 24 рисунков. Указатель литературы представлен 266 источниками, из которых 69 – зарубежных авторов.

Личный вклад автора

Весь материал, представленный в диссертации, собран, обработан, проанализирован и интерпретирован лично автором.

Автор выражает искреннюю благодарность научным руководителям доктору медицинских наук, профессору В. В. Асташеву и доктору медицинских наук, профессору П. М. Ларионову за научно-методическую помощь, ценные замечания и консультации в процессе выполнения исследований.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Состояние лимфатических узлов при злокачественном опухолевом росте

Гомеостаз внутренней среды в организме является основной ролью лимфатической системы [23]. В ходе развития неоплазии в близлежащих к основному очагу опухоли лимфатических узлах, помимо выполнения дренажно-детоксикационной функции, показано не только задержка метастазирования опухолевых клеток, но и их лизис [174; 175; 176; 177; 178]. Равновероятно лимфо- и гематогенное метастазирование опухолевых клеток из основного очага опухоли. В тоже время, показано преобладание лимфогенной диссеминации опухолевых клеток на ранних фазах неоплазии, что связано с особенностью анатомического строения и топографии лимфатических сосудов, а именно их близким расположением к эпителию, способностью бластных клеток легко образовывать «фенестры» между клетками эндотелия и отсутствием базальной мембраны в стенке лимфатического капилляра [195]. Ограничению метастазирования опухолевых клеток из основного очага неоплазии способствует наличие клапанов в лимфангионах лимфатических сосудов, а также особенностью потока лимфы в одном направлении. Особенностью тока лимфы в лимфатических капиллярах является движение ее в различном направлении, что связано с отсутствием клапанов [18]. Показано, что опухолевые клетки чаще адгезируют на клапанах лимфатических сосудов и их принято считать важнейшим «механическим барьером» на пути метастазирования опухолевых клеток на начальных этапах опухолевого роста. В дальнейшем увеличение количества адгезировавших к клапанам опухолевых клеток способствует нарушению тока лимфы, приводя к атрофии миоцитов мышечной манжетки и стенки его клапанного синуса. В комплексе все это ведет к снижению моторной функции лимфангиона, скоплению лимфы в близлежащих к опухоли лимфатических узлах, развитию лимфедемы и коллатерального лимфотока. Возрастание количества заблокированных путей

лимфооттока в свою очередь способствует структурным изменениям лимфатической системы, в частности в новообразовании лимфатических капилляров, что благоприятствует возникновению метастазов в лимфатических узлах [35; 105]. О роли коллатерального лимфообращения в диссеминации опухолевых клеток, как добавочного механизма лимфооттока и вместе с ней циркуляции опухолевых клеток, указывается в работе авторов [8].

Близлежащие к опухоли лимфатические узлы при неоплазии принимают основную антигенную нагрузку на себя [14; 40; 132]. Показано, что замедлением скорости лимфооттока, созданием благоприятных условий для фагоцитоза, накоплением лимфоцитов и максимальное их приближение к макрофагам (Мф) в лимфатических узлах близких к очагу роста опухоли выполняют барьерную, а также функцию задержки на пути метастазирования опухолевых клеток, элиминации микробов и продуктов распада клеток, препятствуют транспорту раковых клеток с током лимфы, задерживая их в регионарных и коллекторных лимфатических узлах [22].

При неоплазии в лимфатических узлах отмечены реактивные изменения, в первую очередь связанные с увеличением их объема [105; 174; 176; 211]. Авторы отмечают схожесть изменений строения в лимфатических узлах, а именно паракортикальную гиперплазию, фолликулярную реакцию, развитие синусного гистиоцитоза и появление светлых центров. Кроме этого, выявляются неспецифические стромально-сосудистые реакции, нарушения в кровеносном микроциркуляторном русле, нейтро- и эозинофилия, реакция тучных клеток, саркоидоподобные гранулемы в капсульно-трабекулярной основе и внеклеточном матриксе. Выявляемые изменения строения в лимфатических узлах взаимосвязаны со стадией неоплазии, наличием и объемом метастазов в лимфоидной ткани и практически не зависят от локализации опухоли, ее гистологического типа. В тоже время, было показано, что существующие изменения в лимфатических узлах имеют своеобразные морфологические варианты с учетом гистологического типа ОМЖ [46]. Выделяют следующие морфологические варианты: первый – характеризуется преобладанием

гистиоцитарно-макрофагальных реакций, клеточным иммунным ответом при неинвазивных формах РМЖ (дольковая карцинома и внутрипротоковый рак); второй – наблюдается при инвазии опухоли и увеличении степени злокачественности (в лимфатических узлах наблюдаются пролиферативно-гиперпластические изменения в В-зависимых областях, а также сосудистые и дистрофические изменения лимфатических узлов); третий – характерен для опухолей комбинированного строения, при сочетании долькового и протоковых форм рака, и в этом случае наблюдается лимфоидное истощение, атрофия, склероз и липоматоз лимфатических узлов [46]. При инициации неоплазии в близлежащих лимфатических узлах выявлена гиперплазия лимфоидной ткани и ретикулярных клеток [105; 166]. При неоплазии изменения затрагивают все структурно-функциональные подразделения лимфатического узла. Показана гиперплазия кортикального слоя, расширение его площади, появление лимфоидных фолликулов с активными светлыми центрами, резкая плазматизация мягкотных тяжей. Наличие в мозговой части узла фолликулов с функционально активными светлыми центрами считается признаком чрезвычайного раздражения лимфатического узла [29]. Характерной чертой на начальных этапах неоплазии, является реакция гистиоцитарных и плазмочитарных элементов, особенно выраженных в тимуснезависимых зонах, синусах лимфатического узла [19]. Паракортикальная зона лимфатического узла это прослойки между крупными гиперплазированными фолликулами, немногочисленными посткапиллярными венулами с уплощенным эндотелием. На терминальной стадии неоплазии отмечается угасание пролиферативных и гиперпластических процессов [164]. Нарастают явления атрофии лимфатического узла, замещение лимфоидной ткани соединительной, причем особенностью является очаговый характер фиброза, реже – диффузный.

Гиперплазия фолликулов в близлежащих лимфатических узлах при онкологической патологии является прогностическим критерием [174; 176]. Выделяют 4 типа фолликулярной реакции:

- фолликулы преимущественно В-клеточные;

- фолликулы преимущественно В-клеточные с высоким содержанием Т и NK-клеток;

- преимущественно Т-клеточный фолликул;

- нелимфоидноклеточный фолликул.

Показана взаимосвязь между выживаемостью больных с онкопатологией и типом фолликулярной реакции.

Например, низкая выживаемость характерна для больных с В-клеточной и нелимфоидноклеточной фолликулярной реакцией [105], что является результатом накопления плазматических клеток и выработки иммуноглобулинов, блокирующих антигенные детерминанты неопластических клеток, тем самым, способствуя опухолевому росту [70]. Нелимфоидноклеточные фолликулы также способствуют прогрессии новообразования, так как при лимфогенном метастазировании, элементы стромы лимфатического узла определяют консолидацию, питание и защиту злокачественных клеток [105; 216]. Выживаемость в течение пяти и более лет, и хороший прогноз течения заболевания, коррелируют с 2 и 3 типом фолликулярной реакции, что объясняется тем, что Т- и NK-клетки являются основными эффекторами противоопухолевой защиты, а Т-супрессоры, кроме того, могут тормозить продукцию иммуноглобулинов [107; 70].

В синусах близлежащих к опухоли лимфатических узлов также выделяют несколько типов иммуногистохимических изменений при неоплазии [174; 176].

Цитоархитектоника лимфатических узлов при неоплазии различной локализации также претерпевает значительные изменения, что описано во многих литературных источниках [105; 8; 28; 29; 256]. В паракортикальной зоне вокруг посткапиллярных венул определяются скопления лимфоцитов и макрофагов, в мягкотных тяжах наблюдается выраженная гиперплазия ретикулярных клеток, иммунобласты, лимфоциты на всех стадиях созревания, гистиоциты и макрофаги являются основой клеточного состава светлых центров, в корковом слое и мягкотных тяжах возрастает количество плазматических клеток, расположенных группами и полями.

Авторами показано, что в процессе опухолевой прогрессии в лимфатических узлах увеличивается как абсолютное, так и относительное содержания плазматических клеток, также увеличивается абсолютное количество иммунобластов. В тоже время, содержание малых лимфоцитов, как абсолютное, так и относительное снижается [14]. Кроме этого развитие опухоли неуклонно ведет к снижению абсолютного количества ретикулярных клеток, при сохранении их соотношения с другими клетками лимфатического узла. По мере прогрессии неоплазии отмечено опустошение лимфатического узла. Подобное увеличение количества клеточных форм и макрофагов является признаком усиления реактивных процессов в лимфатическом узле [40; 105].

Существует мнение, что лимфатические узлы, накапливая в процессе опухолевого роста в организме раковые клетки, концентрирующиеся сначала в краевых, реже в промежуточных синусах, сами в определенный момент становятся источником диссеминации неопластического процесса [60]. Этому способствуют анатомические особенности кровоснабжения лимфатического узла, а именно значительное преобладание площади сечения синусов над площадью сечения приносящих сосудов [8], что ведет к замедлению тока крови и способствует прикреплению раковых клеток в лимфатическом узле и образованию микрометастазов [105].

По данным литературы отмечены различные варианты метастазирования при ОМЖ [57; 252]. В большинстве исследований доказано, что основными факторами, влияющими на частоту и топографию метастазов в близлежащих лимфатических коллекторах, являются размеры первичной опухоли и ее локализация в МЖ [230]. Кроме лимфогенного метастазирования возможно гематогенное, смешанное и контактное метастазирование. Преимущественно лимфогенный путь показан во всех перечисленных исследованиях. Однако некоторые авторы предполагают, что частота метастазирования зависит от степени злокачественности и, особенно, длительности заболевания [46]. Злокачественные эпителиальные клетки ОМЖ распространяются, прежде всего, лимфогенно в близлежащие лимфатические узлы (аксиллярные, внутригрудные и

подключичные). Вероятность поражения аксиллярных лимфатических узлов обычно пропорциональна размеру опухоли [58]. Постоянный путь лимфогенного метастазирования при РМЖ направлен в аксиллярные лимфатические узлы. К этому постоянному пути добавляются подлопаточный путь, метастазирование приобретает «двухколлекторный» характер: в аксиллярные и в подлопаточные лимфатические узлы. В других случаях к аксиллярному пути добавляется подключичный путь, и в этом случае второй коллектор – подключичный. Таким образом, лимфоотток из МЖ осуществляется по различным лимфатическим коллекторам. Лимфатический коллектор аксиллярной впадины содержит не только первый этап лимфогенного метастазирования и лимфоотока, но и второй этап. Вторым этапом является выраженным в случае поражения подлопаточной или подключичной области, т.е. второго пути лимфогенного метастазирования [96]. Однако описаны и парастернальные пути, к парастернальным лимфатическим узлам, межреберные пути, позадигрудинные пути – к медиастинальным лимфатическим узлам и путь Герота – по подкожным лимфатическим сосудам к эпигастральным узлам и в печень [57]. Наибольшее значение имеет изучение подмышечно-подключичного и парастернального путей, так как именно через них дренируется основная масса лимфы. Для злокачественных ОМЖ показана специфичность локализации метастаза в лимфатическом узле в зависимости от пути метастазирования. Для ортоградного пути метастазирования наиболее характерны субкапсулярные, фолликулярные и паракортикальные локализации метастазов, для контактного пути – преимущественно интракапсулярные, а для гематогенного пути добавляется и трабекулярная локализация метастазов [46].

1.2 Молочная железа в норме и при опухолевом процессе

МЖ является сложным трубчато-альвеолярным органом, состоящим из эпителиальной секретирующей ткани, к которой относятся галактофорные железы и протоки, соединительной ткани, составляющей строму железы, жировой ткани и кожи с ее придатками. Внутريدольковая соединительная ткань в зависимости от

функционального состояния МЖ инфильтрирована соответствующим количеством клеточных элементов [88]. В соединительной ткани расположены кровеносные и лимфатические сосуды, нервы. Внутридольковая строма подразделяется на протоковую и околоальвеолярную. Строма окружает в виде футляров железистые и протоковые образования, имея нежное фибриллярное строение. Соединительная ткань, окружающая крупные млечные ходы, образует вокруг них эластическую мембрану. Начальная лимфатическая система МЖ представлена в виде прелимфатических щелей, далее, с появлением эндотелиальных клеток образуются, соответственно, лимфатические капилляры, залегающие как внутри, так и вокруг долек. Лимфатические сосуды МЖ формируют паренхиматозную, подкожную и кожную сети, объединенные в одно целое широко разветвленными анастомозами. В подмышечной ямке лимфатические сосуды оканчиваются в лимфатических узлах.

Вопросы канцерогенеза непосредственно связаны с биологической природой органа, его филогенетическим происхождением и особенностями нейрогуморальной регуляции. В литературе описывается два варианта филогенеза молочной железы. Первый вариант – традиционное понимание развития МЖ из единой закладки с апокриновыми потовыми железами. При этом варианте описывается, что процесс начинается с утолщения эктодермы и образования валиков молочных линий, эпителиальные клетки которых способны врастать в подлежащую мезенхиму и образовывать МЖ. В процессе онтогенеза эпителиальные клетки формируют гроздь, из которой в мезенхиму прорастают тяжи, каждый из которых дает начало отдельной сложной экзокринной железе. Железы, в свою очередь, образуют собственную МЖ, состоящую из долей, сходящихся к соску и открывающихся на его вершине самостоятельными выводными протоками [56]. Однако этот вариант происхождения не объясняет гормончувствительную зависимость тканей железы. Предполагается, что МЖ сформировалась из белковой и скорлуповой желез яйцевода пресмыкающихся. Пресмыкающиеся откладывают яйца, а млекопитающие нет, соответственно, происхождение МЖ самым непосредственным образом связано с эволюционной

потерей яйца и всего, что с ним связано [96]. У пресмыкающихся имеется яйцевод, но отсутствует матка. Вершина яйцевода находится рядом с перикардом, там же находится и яичник. При превращении яйцевода пресмыкающихся в маточную трубу все становится короче и опускается в нижний отдел живота. По этой причине яичниковые сосуды начинаются сразу ниже почечных. К яйцеводу прилежат две железы, одна из которых – скорлуповая, другая – белковая. Именно из этих двух желез в процессе филогенеза формируется МЖ. Таким образом, МЖ образовалась из придатков яичника, которые были предназначены для синтеза яичного белка и скорлупы. Эти две части и являются гормонозависимыми и гормононезависимыми. Такой вариант происхождения во многом объясняет чувствительность тканей МЖ к гормонам и возможность использования иммуногистохимического метода диагностики с определением рецепторного статуса клеток МЖ при необходимости выбора метода терапии. В ряде работ показана корреляция рецепторного статуса со степенью злокачественности рака [262].

Для понимания сущности опухолевого процесса, в связи с увеличением количества синтезируемых химических соединений, которые исследуются в качестве цитостатических препаратов, актуальным становится правильность подбора моделей и методов, посредством которых производится отбор и определение активности противоопухолевых агентов [105].

Экспериментальные модели злокачественных опухолей подразумевают исследование перевиваемых, индуцированных или спонтанных опухолей. Перевиваемые опухоли животных являются более отдаленными моделями опухолей человека, чем спонтанные и индуцированные опухоли [74]. Спонтанные и индуцированные опухоли, так же, как и новообразования у человека, образуются в организме *de novo*, в то время как при перевивке происходит лишь перенос возникшей опухоли от одного животного к другому [105].

По литературным данным имеется множество способов моделирования злокачественных опухолей МЖ. Классическими моделями являются индуцированные химическими канцерогенами опухоли. Наибольший вклад в

освоение метода индукции ОМЖ у крыс был внесен Ч. Хаггинсом и его сотрудниками (1959–1962гг.) [219]. За исследования в этой области Ч. Хаггинс в 1966г. был удостоен Нобелевской премии. Для индукции опухоли использовали полициклические углеводороды, и наиболее часто – диметилбензантрацен (ДМБА). В онкологической литературе ОМЖ, индуцированные ДМБА, называют моделями Хаггинса. Кроме ДМБА в качестве химических канцерогенов могут использоваться различные вещества: уретан [243], производные флуорена [237], производные нитрозомочевины [15; 16; 17; 37; 64; 54; 53; 217]. Чаще всего, химические канцерогены, вызывающие ОМЖ, вводят в желудок через зонд в масляном растворе, благодаря чему, всасываясь, канцероген, транспортируется через лимфатические пути в кровь в связанном состоянии. Выявленные ранние изменения в МЖ под действием различных химических канцерогенов достаточно противоречивы в связи с неодинаковой реактивностью животных на различные канцерогены, дозы и схемы введения [16; 53]. Наибольший интерес представляют те изменения в МЖ, которые возникают на терминальных стадиях канцерогенеза, когда острые реактивные явления, связанные с непосредственным действием канцерогенов уже отсутствуют. Большинство авторов описывает сначала формирование внутрипротоковой пролиферации, дисплазии клеток и появление множественных гиперпластических узелков альвеолярного и протокового происхождения [226; 232; 235]. В работе G. Slemmer выявлена возможность развития индуцированных ОМЖ из различных клеток органа – как альвеолярного эпителия, так и эпителия протоков и миоэпителия [253]. Таким образом, различные канцерогены могут индуцировать неодинаковые по гистогенезу опухоли, однако большинство исследователей предполагает первичность новообразования из эпителия протоков МЖ [162]. Подобные наблюдения свидетельствуют, что существует двустадийность индуцированного канцерогенеза МЖ. Первая стадия – инициация неопластического процесса химическими канцерогенами, т.е. образование трансформированных клеток, способных превращаться в опухоль. На второй стадии происходит активация – превращение опухолевых «зачатков» в истинную опухоль [162; 234].

Индукцированные опухоли у крыс в большинстве случаев обнаруживаются в грудных МЖ, а характерной особенностью индуцированного канцерогенеза МЖ является возникновение множественных опухолевых узлов [258]. В большинстве случаев злокачественные ОМЖ развиваются из эпителиального компонента железы и протоков, однако часто в ОМЖ наблюдается сочетание различных гистологических форм [58].

В последние годы для исследования патоморфоза опухоли, путей метастазирования, ангиогенеза в опухоли и возможность использовать новые цитостатики, чаще используют введение МНМ в проекцию МЖ [16; 63; 163; 55; 154; 181]. В качестве канцерогенного агента используется вещество МНМ. ОМЖ индуцируют путем подкожных инъекций канцерогена в область МЖ. В работе А. Shilkaitis убедительно показано, что именно эта модель по гистогенезу и морфологическим изменениям очень близка к РМЖ у человека [235].

1.3 Воздействие химиотерапевтических препаратов на опухолевый рост в молочной железе

Неотъемлемой частью комплекса лечебных мероприятий, применяемых при злокачественных новообразованиях органов и тканей, является химиотерапия [5]. Существуют заболевания, которые либо полностью вылечиваются химиотерапевтическими препаратами (хорионэпителиома матки, лимфома Бэркитта), либо подвергаются глубокому угнетению с длительным исчезновением клинических проявлений – семинома яичка, раки кожи, яичников, лимфогранулематоз и некоторые другие [172]. Вместе с тем, существуют опухоли, мало или совершенно не чувствительны к цитостатикам [127; 128].

Такая ситуация ставит перед фармакологами и химиками задачу синтеза веществ для лечения опухолей с высокой избирательностью действия. Кроме того, схемы полихимиотерапии должны включать препараты с различным механизмом противоопухолевого действия, что делает эти схемы более эффективными [42]. Доказанные явления первичной и индуцированной

рефрактерности дополнительно требуют создания новых цитостатиков и их комбинаций [5; 105; 109].

Большое значение в комплексном лечении РМЖ отведено полихимио- и гормонотерапии. Особенностью РМЖ является то, что даже на I–II-й стадии заболевания, велик риск наличия отдаленных метастазов, особенно при поражении аксиллярных лимфатических узлов, при отсутствии рецепторов к эстрадиолу и к прогестерону. Неоадьювантная полихимиотерапия улучшила выживаемость пациентов после мастэктомии. При запущенных формах РМЖ полихимио- и гормонотерапия являются основными методами лечения, позволяющими удлинить жизнь больного и улучшить ее качество [59]. Поражение регионарных лимфатических узлов, размер первичной опухоли, степень дифференцировки и наличие рецепторов к стероидным гормонам на опухолевых клетках это прогностические критерии РМЖ.

Неоадьювантная полихимиотерапия РМЖ представлена системой стандартов, эффективность которой доказана клиническими исследованиями [195]. Схемы ЦМФ, АЦФ, ЕЦФ, АЦ, являются стандартами первой линии химиотерапии РМЖ [164]. Использование в схеме нескольких препаратов обусловлено тем, что опухоль неоднородна, в ходящие в нее клетки по-разному реагируют на препараты. Имеющиеся у онкологов схемы полихимиотерапии позволяют при РМЖ достичь средней продолжительности ремиссии 6–14 месяцев и медианы продолжительности жизни до 2-х лет [128].

Циклофосфан – алкилирующий цитостатический препарат, который оказывает антипролиферативное и иммуносупрессирующее действие, обладая избирательной противоопухолевой активностью. В периферической крови препарат находится в неактивной форме, в опухолевых клетках быстро разлагается под влиянием содержащихся в клетках фосфатаз с освобождением бис-(β -хлорэтил)-амина. Бис (бета-хлорэтил)-амин нарушает синтез дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) в опухолевых клетках, замедляет митотическое деление клеток [7].

Эффективность химиотерапии на течение и прогноз онкозаболеваний определяется двумя основными факторами: прямым ингибирующим действием препарата на чувствительные к нему опухолевые клетки и состоянием системы опухолевого надзора [228]. Влияние противоопухолевых препаратов на неспецифическую реактивность и специфический противоопухолевый надзор может влиять на течение основного процесса. Результатом лечения злокачественного опухолевого процесса, даже при выраженном прямом угнетающем воздействии химиопрепарата на опухолевые клетки, может оказаться неудовлетворительным в связи с подавлением иммунологической реактивности организма, что, в свою очередь, способствует быстрой генерализации опухолевого процесса за счет оставшихся жизнеспособными опухолевыми клетками [4; 105]. Под воздействием цитостатиков, после их введения, как правило, происходит стимуляция антителообразования, либо же, наоборот, может происходить задержка иммунного ответа, вплоть до полного подавления иммунитета [109].

В лимфатической системе происходящие изменения зависят от дозы цитостатиков. Авторами показано, что при введении сарколизина отмечается увеличение абсолютного и относительного содержания клеток, с которыми связано осуществление организмом иммунологических реакций: малых лимфоцитов, бластов, плазмочитов [14]. Применение тех же препаратов в высоких дозах, наоборот вызывало значительное снижение клеточности в лимфатических узлах, вплоть до аплазии лимфоидной ткани. Такая ситуация не до конца понятна и может быть объяснена известным принципом Арндта-Шульца, заключающимся в двухфазности действия биологически активных веществ в зависимости от применяемой дозы [105].

Воздействие противоопухолевых препаратов и цитостатиков на иммунокомпетентные органы разнообразно и зависит от пути его введения и дозы, химической структуры цитостатика, от гистологического типа опухоли и давности ее существования.

1.4 Фитотерапия при злокачественных опухолях различной локализации

В настоящее время одним из значимых компонентов современной комплексной терапии при онкологической патологии является фитотерапия, которая позволяет уменьшить негативные эффекты химиотерапии и усилить реактивность организма [30; 31; 76]. Кроме отбора растительных препаратов, обладающих цитостатической активностью, другим вариантом в онкотерапии является поиск веществ, способных изменять биологические реакции, действие которых направлено, как непосредственно на опухолевые клетки, так и на регуляторные системы организма – восстановление / стимуляцию противоопухолевой резистентности, усиление эффективности антипролиферативной терапии и ослабление побочных эффектов полихимиотерапии на организм. Следовательно, растительное сырье, содержащее богатейший набор биологически активных веществ, может служить основой для создания таких препаратов [62; 105].

В НИИ онкологии и радиологии (Казахстан) проведены исследования противоопухолевой активности различных экстрактов, настоев, отваров, индивидуальных соединений и комплексных препаратов более чем из двухсот растений, относящихся к различным семействам. Наибольшей активностью обладают вещества из растений семейства березовых (ольха) и эфедровых (эфедра), ингибирующие рост карциномы Герена, опухоли Эрлиха, С-180, Са-755, карциномы Уокера, саркомы 45, РС-1 на 75–96 % [105]. В процессе исследования соединений, были выделены более эффективные препараты, проявляющие высокое антиметастатическое действие на экспериментальных моделях метастазирования и принципиально отличающиеся от известных противоопухолевых соединений как по характеру токсичности [105], так и по спектру действия [138]. В экспериментальных исследованиях на грызунах с перевиваемыми опухолями проводилось сравнение эффективности цитостатиков (циклофосфан, 5-фторурацил, адриамицин) с адаптогенами растительного

происхождения (экстракт родиолы розовой и экстракт шлемника байкальского). Исследование показало, что антипролеферативный и антиметастатический эффекты цитостатиков в комбинации с адаптогенами именно растительного происхождения возросли на 25–35 %. Адаптогены реализуют свои эффекты на гомеостаз организма через нейроиммунноэндокринную систему, опосредованно через влияние на уровни продукции глюкокортикоидов и чувствительность гипоталамуса релизинг-факторам. Выявлена способность адаптогенов избирательно стимулировать процессы репаративной регенерации здоровых тканей, поврежденных цитостатиками, и ингибировать пролиферацию клеток опухоли на уровне популяции клоногенных клеток-предшественников [165].

В НИИ фармакологии Томского научного центра к настоящему времени исследовано влияние семидесяти видов экстрактов растений на развитие аденокарциномы Эрлиха у мышей, у сорока семи из них определяли действие на эффективность циклофосфана [62; 105]. Было показано, что несколько экстрактов (родиола розовая, бадан тихоокеанский, очанка коротковолосистая, борец вьющийся) оказывают ингибирующее действие на развитие опухоли, увеличивают антипролиферативное действие циклофосфана и препятствуют его лейкопеническому эффекту [105].

Анализ механизма действия наиболее изученных растительных препаратов показал, что увеличение резистентности организма животных-опухоленосителей обусловлено в первую очередь активацией иммунокомпетентных клеток [105]. Фитокомплекс, состоящий из лекарственных растений (официально признанных и рекомендуемых онкологами, и фитотерапевтами в качестве вспомогательных лекарственных средств лечения и профилактики онкологических заболеваний), был разработан в НИИ клинической и экспериментальной лимфологии [105]. Все компоненты фитокомплекса подбирались с учетом синергетического действия активных начал этих лекарственных растений. Синергизм проявляется в том, что данный фитосорбционный комплекс стимулирует защитные силы организма, нормализует обмен веществ и работу выделительной системы, обладает цитотоксическим эффектом, т.е. задерживает рост опухолей, обладает

значительными антиоксидантными, адаптогенными и антиканцерогенными, антитоксическими свойствами, оказывает успокаивающее действие [105]. Эффективность использования фитокомплекса этой линии – «Бережник», при перевиваемой опухоли яичка, была показана в исследованиях И. Е. Мичурина [105]. Полученные данные по изменению строения и функционирования регионарного к яичку – почечного лимфатического узла свидетельствуют о том, что сочетание неoadъювантной полихимиотерапии с фитокомплексом «Бережник» стимулирует гуморальный иммунитет. В состав фитокомплекса входят: трава череды, цветки ноготков, корни солодки, слоевища ламинарии (морской капусты), чага, трава зверобоя и отруби ржаные. Отруби ржаные выступают в роли основы, оказывая сорбционное действие. Пищевые волокна из отрубей связывают и выводят из желудочно-кишечного тракта токсины, канцерогенные вещества, продукты клеточного метаболизма, поступающие с продуктами питания, в результате чего, происходит связывание желчных кислот и холестерина, которые являются компонентами образования стероидных гормонов, вызывающих дисплазию или неоплазию в МЖ, прерывается путь энтерогепатической рециркуляции токсинов [54; 149; 148; 195]. На пищевых волокнах микрофлора кишечника синтезирует витамины группы В и К. Существенно снизить дозы входящих в препарат лекарственных растений, позволяет свойство сорбционной компоненты, усиливать процессы всасывания. Корень солодки содержит флавоноиды, тритерпеновые сапонины, аспаргин, глицирризин, свыше 20 флавоновых гликозидов, пектиновые вещества, витамин С (до 30 %), кальций, магний, калий. Было показано, что препараты солодки голой обладают многосторонней биологической активностью [138]. Глицирризиновая и глицирритиновая кислота регулируют водно-солевой обмен и действуют подобно дезоксикортикостерону. В экстракте корня солодки обнаружены фитоэстрогены, которые сходны с эндогенными эстрогенами, которые вызывают диспластические процессы в железе. Но фитоэстрогены, связываясь с рецепторным аппаратом клеток, блокируют действие эндогенных эстрогенов, прекращая возможность непластического роста, а также оказывают ингибирующее действия на некоторые

ферменты (ароматазы, тирозинкиназы), усиливающие образование гормонов посредством механизмов, не затрагивающих рецепторный аппарат. По мнению многих авторов это связывалось с антиэстрогенным действием фитоэстрогенов, содержащихся в корнях солодки. В траве череды содержатся полифенолы, эфирные масла, слизистые и дубильные вещества, обладающие антисептическими свойствами, содержит витамин С и каротин, йод. Витамин А (в больших количествах содержащийся в траве череды), также как и фитоэстрогены, обладает способностью блокировать действие эндогенных гормонов на клетки МЖ. Дополнительный противовоспалительный эффект обеспечивают флавоноиды [16; 37; 31; 76; 255]. Цветки календулы (ноготки) еще со времен греческого врача Диоскорида и особенно в 16–19-м веках были широко известны и использовались как противораковое средство. В цветочных корзинках календулы содержатся каротиноиды: каротин, виолоксантин, флавохром, ликопин, аскорбиновая и салициловая кислоты, это обуславливает выраженные желчегонные свойства календулы, что особенно актуально, так как при развитии патологического процесса в МЖ одним из патогенетических механизмов неоплазии является нарушение связывания стероидных гормонов яичников (эстрогены, гестагены), метаболизм которых осуществляется в гепатоцитах. За счет содержащихся в календуле алкалоидов и антиоксидантов (витамин С, флавоноиды, каротиноиды), витамины (А, В, С), она обладает цитотоксическими свойствами [62].

Чага (березовый гриб) содержит гуминоподобную чаговую кислоту и хромогенный полифенолкарболовый комплекс (водорастворимые пигменты), которые обладают противоопухолевым эффектом, щавелевую кислоту (до 5 %), стероидные и птериновые соединения, обладающие дополнительно антиоксидантной активностью, которые препятствуют образованию в организме свободных радикалов и приостанавливает развитие онкологического процесса [62].

Йод, содержащийся в морской капусте, уменьшает чувствительность МЖ к действию половых гормонов. Благоприятное влияние йода на организм заключается в подавлении выделения тиреоидных гормонов, повышающих

чувствительность МЖ к эстрогенам [62]. Высокое содержание йода в фитокомплексе, подтверждено химическим количественным анализом, и составляет 6 мг/100 г продукта, что соответствует 100 % рекомендуемого суточного потребления.

Анализ изученной литературы указывает на то, что лимфатической системе отводится существенная роль в патоморфозе ОМЖ, а преобразования строения и функционирования в лимфатических узлах при канцерогенезе имеют важное прогностическое значение.

При химиотерапии РМЖ в тканях опухоли и близлежащих лимфатических узлах развиваются морфофункциональные преобразования, что также показано во многих литературных источниках.

Повысить резистентность организма и уменьшить побочные эффекты полихимиотерапии позволяет применение фитотерапии, которая является одним из значимых компонентов современной комплексной противоопухолевой терапии.

По нашему мнению, важной задачей не отраженной в современной литературе и не нашедшей своего решения в экспериментальных работах, является комплексное морфофункциональное исследование лимфатических сосудов, лимфоидных органов, молочной железы при ОМЖ и после неoadъювантной полихимиотерапии дополненной применением растительных адаптогенов [158].

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Объект исследования

Эксперименты проведены на половозрелых крысах-самках Wistar с массой тела 220–250 г., что согласуется с объектом исследований других авторов [105]. Сравнительную легкость в моделировании различных патологических состояний человека позволяют малые размеры этих животных. По сравнению с крупными животными, также технически легче выполнимы и хирургические манипуляции. Возможность работать с большим количеством особей рандомизированных по массе, возрасту и анатомо-функциональным характеристикам, делает крыс-самок Wistar удобным объектом для экспериментов, в том числе и для исследования лимфатической системы [83; 89; 118; 105].

Таблица 1 – Распределение подопытных животных в исследовании по группам

Группы	Количество животных
Интактные животные	20
ОМЖ (контрольная группа, 6 месяцев роста ОМЖ)	20
ОМЖ + неоадъювантная полихимиотерапия	20
ОМЖ + неоадъювантная полихимиотерапия и коррекция фитокомплексом	20
ОМЖ + коррекция фитокомплексом (6 месяцев роста ОМЖ)	20
Всего:	100

Работа выполнена в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ Минздрава СССР № 577 от 12.08.77г.), а также с соблюдением принципов гуманности (директива Европейского Сообщества 86/609/ЕС от 24.11.1986г).

Дизайн исследования представлен в таблице 1. Исследование проводили в весенний период с учетом ритма общебиологических процессов[92].

2.2 Инициация экспериментальной опухоли молочной железы

ОМЖ индуцировали введением МНМ в МЖ по общепринятой методике [54; 163; 185]. Использованная нами модель канцерогенеза МЖ была предложена и изучена в докторской диссертационной работе сотрудника НИИ онкологии им. проф. Н. Н. Петрова (г. Санкт-Петербург), заведующего кафедрой фармакологии с клинической фармакологией Северо-Осетинской государственной медицинской академии Джисоевым Феликсом Константиновичем. Его работы и работы его учеников были посвящены развитию химической (лекарственной) профилактике рака. Выбор МНМ основывался и на экспериментальных исследованиях его как индуктора ОМЖ другими авторами [235]. Эта модель, как свидетельствует автор, имеет большое сходство с развитием РМЖ у человека, особенно это касается опухолей внутрипротокового происхождения [235]. У животных, которым вводили МНМ, развивается карцинома молочных желез, гиперплазия протоков, карцинома *in situ* (рак *in situ*), напоминающие злокачественные поражения у человека. По мнению авторов, данная экспериментальная модель канцерогенеза используется по следующим причинам:

- опухоли возникают из эпителиальных клеток протоков, как и большинство карцином МЖ человека;
- возникновению опухолей предшествуют гиперпластические и предраковые поражения, которые в основном развиваются внутри протоков;
- пролиферативная активность и апоптоз в концевых отделах протоков относительно высоки;
- гистогенез, морфология и прогрессирование гиперпластических, предраковых и злокачественных поражений схожи во многих аспектах с РМЖ у человека.

У животных по данным указанных авторов, развивались различные злокачественные поражения в МЖ – альвеолярные и протоковые гиперплазии, аденокарцинома, карцинома *in situ*.

Russo J. с соавторами (1976), изучавший патогенез карциномы МЖ на крысах-самках при введении МНМ показал, что мультифокальные очаги внутрипротоковой гиперплазии в МЖ выявляются уже на 14-й день инициации опухолевого роста. Внутрипротоковые карциномы имели характерную решетчатую и папиллярную форму. В альвеолярной части железы формировались аденомы, аденокарциномы и кисты [235].

Суть эксперимента в следующем: животное (под наркозом) фиксировали на спине на операционном столике для мелких лабораторных животных, выстригали шерсть в области 2-й молочной железы у основания правой передней конечности, кожу смазывали 70 % водным раствором этилового спирта. Затем одноразовым шприцем подкожно в область 2-й молочной железы в дозе 2,5 мг на крысу вводили МНМ разведенную в 0,2 мл воды для инъекций (1 раз в неделю, общим курсом 5 инъекций). После этого кожу в области 2-й молочной железы у основания правой передней лапки смазывали 5 %-м спиртовым раствором йода.

К моменту формирования опухоли, необходимой для исследования, показатели выживаемости в контрольной и группах с лечением были практически одинаковы и составили около 96 %. Пятикратное подкожное введение МНМ инициировало развитие ОМЖ у животных, как в контрольной группе, так и в группах с лечением. ОМЖ развились у 90,5 % крыс в опытных группах. Первичный опухолевый узел, на месте введения канцерогена, появился на восемнадцатой неделе эксперимента. Общая частота возникновения опухолей во всех группах с лечением составила порядка 65 %. Средний срок формирования опухолевого узла размером 1,0 x 1,5 см, составил $(174 \pm 19,5)$ суток. В соответствии с руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств (2012) измерение размеров опухоли может производиться по 2–3 размерам (V мм³), мы использовали формулу (1)

$$V = (a \times b)^2 / 2, \quad (1)$$

где a – длина;

b – ширина, поскольку высоту опухоли измерить точно не всегда было возможно, в связи с ее прорастанием в подлежащие ткани [143].

В соответствии с расчетами объем опухоли к моменту разделения животных на группы и начала лечения составлял 11250 мм^3 .

Через шесть месяцев от индукции опухолевого процесса в МЖ, животных рандомизировали и распределяли по группам, опираясь на размеры опухоли, при этом определяли строение опухоли при микроскопическом исследовании. Было выявлено, что наряду с железисто-солидными, криброзными и тубулярными структурами клетки опухоли формируют мелкие сосочковые структуры. Строма опухоли скудная, представлена единичными коллагеновыми волокнами. Клетки опухоли среднего размера, овальной или округлой формы, полиморфные, с умеренно гиперхромными ядрами, содержащими от 1-го до 3-х ядрышка. Контур клеток фестончатый, «размыт».

Отдельные фрагменты опухоли характеризуются наличием кистоподобных образований, выстланных клетками наподобие эндотелия и окруженных полями фибробластоподобных клеток. Хорошо была выражена лимфоплазмоцитарная инфильтрация, локализующаяся, преимущественно, по ходу сосудов. Встречались очаги некроза и кровоизлияний, много патологических митозов. Таким образом, опухоль по своему строению представляла собой скорее аденокарциному, хотя, как указано выше, ее структура очень мозаична. Результаты морфометрии опухолевой ткани, свидетельствуют о преобладании паренхимы в опухоли $(59,22 \pm 1,42) \%$ над стромой $(40,78 \pm 1,18) \%$.

Спонтанного канцерогенеза за период проведения эксперимента (6 месяцев) в контрольной группе животных нами не наблюдалось.

2.3 Методы неоадьювантной полихимиотерапии, фитокоррекции и фитопрофилактики, используемые в эксперименте

Неоадьювантную полихимиотерапию ОМЖ назначали через 6 месяцев после инициации роста опухоли в третьей экспериментальной группе. Для химиотерапии опухоли мы использовали схему ЦМФ (CMF) (Циклофосфан, Метотрексат, Фторурацил). Циклофосфан (ООО Компания ДЕКО, Россия) вводили внутривенно в дозе 100 мг/м^2 с 1-го по 14-й день химиотерапии. При пересчете на вес животного однократно вводили 0,3 мг циклофосфана разведенного в 0,1 мл воды для инъекций. Метотрексат (Веро-метотрексат, ООО Лэнс-Фарм, Россия) вводили внутривенно в дозе 40 мг/м^2 в 1-й и 8-й дни химиотерапии. При пересчете на вес животного однократно вводили 0,04 мг метотрексата разведенного в 0,1 мл воды для инъекций. Фторурацил (ООО Лэнс-Фарм, Россия) вводили внутривенно в дозе 600 мг/м^2 в 1-й и 8-й дни химиотерапии. При пересчете на вес животного, однократно вводили 2,5 мг фторурацила разведенного в 0,1 мл воды для инъекций.

В четвертой экспериментальной группе через 6 месяцев роста опухоли молочной железы животным проводилась химиотерапия по схеме ЦМФ (Циклофосфан, Метотрексат, Фторурацил). Одновременно с химиотерапией в течение пятнадцати дней, в пищу животных добавляли фитокомплекс (терапия сопровождения).

Для препаратов сопровождения, к которым и относится фитокомплекс, изучение на моделях опухолевого роста направлено на выявление опасности уменьшения эффективности специфических противоопухолевых средств и стимуляции роста образований или диссеминации процесса. В руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств (2012) рекомендуется, для выяснения модифицирующего действия препаратов сопровождения, выполнять исследования по специально разработанным программам, руководствуясь конкретным объектом и механизмом модификации и рекомендуемой терапевтической схемой применения при конкретных опухолевых

процессах [143]. В качестве объекта модификации терапии сопровождения были выбраны близлежащие к опухоли лимфатические узлы, от функционального состояния которых в большой степени зависит эффективность специфической противоопухолевой терапии, ее пролонгация. В качестве механизмов модификации выбранной нами терапии сопровождения была исследована динамика изменений морфофункциональной специализации аксиллярных лимфатических узлов, их цитоархитектоника, поскольку в соответствии с концепцией академика Ю. И. Бородина, эти параметры являются маркерами состояния местного лимфотоксикоза и иммунной реактивности [21; 134; 23].

В состав фитокомплекса (биологически активная добавка к пище, свидетельство о государственной регистрации № 77.99.23.3.У.7134.7.09 от 27.07.2009г.) входят пищевые волокна (ржаные отруби), корень солодки, трава череды, морская капуста (ламинария), березовый гриб, трава зверобоя, цветки календулы.

В пятой экспериментальной группе с профилактическим введением фитокомплекса (фитопрофилактика), ежедневно, начиная сразу после окончания введения крысам МНМ, животным в пищу добавляли фитокомплекс к стандартному рациону вивария на протяжении 6 месяцев. При перерасчете на вес животных суточная доза фитокомплекса составляла 10 мг/100 г массы тела животного во всех экспериментальных группах.

В качестве дополнительного контроля интактным животным в пищу добавляли фитокомплекс также 10 мг/100 г массы тела животного в течение 15 дней. Не выявлено интоксикации, нарушений в поведении животных, в строение лимфатических узлов по сравнению с контрольной группой.

2.4 Методы морфофункциональных исследований

2.4.1 Морфологические исследования

Объектом изучения морфологии при индукции опухоли МЖ у крыс-самок Wistar были выбраны – интактная МЖ, ОМЖ, аксиллярный лимфатический узел 1-го порядка. Для выявления топографо-анатомической локализации лимфатического узла во вторую МЖ справа крысам вводили 1 % раствор черной туши в изотоническом физиологическом растворе хлорида натрия (рисунок 1). Состояние близлежащих лимфатических узлов МЖ (аксиллярных) является одним из ведущих прогностических факторов течения опухолевого процесса в МЖ, что послужило основанием для их изучения. Группа аксиллярных лимфатических узлов крыс по нашим данным и данным литературы состоит из 3–4 узлов, которые расположены цепочкой вдоль грудной стенки на границе боковой грудной и большой подкожной вены [118; 257]. Мы исследовали дистальный (каудальный) аксиллярный узел.

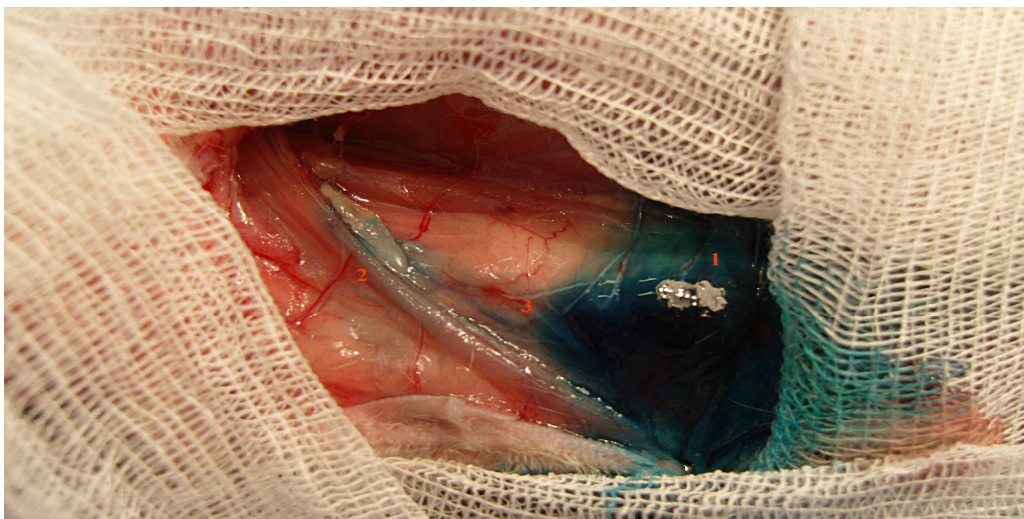


Рисунок 1 – Аксиллярный лимфатический узел крыс-самок при инъекции раствора туши в молочную железу : 1 – место инъекции, 2 – окрашивание лимфатического узла, 3 – лимфатический сосуд (инъекция 1 мл 5 %-го раствора туши в 0,9 %-м растворе хлорида натрия).

После выведения животных из эксперимента (под эфирным наркозом животным произведена декапитация), биопсийный материал фиксировали в растворе Теллесницкого (100 мл – 70 % этилового спирта, 5 мл – концентрированной уксусной кислоты, 5 мл – 40 %-го раствора формальдегида). В течение 20 часов забранный материал находился в фиксаторе, затем его перекладывали в 1-й раствор 70 %-го этилового спирта [158]. Раствор 70 %-го этилового спирта менялся три раза через сутки. Далее гистологический материал проводили по общепринятой методике. Органы заливали в парафиновые блоки с 5–6 %-м добавлением чистого воска [158]. Срединные парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм, вдоль длинной оси лимфатических узлов, готовили при помощи ротационного микротомы. Срезы лимфатических узлов, МЖ и опухоли окрашивали азур II-эозином по Нохт-Максимову и гематоксилином-эозином по Майеру [39; 142; 146]. Окрашенные препараты заключали в пихтовый бальзам и накрывали покровным стеклом. В работе использовали основной принцип стереологии, математическое обоснование и способы использования в гистологии и патоморфологии [158], которые были предложены рядом авторов, с целью проведения морфометрических исследований [2; 22; 117].

Методом точечного счета с использованием стандартной сетки (256 точек) на световом микроскопе МБС-10, проводили морфометрию срезов аксиллярных лимфатических узлов, интактной МЖ и опухоли. Оценивали относительную площадь капсулы, паракортикальной зоны, мозговых тяжей, краевого и мозговых синусов, лимфоидных узелков, центров размножения лимфатических узлов. Рассчитывали отношение относительной площади коркового вещества к площади мозгового вещества (индекс к/м) [22]. С помощью закрытой квадратной тестовой системы, вмонтированной в окуляр микроскопа, производили изучение клеточного состава различных зон лимфатических узлов. Подсчитывали абсолютное количество клеток при помощи окулярной сетки площадью 2025 мкм² [155]. Согласно принципу М. Delesse, доля площади среза, содержащая изучаемый компонент, считается равной его доле в объеме исследуемого объекта [2]. Производили подсчет относительной площади паренхимы (атипичные

опухолевые клетки) и стромы (элементы соединительной ткани, сосуды) на срединных гистологических окрашенных срезах опухоли. Рассчитывали отношение относительной площади стромы опухоли к площади паренхимы (стромально-паренхиматозное соотношение). Атипичные опухолевые клетки и патологические митозы дифференцировали в соответствии с имеющимися современными представлениями и рекомендациями в паренхиме опухоли [156].

Согласно Международной гистологической номенклатуре проведено выделение структурных компонентов и клеточных элементов аксиллярных лимфатических узлов [102]. При определении класса лимфоцитов пользовались общепринятыми подходами и рекомендациями [144; 103].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета программ Microsoft Excel и Statistica 10.0 для Windows [158]. Статистический анализ полученных морфометрических исследований проводили с использованием критерия Фишера-Стьюдента (вариационная статистика) [45; 86; 87]. Вариабельность первично измеряемых объектов и индивидуальную изменчивость учитывали при сравнении средних величин [158]. Меры центральной тенденции и рассеяния описаны средней арифметической (M) и ее ошибки (m), достоверность различия рассчитывали по Δt -критерию Стьюдента и принимались при значениях ($p < 0,05$). В таблицах результаты исследований представлены в виде ($M \pm m$).

2.4.2 Исследование кровотока в молочной железе и опухоли молочной железы у экспериментальных животных

Исследование кровотока изучали с помощью лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) в коже и подлежащих тканях, пограничных с ареолой МЖ крыс и по периферии ОМЖ, что позволило оценить перфузию интактной МЖ и опухолевой ткани в различных экспериментальных группах [69; 73; 71]. В ходе исследований осуществляется регистрация изменения потока крови в микроциркуляторном русле – флоуметрия. ЛДФ является диагностической

методикой, позволяющей мониторировать состояние локального кровотока на капиллярном уровне в небольших участках биологических тканей [56; 213; 224; 254]. Данное исследование проводилось на животных под наркозом (нембутал, 40 мг/кг внутривенно). Использовался серийно изготовленный лазерный анализатор капиллярного кровотока («ЛАКК-01», произведенный компанией «Лазма», Россия). На месте проведения измерения выбривали шерсть и фиксировали накожный зонд анализатора. Измерения проводили при длине волны излучения 0,63 мкм, время записи ЛДФ-граммы 3 минуты. Вычисление амплитудно-частотного спектра колебаний перфузии осуществляли с помощью прилагаемого к анализатору ЛАКК-01 программного обеспечения. Анализируя доплерограммы определяли динамику среднего значения показателя микроциркуляции – (М), среднеквадратического отклонения – (δ), коэффициента вариации – (KV). В работе рассматривались три частотных диапазона, в которых осуществляется модуляция стенки сосуда [238]. Медленные колебания (зона LF-ритма) определяются активностью собственных компонентов микроциркуляторного русла. Быстрые колебания (зона HF-ритма) совпадают с дыхательными ритмами и зависят от колебаний венозного кровотока в связи с изменением давления в грудной клетке в фазы вдоха и выдоха. Кардиоритмы (зона CF-ритма) совпадают с пульсовыми колебаниями кровотока. В связи с тем, что на практике не всегда удобно использовать абсолютные величины амплитуд колебаний в выделяемом спектре частот [158], нами оценивалось соотношение A_{maxHF} и A_{maxCF} к A_{maxLF} , индекс эффективности микроциркуляции (ИЭМ) [71].

2.4.3 Иммуногистохимическое исследование кровеносных и лимфатических сосудов молочной железы и опухоли молочной железы

Исследования проводили на срезах замороженных при минус 80 °С фрагментов опухоли на полуавтоматическом криостате толщиной 8 мкм.

Кровеносные сосуды визуализировали с использованием изолектина (Isolectin GS-IB4 from Griffonia simplicifolia), меченного флюорофором Alexa Fluor 594 (INVITROGEN, США) в разведении 1 : 200, от рабочей концентрации 0,001 на мл 10 часов на шейкере при комнатной температуре во влажной камере. Затем один час с официальным раствором антител против маркера эндотелия лимфатических сосудов DLL-4 (INVITROGEN, США) после чего использовались козлиные против мыши антитела, меченные FITC (ABCAM, США) в разведении 1 : 300 (двойное окрашивание). В финале ядра докрашивали DAPY, получали многоканальные изображения с использованием программы AXIOVISION 3.1 три блок фильтра от ZEISS – 00 – для красного спектра, 02 – DAPY и 38 FITC (SYBR, «Green Reagents») [79]. Определяли общую площадь кровеносных и лимфатических сосудов в строме МЖ в норме и в опухолевой ткани на стандартной площади окулярной тестовой системы 38285 μm^2 . Морфометрическое исследование проводили сосудов на фотографических снимках, сделанных при помощи моторизованного микроскопа M200 (Zeiss) и камерой AxioCam HRc (Zeiss) с конечным увеличением Ч630. Подсчет осуществляли с помощью компьютерной программы Axio Vision – Release 4.7.1. (Zeiss). Измерения сосудов МЖ проводили на изображениях стандартного размера в формате JPEG, полученных при съемке срезов, от 5 до 10 штук.

ГЛАВА 3 МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКСИЛЛЯРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ И МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС В НОРМЕ

3.1 Кровеносные и лимфатические сосуды молочной железы у интактных крыс-самок

В норме количество МЖ у интактных крыс-самок Wistar обычно 12, 6 пар : три грудных, одна брюшная и две паховые пары. В нашей работе мы исследовали вторую грудную МЖ справа.

Иммуногистохимическое исследование сосудов МЖ в норме у половозрелых крыс-самок Wistar показало, что площадь сечения кровеносных сосудов на тестовую площадь $38285\mu\text{m}^2$ составляет $(198 \pm 16,0\mu\text{m}^2)$ (рисунок 2), а лимфатических – $(87 \pm 14,5\mu\text{m}^2)$ (рисунок 3).

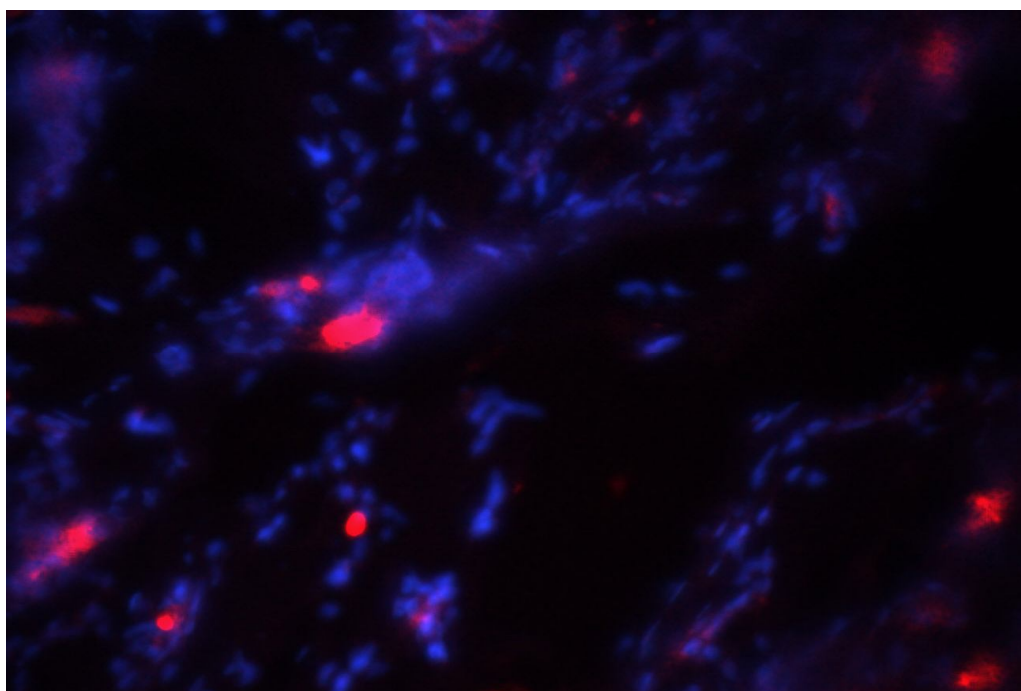


Рисунок 2 – Кровеносные сосуды молочной железы интактных половозрелых крыс-самок Wistar - красное свечение (Isolectin GS-IB4, Alexa Fuor 594, фильтр ZEISS 00,02). Ув. 1000.

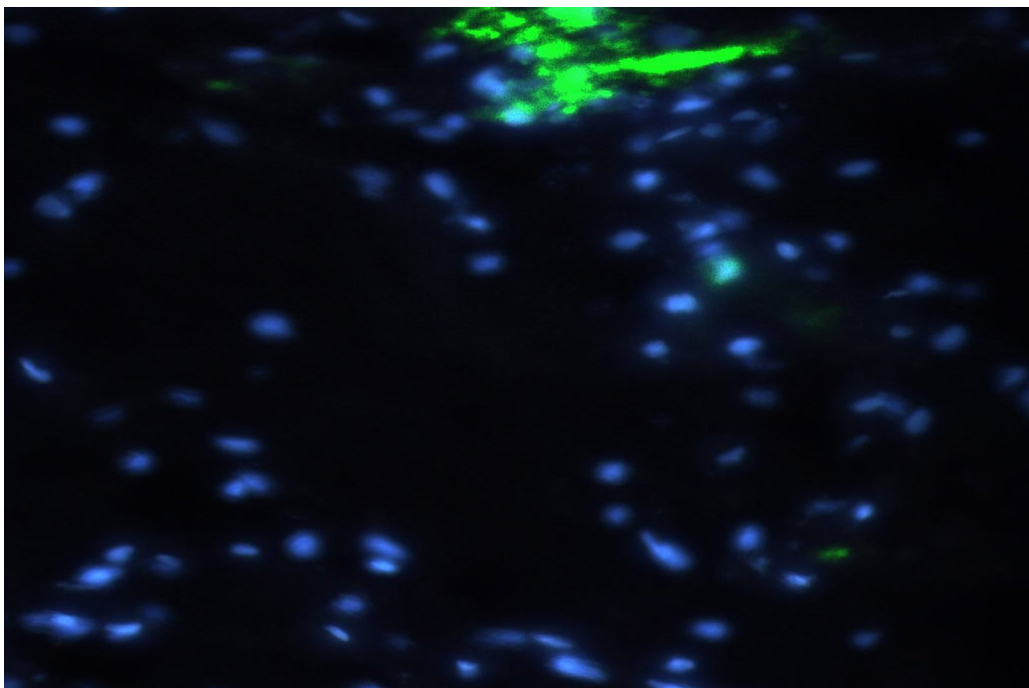


Рисунок 3 – Лимфатические сосуды молочной железы intactных половозрелых крыс-самок Wistar – зеленое свечение (DLL-4, ABCAM-FITC, фильтр ZEISS 02,38). Ув. 1000.

3.2 Аксиллярный лимфатический узел

В строении аксиллярного лимфатического узла у intactных животных (контрольная группа) относительная площадь мозгового вещества составляет 59,87 %, а коркового – 35,07 % (таблица 2). Кортиково-мозговой индекс равен 0,59, что соответствует фрагментированному типу, согласно классификации Ю. И. Бородина [22] (рисунок 4). В структуре коркового вещества лимфоидные узелки без светлых центров составляют – 0,75 %, а лимфоидные узелки со светлыми центрами – 5,82 %. Относительные площади мозговых синусов и мозговых тяжей составляют 23,59 % и 36,28 % соответственно (рисунок 18), а паракортикальной зоны и коркового плато (глубокая кора) 27,23 % и 1,27 % соответственно, от общей площади аксиллярного лимфатического узла (рисунок 15). Относительная площадь краевого синуса составляет 2,1 %. В аксиллярном

лимфатическом узле площадь соединительно-тканых элементов составляет 2,95 % (трабекулы – 0,25 %, капсула – 2,7 %).

Цитоархитектоника аксиллярных лимфатических узлов интактных животных приведена в таблице 3.

В светлых центрах лимфоидных узелков клетки, в основном, представлены малыми и средними лимфоцитами, которые составляют 14,91 % и 17,78 % соответственно (таблица 3, рисунок 19). Макрофаги и ретикулярные клетки составляют – 5,3 % и 3,57 % соответственно, а бластные формы – 14,91 % от общего количества клеток. Клетки в стадии митоза – 1,73 %.

В паракортикальной зоне преобладают малые лимфоциты, составляющие 81,53 % от общего количества клеток. Количество средних лимфоцитов, ретикулярных клеток и макрофагов составляет – 8,11 %, 3,45 % и 4,33 % соответственно, иммунобластов – 2,25 %, а тучных клеток – 0,33 %.

Мозговые тяжи представлены в основном зрелыми плазматическими клетками – 37,86 %, а также малыми и средними лимфоцитами – 34,64 % и 11,33 % соответственно. Количество макрофагов и ретикулярных клеток составляет – 3,22 % и 5,39 % соответственно, иммунобластов – 2,42 %, незрелых плазматических клеток – 5,45 % (рисунок 20) от общего количества клеток. Количество нейтрофилов – 0,12 %, а клеток на стадии митоза – 0,56 %.

Количество малых и средних лимфоцитов в мозговых синусах составляет 34,87 % и 10,47 % соответственно, количество зрелых плазматических клеток – 30,42 %, незрелых плазматических клеток – 8,74 %, нейтрофилов – 0,25 %, а иммунобластов, макрофагов, ретикулярных и тучных клеток составляет 2,8 %, 2,64 %, 9,32 % и 0,5 соответственно от всей площади лимфатического узла [158].

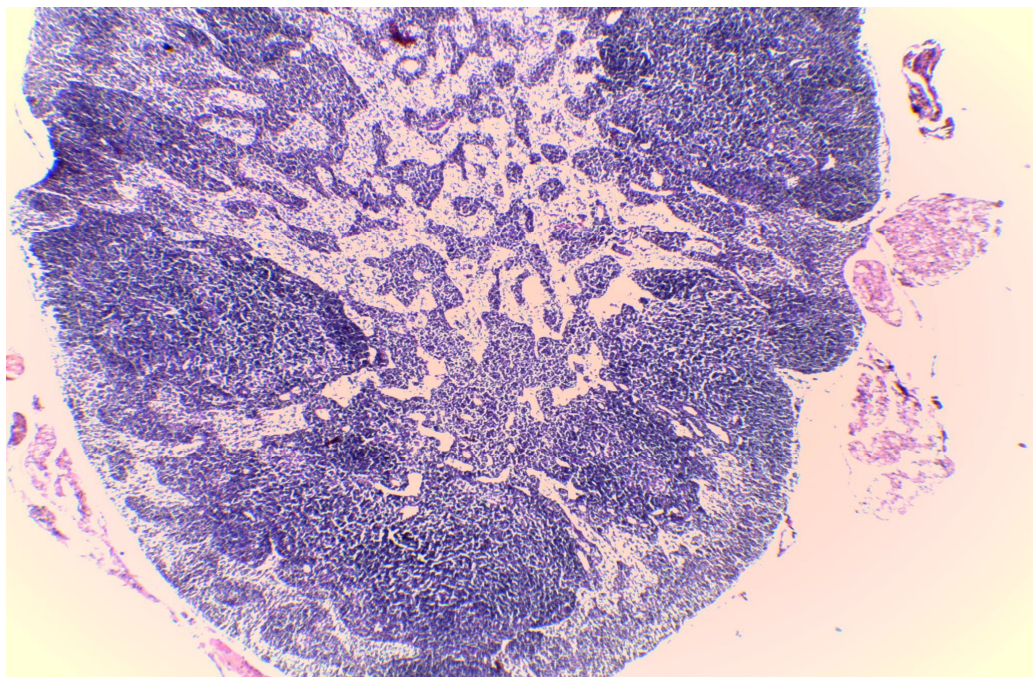


Рисунок 4 – Аксиллярный лимфатический узел intactных крыс-самок Wistar – фрагментированный тип. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 800.

3.3 Исследование кровотока в молочной железе intactных крыс-самок

Анализ доплерограмм у intactных животных показал, что М составляет 17,52 пф. ед, δ – 0,92 пф. ед., K_v – 5,3 % (таблица 4). Результаты исследования трех частотных диапазонов, осуществляющих модуляцию стенки сосуда показали: максимальная амплитуда ($A_{\max LF}$) составила 0,7 пф. ед.; максимальная амплитуда ($A_{\max HF}$) составила 0,57 пф. ед.; максимальная амплитуда ($A_{\max CF}$) составила 0,55 пф. ед.. В исследованиях мы оценивали соотношение $A_{\max HF}$ и $A_{\max CF}$ к $A_{\max LF}$: $A_{\max CF}/A_{\max LF}$ – 0,78, $A_{\max HF}/A_{\max LF}$ – 0,86. Индекс эффективности микроциркуляции, вычислялся по формуле (2):

$$A_{\max LF}/A_{\max HF}+A_{\max CF} \quad (2)$$

где $A_{\max LF}$ – максимальная амплитуда медленных (низкочастотных) колебаний кровотока;

$A_{\max HF}$ – максимальная амплитуда быстрых (высокочастотных) колебаний кровотока;

$A_{\max CF}$ – максимальная амплитуда пульсовых колебаний кровотока.

Индекс эффективности микроциркуляции составил 0,62.

Аксиллярные лимфатические узлы у крыс-самок Wistar интактной группы по строению и функционированию относятся к фрагментированному типу, что показано при морфофункциональном исследовании. Обнаруженные специфические особенности в цитоархитектонике структурно-функциональных зон лимфатических узлов, свидетельствуют о различной степени выраженности процессов пролиферации и бласттрансформации лимфоидных клеток.

Исследование кровотока выявило преобладание в модуляции кровотока пассивного механизма (респираторно-пульсовые флюктуации кровотока) над активным механизмом (вазоконстрикторные модуляции флюктуации кровотока): индекс эффективности микроциркуляции вычисляемый по формуле $A_{\max LF} / A_{\max HF} + A_{\max CF}$ составляет 0,62.

Результаты количественного анализа сосудистого русла показали, что в норме в молочной железе крыс-самок Wistar плотность кровеносных сосудов преобладает над лимфатическими сосудами.

ГЛАВА 4 МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКСИЛЛЯРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

4.1 Опухоль молочной железы

Микроскопически опухоль представлена множеством железистых разнокалиберных структур (от мелких розеток, до неправильной формы кистозных полостей), формирующих «причудливую» сеть. Железы выстланы эпителиальными клетками, расположенными в один, а иногда в два, три и более рядов. Наряду с железисто-солидными, криброзными и тубулярными структурами клетки опухоли формируют мелкие сосочковые структуры. Строма опухоли скудная, представлена единичными коллагеновыми волокнами. Клетки опухоли среднего размера, овальной или округлой формы, полиморфные, с умеренно гиперхромными ядрами, содержащими от 1-го до 3-х ядрышка. Контур клеток фестончатый, «размыт» (рисунок 5, 6).

Отдельные фрагменты опухоли характеризуется наличием кистоподобных образований, выстланных клетками наподобие эндотелия и окруженных полями фибробластоподобных клеток. Хорошо выражена лимфоплазмоцитарная инфильтрация, локализующаяся, преимущественно, по ходу сосудов. Встречаются очаги некроза и кровоизлияний, много патологических митозов. Таким образом, опухоль по своему строению представляет собой аденокарциному. Результаты морфометрии опухолевой ткани, свидетельствуют о преобладании паренхимы в опухоли ($59,22 \pm 1,42$) % над стромой ($40,78 \pm 1,18$) %.

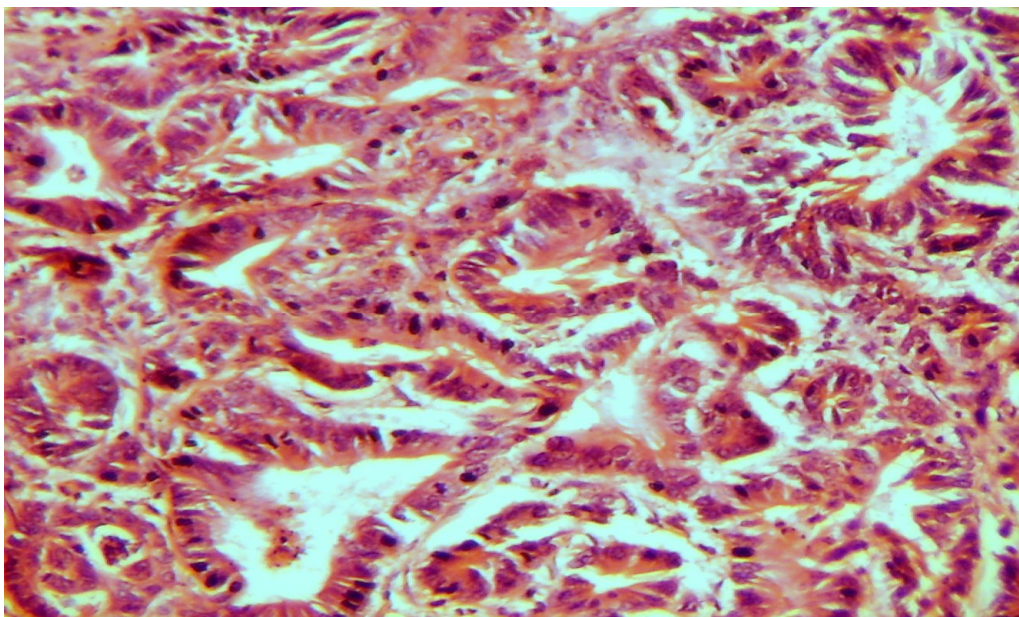


Рисунок 5 – Индуцированная - N-метил-N-нитрозомочевинной опухоль молочной железы у крыс-самок Wistar (6 месяцев роста). Низкодифференцированная карцинома с инфильтрирующим характером роста. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 400.

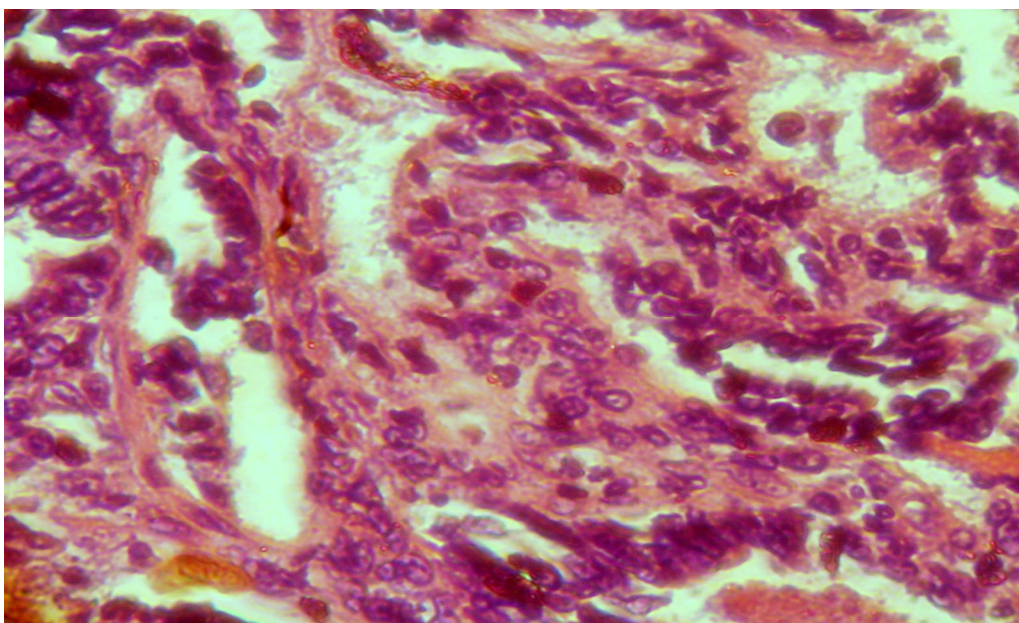


Рисунок 6 – Индуцированная - N-метил-N-нитрозомочевинной опухоль молочной железы у крыс-самок Wistar (6 месяцев роста). Высокodифференцированная карцинома. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 400.

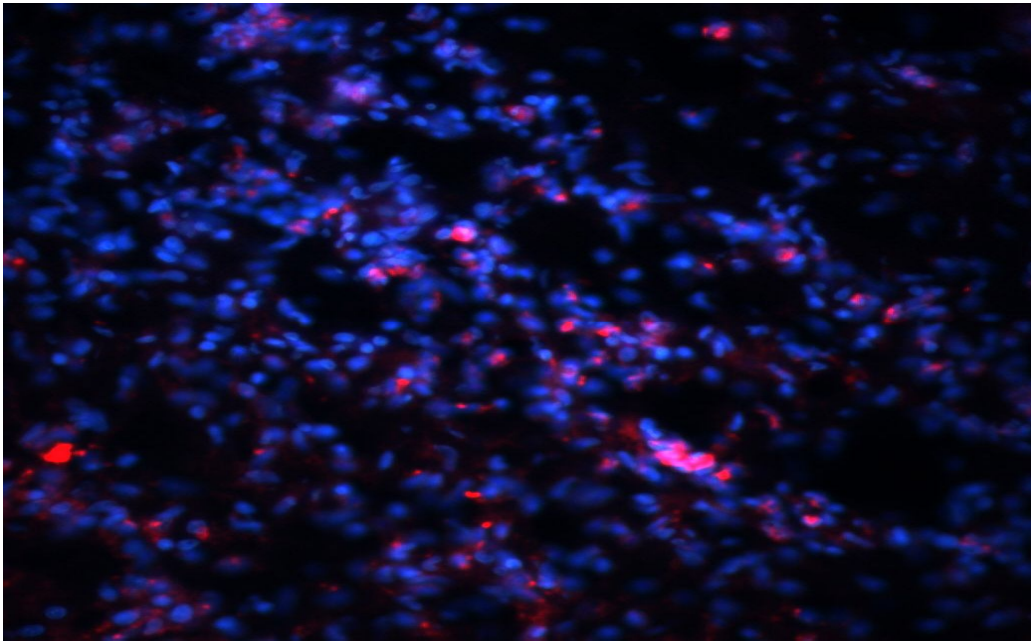


Рисунок 7 – Кровеносные сосуды в опухоли молочной железы половозрелых крыс-самок Wistar - красное свечение. (Isolectin GS-IB4, Alexa Fluor 594, фильтр ZEISS 00,02). Ув. 1000.

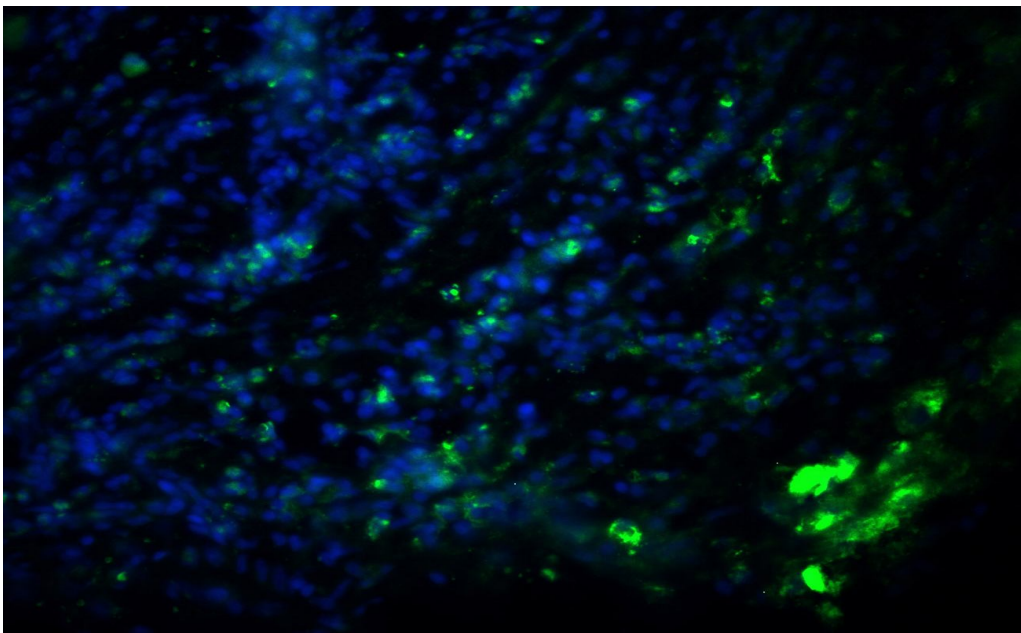


Рисунок 8 – Лимфатические сосуды в опухоли молочной железы половозрелых крыс-самок Wistar – зеленое свечение. (DLL-4, ABCAM-FITC, фильтр ZEISS 02,38). Ув. 1000.

Иммуногистохимическое исследование кровеносных и лимфатических сосудов опухоли свидетельствует о ее специфической ангиоархитектонике: площадь кровеносных сосудов (рисунок 7) составляет $(432,4 \pm 24,3 \text{ } \mu\text{m}^2)$, что в 2,2 раза больше чем в нормальной ткани МЖ, а лимфатических сосудов (рисунок 8) составляет $(249 \pm 19,2 \text{ } \mu\text{m}^2)$, что также превышает почти в 3 раза их количество в нормальной ткани МЖ.

4.2 Аксиллярный лимфатический узел

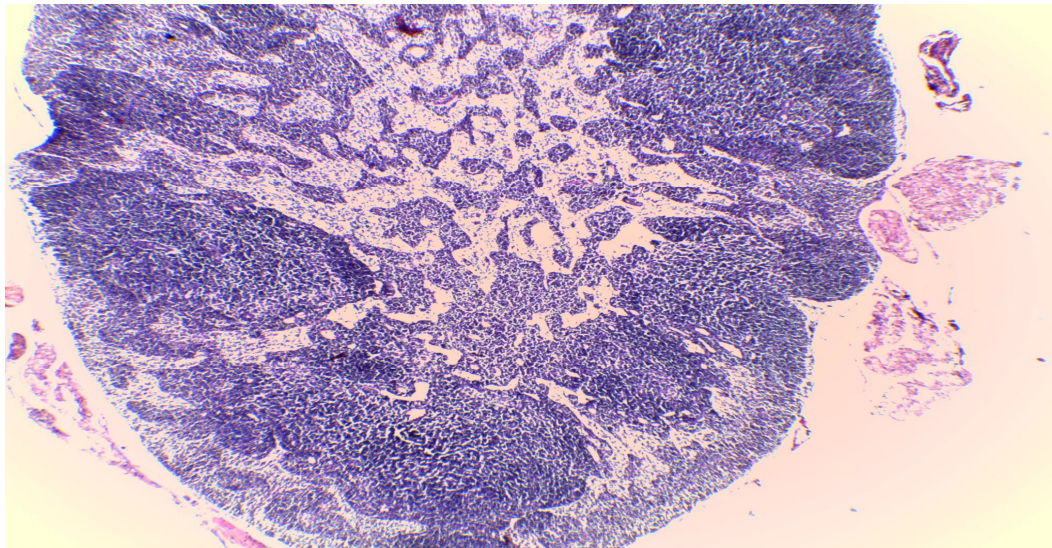
Общая площадь срезов аксиллярных лимфатических узлов при ОМЖ увеличивается на 19,6 %, по сравнению с нормой. Отмечено увеличение доли мозгового вещества – на 15,1 % и снижение доли коркового вещества на 25,8 % (таблица 2). За счет уменьшения площади паракортикальной зоны на 36,8 %, происходит уменьшение площади коркового вещества (рисунок 15). Относительная площадь лимфоидных узелков без светлых центров увеличивается на 73,3 %. Тип структурно-функциональной организации аксиллярных лимфатических узлов, как и у интактных животных соответствует фрагментированному типу (к/м индекс – 0,38) (рисунок 9, 15). Площадь мозговых синусов увеличивается на 27,9 % (рисунок 18), а капсулы уменьшается на 20,4 %.

Цитоархитектоника аксиллярных лимфатических узлов приведена в таблице 3. Исследование цитоархитектоники в структурных компонентах аксиллярных лимфатических узлов проводилось в узлах с выявленными метастазами. Отмечается уменьшение количества малых лимфоцитов на 13,4 %, иммунобластов на 23,8 % в светлых центрах лимфоидных узелков (рисунок 19), на фоне увеличения количества макрофагов – в 2 раза, ретикулярных клеток – в 2,3 раза. Выявлены опухолевые клетки, которые составляют 1,53 % от общего количества клеток.

В паракортикальной зоне лимфатических узлов отмечается уменьшение количества средних лимфоцитов и иммунобластов на 26,5 % и 49,8 % соответственно, а количество макрофагов и ретикулярных клеток увеличивается

на 69,7 % и 47,8 % соответственно. Выявленные опухолевые клетки составляют 1,96 %.

А)



Б)

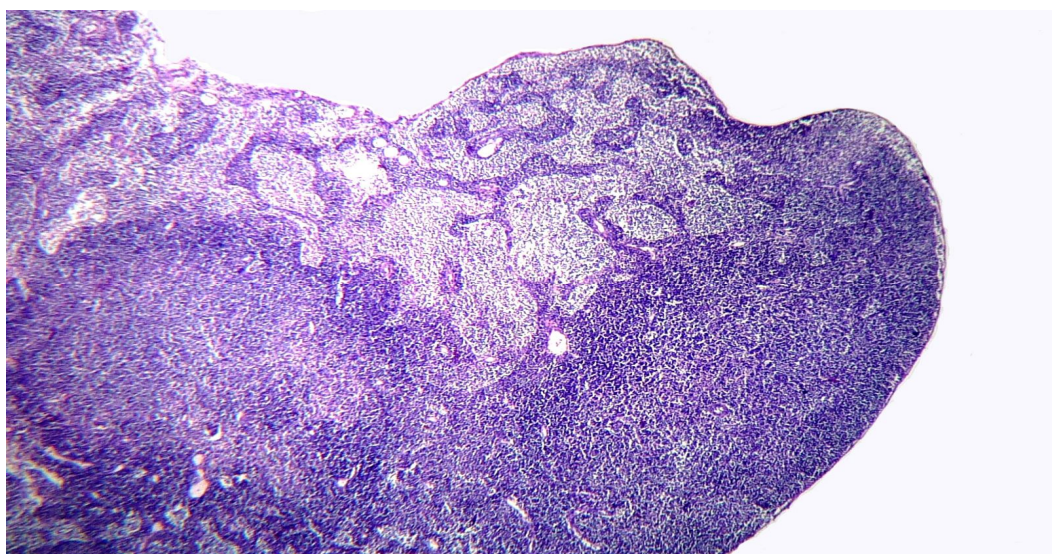


Рисунок 9 – Аксилярный лимфатический узел в норме (9А) и при экспериментальной опухоли молочной железы половозрелых крыс-самок Wistar (9Б) (увеличение площади мозгового вещества, площади лимфоидных узелков без светлых центров, уменьшение площади коркового вещества по сравнению с нормой) – фрагментированный тип. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 800.

В мозговых тяжах произошло увеличение количества макрофагов на 73,9 %, ретикулярных клеток на 43,6 %, незрелых плазматических клеток на 39,6 % (рисунок 20). Количество зрелых плазматических клеток уменьшилось на 27,8 %. Выявлены атипичные опухолевые клетки (рисунок 10), которые составляют 3,19 % от общего количества клеток.

В мозговых синусах количество макрофагов увеличилось на 82,6 %, иммунобластов в 2,2 раза, а ретикулярных клеток – в 2,1 раза, число малых и средних лимфоцитов уменьшилось на 36,5 % и 31 % соответственно. Выявлены опухолевые клетки, которые составляют 3,37 % от общего количества клеток.

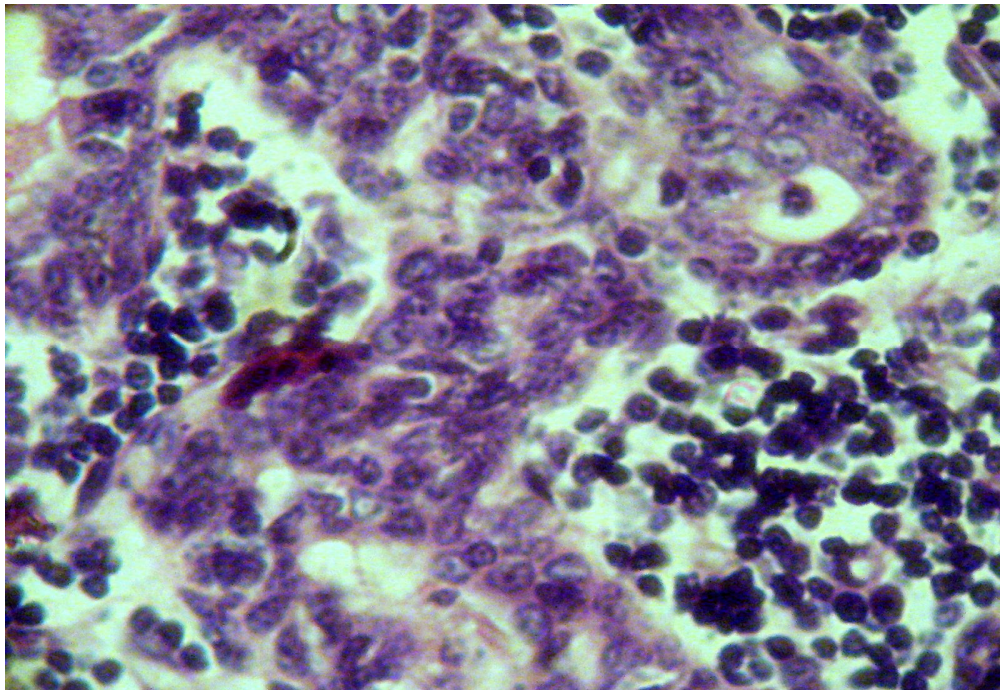


Рисунок 10 – Атипичные опухолевые клетки, иммунобласты, средние лимфоциты, малые лимфоциты, незрелые плазматические клетки, ретикулярные и зрелые плазматические клетки в мозговых тяжах аксиллярного лимфатического узла крыс при экспериментальной опухоли молочной железы. Окрашивание гематоксилином и эозином. Ув. 800.

4.3 Исследование кровотока

Результаты исследования кровотока в пограничной области между опухолью и здоровыми тканями, окружающими опухоль (таблица 4), показали увеличение коэффициента вариации (K_v) – на 34,52 %. Индекс эффективности микроциркуляции (ИЭМ) также был повышен на 46,8 %. Отмечалось увеличение амплитуды $A_{\max}LF$ – на 35,7 %, что связано с активацией миогенной активности вазомоторов (увеличивается соотношение $A_{\max}LF/M$ – на 50 % (контроль – $0,04 \pm 0,004$) и с нейрогенными явлениями, которые определяют снижение сосудистого тонуса: снижается соотношение $\delta/A_{\max}LF$ – на 25,2 % (контроль – $1,31 \pm 0,19$). Амплитуды в других рассматриваемых частотных диапазонах ($A_{\max}CF$, $A_{\max}HF$) от интактной группы достоверных отличий не имеют. К снижению вклада пассивного (дыхательного и кардиального) механизма регуляции капиллярного кровотока приводит увеличение амплитуды $A_{\max}LF$, уменьшается $A_{\max}CF/A_{\max}LF$ – на 32 %, $A_{\max}HF/A_{\max}LF$ – на 24,4 %. Таким образом, лазерная доплеровская флоуметрия свидетельствует о повышении интенсивности кровотока, за счет усиления вазомоторной активности микрососудов, что может определять высокую степень васкуляризации опухоли.

Через 6 месяцев эксперимента от момента индукции ОМЖ, в регионарных аксиллярных лимфатических узлах отмечается увеличение общей площади лимфатических узлов, их строение и функционирование соответствует фрагментированному типу. В структуре лимфатического узла отмечается значительное уменьшение площади тимусзависимой зоны и увеличение площади мозговых синусов. В структурных компонентах аксиллярных лимфатических узлов выявлены атипичные опухолевые клетки, угнетение процессов пролиферации и бласттрансформации клеток лимфоидного ряда (уменьшается количество иммунобластов, средних и малых лимфоцитов), отмечается макрофагальная реакция.

В МЖ визуально наблюдается образование опухолевых очагов. В ее строении отмечено преобладание паренхимы. При анализе полученных данных

выявлено, что ОМЖ полиморфна – по своему строению представляет собой аденокарциному.

В регионарных аксиллярных лимфатических узлах при ОМЖ отмечено увеличение общей площади лимфатических узлов, их структурно-функциональная организация соответствует фрагментированному типу. В структуре лимфатического узла отмечается значительное уменьшение площади тимусзависимой зоны, при увеличении площади мозговых синусов. В структурных компонентах аксиллярных лимфатических узлов выявлены атипичные опухолевые клетки, угнетение процессов пролиферации и бласттрансформации клеток лимфоидного ряда (уменьшается количества иммунобластов, средних и малых лимфоцитов), отмечается макрофагальная реакция.

В пограничной с опухолью ткани, в результате проведенной лазерной доплеровской флоуметрии, выявлено увеличение коэффициента вариации, индекса эффективности микроциркуляции, повышение амплитуды колебаний, которые определяют активность собственных компонентов микроциркуляторного русла, снижение сосудистого тонуса, что свидетельствует о повышении уровня микроциркуляции, вазомоторной активности микрососудов. Это свидетельствует о высокой степени васкуляризации опухоли. В ОМЖ увеличивается площадь кровеносных и лимфатических сосудов по сравнению с МЖ интактных крыс.

Таблица 2 – Относительные размеры структурно-функциональных зон аксиллярных лимфатических узлов в норме, при опухоли молочной железы (ОМЖ) и в условиях химиотерапии (Х) и фитокоррекции (Ф), фитофилактики (ФП) ($M \pm m$) %

Структурно-функциональные зоны лимфатических узлов	Интактные животные	(ОМЖ)	(ОМЖ + Х)	(ОМЖ + Х + Ф)	(ОМЖ + ФП)
Светлый центр лимфоидных узелков	$2,07 \pm 0,1$	$2,87 \pm 0,16^*$	$2,24 \pm 0,14$	$2,89 \pm 0,26^*$	$1,04 \pm 0,06^{***}$
Мантий лимфоидных узелков со светлыми центрами	$3,75 \pm 0,12$	$3,25 \pm 0,22$	$2,52 \pm 0,12^{***}$	$4,69 \pm 0,21^{***}$	$2,06 \pm 0,11^{***}$
Лимфоидные узелки со светлыми центрами	$5,82 \pm 0,19$	$6,12 \pm 0,29$	$4,76 \pm 0,18^{***}$	$7,58 \pm 0,31^{***}$	$3,1 \pm 0,17^{***}$
Лимфоидные узелки без светлых центров	$0,75 \pm 0,06$	$1,3 \pm 0,08^*$	$0,88 \pm 0,04^{**}$	$1,36 \pm 0,13^*$	$1,28 \pm 0,06^*$
Корковое плато	$1,27 \pm 0,15$	$1,35 \pm 0,06$	$1,42 \pm 0,07$	$1,49 \pm 0,1$	$1,1 \pm 0,06^{**}$
Паракортикальная зона	$27,23 \pm 2,0$	$17,21 \pm 1,4^*$	$21,39 \pm 0,37^{***}$	$31,11 \pm 1,9^{**}$	$27,14 \pm 0,8^{**}$
Мозговые тяжи	$36,28 \pm 2,43$	$38,76 \pm 1,62$	$44,02 \pm 1,28^*$	$32,14 \pm 2,4$	$40,19 \pm 1,48$
Мозговые синусы	$23,59 \pm 1,24$	$30,16 \pm 1,12^*$	$23,0 \pm 0,55^{**}$	$21,41 \pm 1,4^{**}$	$23,34 \pm 1,01^{**}$
Краевой синус	$2,1 \pm 0,12$	$2,44 \pm 0,13$	$1,85 \pm 0,11^{**}$	$1,97 \pm 0,15$	$1,51 \pm 0,08^{***}$
Капсула ЛУ	$2,7 \pm 0,13$	$2,15 \pm 0,08^*$	$2,57 \pm 0,08^{**}$	$2,72 \pm 0,17^{**}$	$1,9 \pm 0,06^*$
Трабекулы	$0,25 \pm 0,06$	$0,5 \pm 0,07$	$0,08 \pm 0,02^{**}$	$0,21 \pm 0,04^{**}$	$0,45 \pm 0,03^*$
В-зона	$44,12 \pm 2,51$	$47,52 \pm 2,69$	$51,07 \pm 2,52^*$	$42,57 \pm 2,23$	$45,67 \pm 3,13$
Корковое вещество	$35,07 \pm 1,98$	$25,98 \pm 1,41^*$	$28,45 \pm 1,26^*$	$41,54 \pm 1,97^{***}$	$32,61 \pm 2,02^{**}$
Мозговое вещество	$59,87 \pm 2,59$	$68,92 \pm 2,19^*$	$67,0 \pm 1,75^*$	$53,55 \pm 2,39^{**}$	$63,53 \pm 2,58$
Корково-мозговой индекс	$0,59 \pm 0,02$	$0,38 \pm 0,02$	$0,42 \pm 0,01$	$0,78 \pm 0,02$	$0,51 \pm 0,02$
Примечания: * – достоверность отличий с нормой ($p < 0,05$); ** – достоверность отличий с опухолью молочной железы без коррекции ($p < 0,05$).					

Таблица 3 – Клеточный состав структурно-функциональных зон аксиллярного лимфатического узла крыс в норме, при экспериментальной опухоли молочной железы (ОМЖ) и в условиях химиотерапии (Х) и фитокоррекции (Ф), фитопрофилактики (ФП) ($M \pm m$) %

Клеточные элементы	Интактные животные	Животные с (ОМЖ)	Животные с (ОМЖ + Х)	Животные с (ОМЖ + Х + Ф)	Животные с (ОМЖ + ФП)
Светлый центр вторичных лимфоидных узелков					
Иммунобласты	$14,91 \pm 0,59$	$11,36 \pm 0,48^*$	$9,32 \pm 0,45^{***}$	$5,66 \pm 0,36^{***}$	$9,8 \pm 0,44^{***}$
Средние лимфоциты	$17,78 \pm 0,59$	$17,55 \pm 0,6$	$14,68 \pm 0,48^{***}$	$10,67 \pm 0,45^{***}$	$13,53 \pm 0,59^{***}$
Малые лимфоциты	$56,7 \pm 1,19$	$49,1 \pm 1,44^*$	$59,05 \pm 2,02^{**}$	$62,54 \pm 1,72^{***}$	$60,0 \pm 1,42^{**}$
Макрофаги	$5,3 \pm 0,31$	$10,91 \pm 0,52^*$	$7,07 \pm 0,24^{***}$	$4,65 \pm 0,38^{**}$	$9,93 \pm 0,55^*$
Ретикулярные клетки	$3,57 \pm 0,28$	$8,11 \pm 0,53^*$	$8,52 \pm 0,43^*$	$12,1 \pm 0,55^{***}$	$5,31 \pm 0,38^{***}$
Митозы	$1,74 \pm 0,21$	$1,45 \pm 0,23$	$1,06 \pm 0,16^*$	$0,79 \pm 0,19^*$	$1,4 \pm 0,21$
Опухолевые клетки	—	$1,52 \pm 0,25$	$0,3 \pm 0,11^{**}$	$3,59 \pm 0,46^{**}$	$0,03 \pm 0,01^{***}$
Паракортикальная зона					
Иммунобласты	$2,25 \pm 0,14$	$1,13 \pm 0,14^*$	$1,63 \pm 0,19$	$1,12 \pm 0,17^*$	$1,43 \pm 0,17^*$
Средние лимфоциты	$8,11 \pm 0,43$	$5,96 \pm 0,34^*$	$11,1 \pm 0,57^{***}$	$6,39 \pm 0,33^*$	$7,21 \pm 0,33^{**}$
Малые лимфоциты	$81,53 \pm 1,81$	$78,25 \pm 1,54$	$72,37 \pm 1,85^*$	$84,36 \pm 1,52$	$80,62 \pm 1,23$
Макрофаги	$4,33 \pm 0,28$	$7,34 \pm 0,39^*$	$5,98 \pm 0,37^*$	$2,96 \pm 0,23^{***}$	$6,28 \pm 0,33^*$
Ретикулярные клетки	$3,45 \pm 0,4$	$5,1 \pm 0,38^*$	$8,39 \pm 0,45^{***}$	$3,24 \pm 0,33^{**}$	$4,12 \pm 0,31$
Тучные клетки	$0,33 \pm 0,12$	$0,26 \pm 0,09$	$0,32 \pm 0,12$	$0,27 \pm 0,11$	$0,3 \pm 0,11$

<i>Продолжение Таблицы 3</i>					
Клеточные элементы	Интактные животные	Животные с (ОМЖ)	Животные с (ОМЖ + X)	Животные с (ОМЖ + X + Ф)	Животные с (ОМЖ + ФП)
Опухолевые клетки	—	$1,96 \pm 0,18$	$0,21 \pm 0,1^{**}$	$1,66 \pm 0,2$	$0,04 \pm 0,01^{***}$
Мозговые тяжи					
Средние лимфоциты	$11,33 \pm 0,58$	$9,43 \pm 0,56$	$12,0 \pm 0,42^{**}$	$19,89 \pm 0,82^{***}$	$15,32 \pm 0,66^{***}$
Малые лимфоциты	$33,64 \pm 1,37$	$35,39 \pm 1,64$	$28,79 \pm 1,26^{**}$	$21,98 \pm 0,87^{***}$	$29,93 \pm 1,28$
Иммунобласты	$2,42 \pm 0,23$	$2,93 \pm 0,3$	$10,02 \pm 0,57^{***}$	$11,62 \pm 0,48^{***}$	$8,23 \pm 0,47^{***}$
Незрелые плазмоциты	$5,45 \pm 0,3$	$7,61 \pm 0,32^{*}$	$8,21 \pm 0,58^{*}$	$11,02 \pm 0,54^{***}$	$6,64 \pm 0,41$
Зрелые плазмоциты	$37,86 \pm 1,39$	$27,33 \pm 1,18^{*}$	$27,46 \pm 0,94^{*}$	$20,9 \pm 0,74^{***}$	$26,28 \pm 1,23^{*}$
Макрофаги	$3,22 \pm 0,23$	$5,6 \pm 0,35^{*}$	$3,62 \pm 0,42^{**}$	$4,77 \pm 0,39^{*}$	$6,1 \pm 0,39^{*}$
Ретикулярные клетки	$5,39 \pm 0,34$	$7,74 \pm 0,6^{*}$	$8,1 \pm 0,41^{*}$	$3,29 \pm 0,36^{***}$	$5,31 \pm 0,42^{**}$
Митозы	$0,57 \pm 0,15$	$0,65 \pm 0,17$	$1,33 \pm 0,22^{*}$	$1,96 \pm 0,28^{***}$	$1,22 \pm 0,22$
Опухолевые клетки	—	$3,19 \pm 0,34$	$0,35 \pm 0,13^{**}$	$3,23 \pm 0,4$	$0,06 \pm 0,01^{***}$
Нейтрофилы	$0,12 \pm 0,08$	$0,13 \pm 0,09$	$0,12 \pm 0,08$	$1,34 \pm 0,22^{***}$	$0,91 \pm 0,18^{***}$
Мозговые синусы					
Средние лимфоциты	$10,47 \pm 0,45$	$7,22 \pm 0,46^{*}$	$9,35 \pm 0,52^{*}$	$8,76 \pm 0,45$	$12,0 \pm 0,52^{***}$
Малые лимфоциты	$34,87 \pm 1,2$	$22,15 \pm 1,0^{*}$	$28,64 \pm 1,25^{***}$	$34,65 \pm 1,48^{**}$	$31,26 \pm 1,59^{**}$
Иммунобласты	$2,8 \pm 0,28$	$6,02 \pm 0,28^{*}$	$5,19 \pm 0,43^{*}$	$3,79 \pm 0,33^{**}$	$4,29 \pm 0,34^{***}$
Зрелые плазмоциты	$30,42 \pm 1,22$	$27,29 \pm 1,13$	$31,82 \pm 1,21$	$23,1 \pm 0,9^{***}$	$34,29 \pm 1,23^{**}$
Макрофаги	$2,63 \pm 0,31$	$4,82 \pm 0,36^{*}$	$1,55 \pm 0,26^{**}$	$1,80 \pm 0,27^{**}$	$1,50 \pm 0,22^{***}$

Окончание Таблицы 3

Клеточные элементы	Интактные животные	Животные с (ОМЖ)	Животные с (ОМЖ + X)	Животные с (ОМЖ + X + Ф)	Животные с (ОМЖ + ФП)
Ретикулярные клетки	$9,32 \pm 0,56$	$19,18 \pm 0,92^*$	$13,65 \pm 0,6^{***}$	$13,1 \pm 0,7^{***}$	$7,22 \pm 0,56^{**}$
Тучные клетки	$0,5 \pm 0,18$	$0,48 \pm 0,17$	$0,45 \pm 0,16$	$0,39 \pm 0,16$	$0,5 \pm 0,18$
Опухолевые клетки	—	$3,37 \pm 0,4$	$1,04 \pm 0,2^{**}$	$3,36 \pm 0,35$	$0,05 \pm 0,01^{***}$
Нейтрофилы	$0,25 \pm 0,13$	$0,16 \pm 0,11$	$0,15 \pm 0,1$	$2,05 \pm 0,29^{***}$	$1,91 \pm 0,31^{***}$
Примечания: * – достоверность отличий с нормой ($p < 0,05$); ** – достоверность отличий с опухолью молочной железы без коррекции ($p < 0,05$).					

ГЛАВА 5 МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКСИЛЛЯРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА ФОНЕ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ

5.1 Опухоль молочной железы

Опухоль разделена на сегменты тонкими прослойками соединительной ткани, представленной единичными коллагеновыми волокнами, богато инфильтрированной лимфоцитами, плазматическими клетками, нейтрофильными лейкоцитами. Паренхима опухоли представлена солидными пластами с вкраплениями множества мелких и средних железистоподобных структур, придающих опухоли криброзный вид. Структуры опухолевой ткани формируют кистозные полости, заполненные базофильным секретом. Клетки опухоли среднего, иногда - крупного размера, со светлыми ядрами, содержащими 1 или 2 ядрышка. Цитоплазма умеренная, богато вакуолизирована. Контуров клеток просматриваются не всегда отчетливо. Встречаются клетки в разрушенном, фрагментированном состоянии. Митозы атипические, единичные (рисунок 11).

Результаты морфометрии опухолевой ткани в условиях использования химиотерапии, свидетельствуют о сохраняющемся преобладании паренхимы в опухоли ($56,46 \pm 1,32$ %) над стромой ($43,47 \pm 1,14$ %), но при этом в сравнении с группой без лечения площадь стромы возрастает на 6,5 %.

5.2 Аксилярный лимфатический узел

На фоне неoadьювантной полихимиотерапии ОМЖ, по сравнению с интактной группой, в аксиллярных лимфатических узлах площадь мозгового вещества увеличивается на 12 %, а коркового уменьшается на 18,9 % (таблица 2). За счет уменьшения площади паракортикальной зоны на 21,4 %, происходит уменьшение площади коркового вещества (рисунок 15).

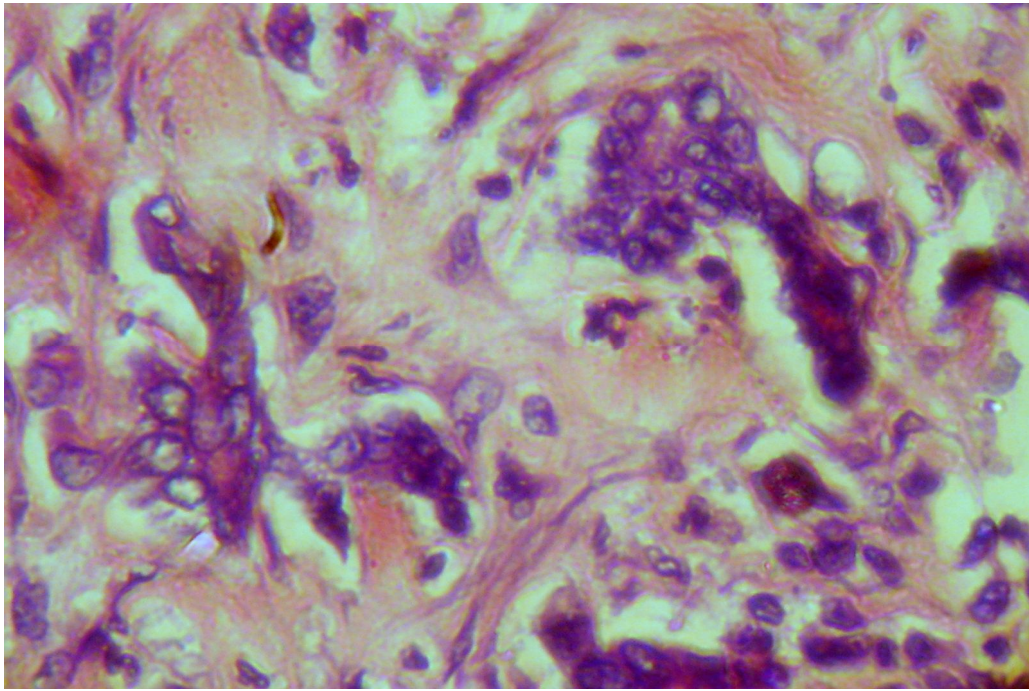


Рисунок 11 – Опухоль молочной железы крыс-самок Wistar после курса неoadъювантной полихимиотерапии (наблюдается деструкция опухолевой ткани: разрастание стромы, дистрофия клеток, инфильтрация). Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 400.

Отмечено уменьшение относительной площади лимфоидных узелков со светлыми центрами уменьшается на 18,2 %, при увеличении относительной площади В-зоны – на 15,8 % и мозговых тяжей – на 21,3 % (рисунок 18). Тип структурно-функциональной организации аксиллярных лимфатических узлов, как и у интактных животных соответствует фрагментированному (к/м индекс – 0,42) (рисунок 12, 14). В группе животных, получивших курс неoadъювантной полихимиотерапии, отмечено увеличение площади тимусзависимой зоны на 24,3 %, уменьшение площади лимфоидных узелков без светлых центров на 22 %, а лимфоидных узелков со светлыми центрами на 22,3 % по сравнению с аналогичными показателями в группе сравнения. Также отмечено, что снижен транспорт лимфы через лимфатический узел: уменьшены площади краевого и мозговых синусов на 24,2 % и 23,7 % соответственно.

Цитоархитектоника аксиллярных лимфатических узлов в условиях химиотерапии, по сравнению с интактной группой, преведена в таблице 3.

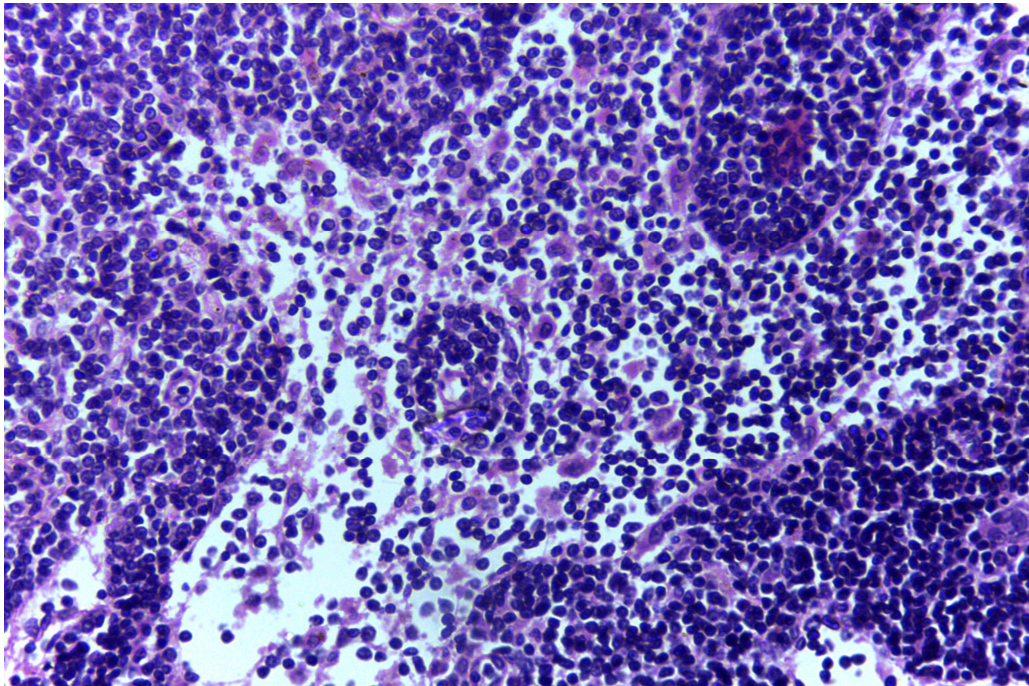


Рисунок 12 – Аксиллярный лимфатический узел при экспериментальной опухоли молочной железы половозрелых крыс-самок Wistar после курса неoadъювантной полихимиотерапии (увеличение тимусзависимой зоны, уменьшение площади мозговых и краевого синусов). Окрашивание гематоксилином-эозином. Ув. 800.

Исследование цитоархитектоники в структурных компонентах аксиллярных лимфатических узлов проводили рядом с местом локализации метастазов. В светлых центрах лимфоидных узелков отмечается увеличение количества ретикулярных клеток – в 2,4 раза, а макрофагов – на 33,4 %, уменьшение количества иммунобластов, средних лимфоцитов, клеток на стадии митоза на 37,5 %, 17,4 % и 39,3 % соответственно (рисунок 19). Количество атипичных опухолевых клеток составляло 0,3 % от общего количества клеток.

В паракортикальной зоне отмечается увеличение ретикулярных клеток в 2,4 раза, средних лимфоцитов и макрофагов на 36,9 % и 38,1 % соответственно,

количество малых лимфоцитов уменьшилось на 11,2 %. Количество опухолевых клеток составляло 0,21 % от общего количества клеток.

В мозговых тяжах увеличилось количество незрелых плазматических и ретикулярных клеток на 50,6 % и 50,3 % соответственно, а иммунобластов и клеток на стадии митоза в 4 и 2,4 раза соответственно (рисунок 13). Количество зрелых плазматических клеток уменьшилось на 27,5 %. Количество опухолевых клеток составляло 0,36 % от общего количества клеток.

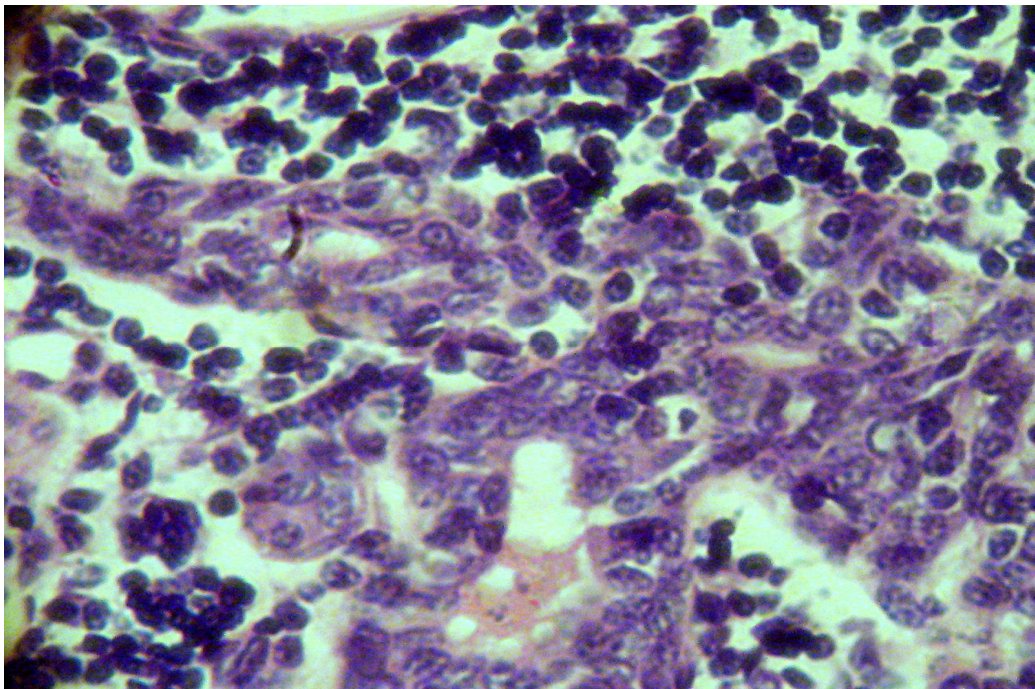


Рисунок 13 – Атипичные опухолевые клетки в аксиллярном лимфатическом узле крыс при экспериментальной опухоли молочной железы после курса неoadъювантной полихимиотерапии, тубулярные и солидные структуры среди лимфоидной ткани (увеличение количества иммунобластов, малых лимфоцитов, уменьшение количества опухолевых клеток). Окраска гематоксилином и эозином.

Ув. 800.

В мозговых синусах отмечали увеличение количества иммунобластов на 85,4 %, ретикулярных клеток – на 46,5 % и уменьшение количества малых

лимфоцитов – на 17,9 %. Количество опухолевых клеток составляло 1,04 % от общего количества клеток.

В группе животных, получивших неoadъювантную полихимиотерапию, в цитоархитектонике аксиллярных лимфатических узлов выявлено, что в светлых центрах лимфоидных узелков количество макрофагов, иммунобластов, средних лимфоцитов уменьшилось на 35,2 %, 18 % и 16,4 % соответственно, а количество малых лимфоцитов увеличилось на 20,3 % по сравнению с группой с ОМЖ без лечения. Количество опухолевых клеток уменьшалось на 80,4 %. В паракортикальной зоне отмечалось увеличение количества средних лимфоцитов, ретикулярных клеток – на 86,2 % и 64,1 % соответственно. На 89,3 % уменьшалось количество опухолевых клеток. В мозговых тяжах увеличилось количество иммунобластов в 3,4 раза, средних лимфоцитов на 27,3 %, а число макрофагов, малых лимфоцитов уменьшилось на 35,4 % и 18,6 % соответственно. Количество опухолевых клеток уменьшалось на 88,7 %. В мозговых синусах отмечено уменьшение количества макрофагов и ретикулярных клеток на 67,6 % и 28,9 % соответственно, а количество средних и малых лимфоцитов увеличилось на 29,5 % и 29,3 % соответственно. Количество опухолевых клеток сокращалось на 69,1 %.

5.3 Исследование кровотока

В группе животных с ОМЖ, получивших неoadъювантную полихимиотерапию, по сравнению с интактными животными при анализе доплерограмм отмечено увеличение показателя микроциркуляции на 40,2 %, индекса эффективности микроциркуляции – на 35,5 % (таблица 4). Наблюдалось увеличение амплитуды $A_{\max}LF$ – на 48,6 %. Амплитуды в других рассматриваемых частотных диапазонах ($A_{\max}CF$, $A_{\max}HF$) достоверных отличий от интактной группы достоверных отличий не имеют. Увеличение амплитуды $A_{\max}LF$ приводит к уменьшению вклада дыхательного механизма регуляции капиллярного кровотока: уменьшается $A_{\max}HF/A_{\max}LF$ – на 34,9% (таблица 4). По

сравнению с группой животных с ОМЖ не получавших курс неoadъювантной полихимиотерапии, анализ доплерограм выявили увеличение показателя микроциркуляции на 63,5 %, уменьшение коэффициента вариации – на 31 %. Отмечали увеличение амплитуды $A_{\max}CF$ – на 54,9 %. Увеличение амплитуды $A_{\max}CF$ приводит к увеличению вклада кардиального механизма регуляции капиллярного кровотока: увеличивается $A_{\max}CF/A_{\max}LF$ – на 50,9 %. По сравнению с нелеченой группой выявлено ослабление миогенной активности вазомоторов (соотношение $A_{\max}LF/M$ уменьшено на 33,3 %) и флуктуации кровотока синхронизированного с дыхательным ритмом (уменьшается соотношение $A_{\max}HF/\delta$ – на 25,8 %).

В аксиллярных лимфатических узлах крыс с ОМЖ после курса неoadъювантной полихимиотерапии тип структурно-функциональной организации соответствовал фрагментированному типу. По сравнению с нелеченой группой, в данной группе животных выявлено увеличение площади тимусзависимой зоны, транспорт лимфы через аксиллярный лимфатический узел понижен (уменьшены площади мозговых и краевого синусов). В структурных компонентах аксиллярных лимфатических узлов происходит активация процессов пролиферации клеток лимфоидного ряда (увеличение количества иммунобластов в мозговых тяжах) и бласттрансформации клеток лимфоидного ряда (увеличение количества малых лимфоцитов в светлых центрах лимфоидных узелков), отмечалось снижение макрофагальной реакции, уменьшение количества опухолевых клеток.

После неoadъювантной полихимиотерапии при ОМЖ отмечены признаки деструкции опухолевой ткани, в которой определяется разрастание стромы, дистрофия клеток, инфильтрация.

Показатели микроциркуляции увеличились после неoadъювантной полихимиотерапии по сравнению с интактной группой и группой без лечения. По сравнению с нелеченой группой выявлено преобладание кардиального механизма регуляции капиллярного кровотока над миогенной активностью вазомоторов и флуктуацией кровотока синхронизированного с дыхательным ритмом.

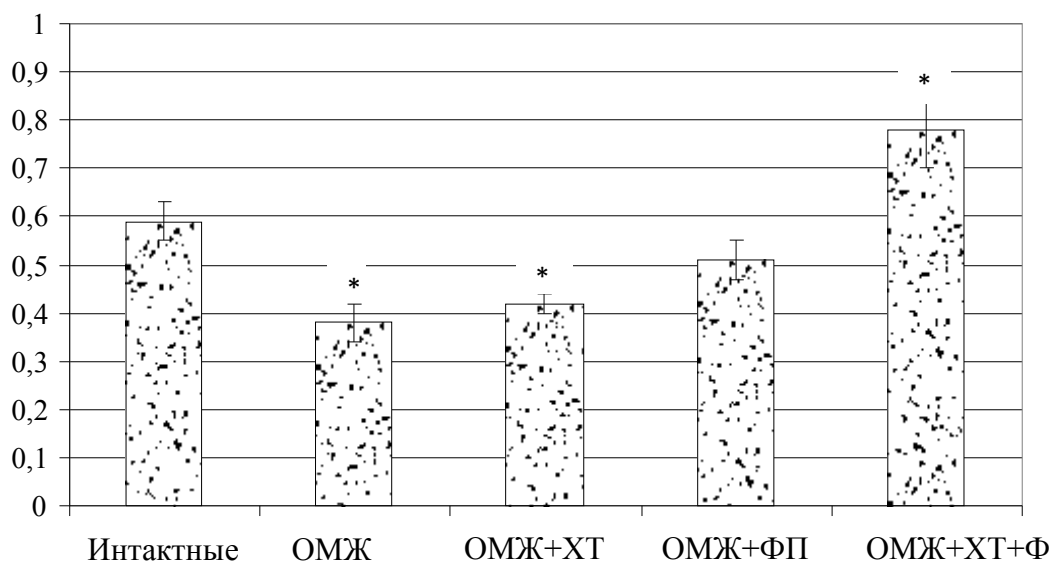


Рисунок 14 – Корково-мозговой индекс аксиллярных лимфатических узлов при опухоли молочной железы (ОМЖ), в условиях химиотерапии (ХТ) и фитокоррекции (Ф), фитопрофилактики (ФП) ($M \pm m$); *- достоверность отличия с нормой ($p < 0,05$)

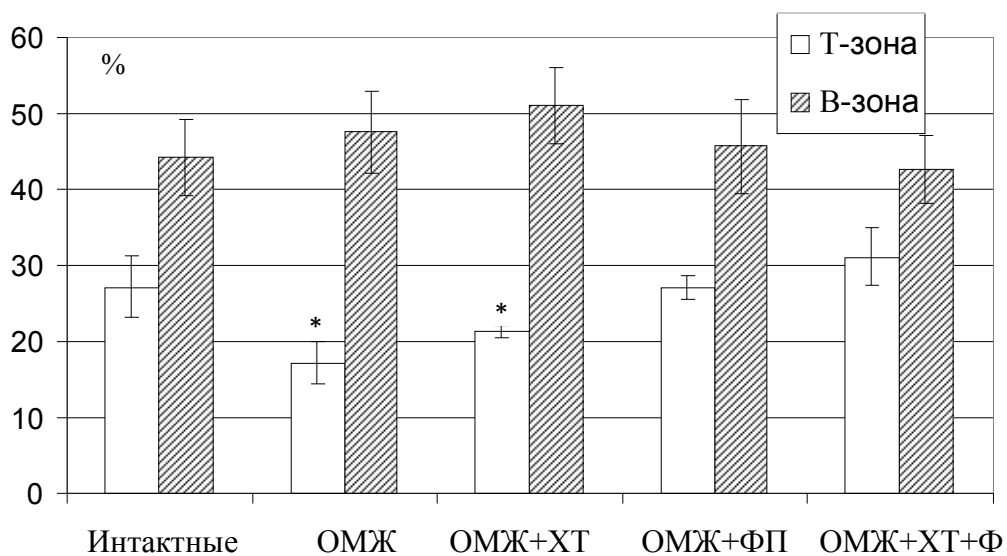


Рисунок 15 – Относительная площадь Т- и В-зависимых зон аксиллярных лимфатических узлов при опухоли молочной железы (ОМЖ), в условиях химиотерапии (ХТ) и фитокоррекции (Ф), фитопрофилактики (ФП) ($M \pm m$); *- достоверность отличия с нормой ($p < 0,05$)

ГЛАВА 6 МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКСИЛЛЯРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА ФОНЕ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ И ФИТОКОРРЕКЦИИ

6.1 Опухоль молочной железы

Микроскопически ОМЖ после неoadьювантной полихимиотерапии, дополненной фитокоррекцией чаще всего выявляется в виде кистозной полости с папиллярными разрастаниями, исходящими из стенки кисты. Строма ворсин скудная, эпителиальная выстилка представлена многорядным эпителием. Эпителиальные клетки полиморфные, имеют светлое, базально расположенное ядро с одним или несколькими ядрышками, атипичные митозы. Клетки дистрофически изменены: «разреженность» ядра, фестончатость краев клеток, обильная вакуолизация и зернистость цитоплазмы. Отдельные клетки в разрушенном, фрагментированном состоянии. В окружающей плотной строме определяется инфильтрирующий рост. Результаты морфометрии опухолевой ткани в условиях сочетанного использования химиотерапии и фитокоррекции (рисунок 16), свидетельствуют о преобладании стромы в опухоли ($60,84 \pm 2,12$) % над паренхимой ($39,60 \pm 1,14$)%, при этом в сравнении с группой без фитокоррекции площадь стромы возрастает на 54 %.

6.2 Аксилярный лимфатический узел

После неoadьювантной полихимиотерапии, дополненной фитокоррекцией, по сравнению с интактной группой, в аксиллярных лимфатических узлах площадь коркового вещества увеличивается на 18,5 % (таблица 2). В аксиллярном лимфатическом узле относительная площадь лимфоидных узелков со светлыми центрами увеличивается на 30,2 %.

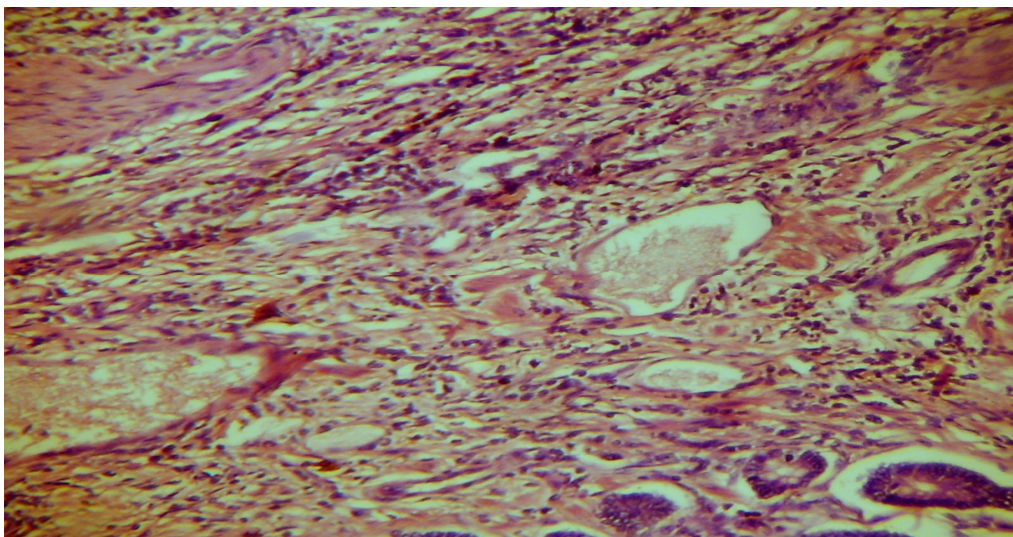


Рисунок 16 – Опухоль молочной железы после неoadъювантной полихимиотерапии, дополненной фитокоррекцией (интенсивное разрастание стромы, которая в опухоли преобладает над паренхимой; соединительной ткани). Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 400.

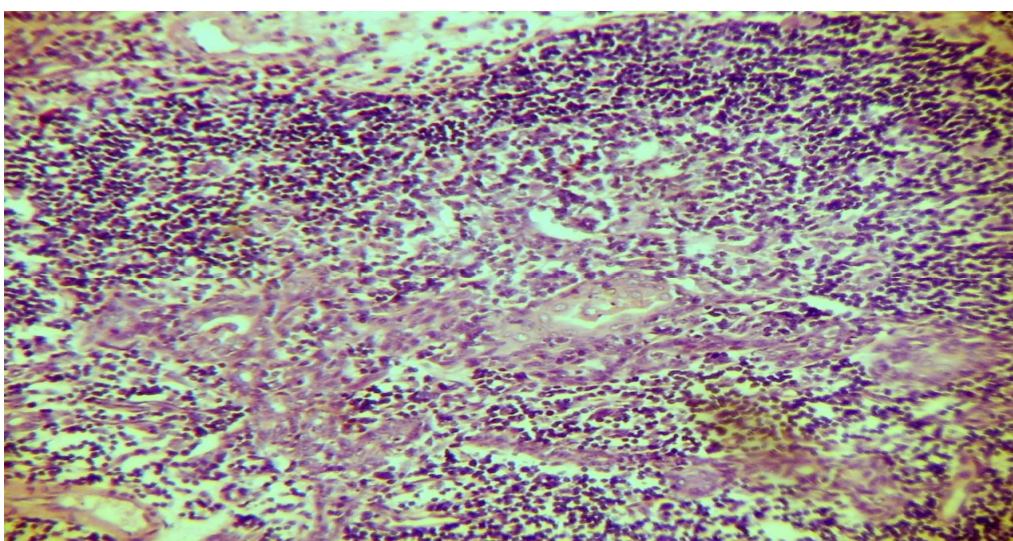


Рисунок 17 – Аксилярный лимфатический узел (фрагментированный тип) при экспериментальной ОМЖ половозрелых крыс-самок Wistar после неoadъювантной полихимиотерапии, дополненной фитокоррекцией (увеличение площади лимфоидных узелков со светлыми центрами, количества незрелых форм клеток, малых лимфоцитов). Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 800.

Тип строения и функционирования аксиллярных лимфатических узлов, как и у интактных животных соответствует фрагментированному (к/м индекс – 0,78) (рисунок 14, 17).

По сравнению с группой, не получающей лечения, в экспериментальной группе после неoadъювантной полихимиотерапии, дополненной фитокоррекцией, наблюдается увеличение тимусзависимой зоны, а также площади лимфоидных узелков со светлыми центрами на 80,8 % и 83,9 % соответственно. За счет уменьшения площади мозговых синусов на 29 %, снижен транспорт лимфы через лимфатический узел.

В таблице 3 приведена цитоархитектоника аксиллярных лимфатических узлов после неoadъювантной полихимиотерапии, дополненной фитокоррекцией, в сравнении с интактной группой. Исследование цитоархитектоники в структурных компонентах аксиллярных лимфатических узлов проводилось рядом с локализованными метастазами. В светлых центрах лимфоидных узелков увеличилось количество ретикулярных клеток – в 3,4 раза, малых лимфоцитов на 10,3 %, уменьшилось количество средних лимфоцитов, иммунобластов (рисунок 19), клеток на стадии митоза на 40 %, 62 % и 54,3 % соответственно. Количество опухолевых клеток составляло 3,58 % от общего количества клеток.

В паракортикальной зоне наблюдается уменьшение количества иммунобластов, макрофагов, средних лимфоцитов на 50,2 %, 31,6 % и 21,2 % соответственно. Количество опухолевых клеток составляло 1,66 % от общего количества клеток.

В мозговых тяжах отмечено увеличение количества средних лимфоцитов, макрофагов на 75,6 % и 48,1 % соответственно, нейтрофилов в 11 раз, иммунобластов в 4,8 раза, клеток на стадии митоза в 3,5 раза, незрелых плазматических клеток в 2 раза (рисунок 20). Количество зрелых плазматических клеток, ретикулярных клеток, малых лимфоцитов уменьшилась на 44,8 %, 39 % и 34,7 % соответственно. Количество опухолевых клеток составляло 3,22 % от общего количества клеток.

В мозговых синусах отмечено значительное увеличение количества нейтрофилов – в 8,2 раза и ретикулярных клеток – на 40,6 %, а количество зрелых плазматических клеток уменьшилось на 24 %. Количество опухолевых клеток составляло 3,39 % от общего количества клеток.

По сравнению с нелеченой группой, в цитоархитектонике структурно-функциональных зон аксиллярных лимфатических узлов экспериментальной группы после неoadъювантной полихимиотерапии, дополненной фитокоррекцией выявлено, что в светлых центрах лимфоидных узелков количество макрофагов, иммунобластов, средних лимфоцитов уменьшилось на 57,4 %, 50,2 % и 39,2 % соответственно, а количество ретикулярных клеток, малых лимфоцитов увеличилось на 49,2 % и 27,4 % соответственно, также возросло количество опухолевых клеток – в 2,3 раза. В паракортикальной зоне количество макрофагов и ретикулярных клеток уменьшилось на 59,7 % и 36,9 % соответственно. В мозговых тяжах количество нейтрофилов возросло в 10 раз, иммунобластов в 4 раза, клеток на стадии митоза в 3 раза, средних лимфоцитов в 2,1 раза, а количество незрелых плазматических клеток увеличилось на 44,8 %. Произошло уменьшение количества ретикулярных клеток, малых лимфоцитов и зрелых плазматических клеток на 57,5 %, 37,9 % и 23,5 % соответственно. В мозговых синусах количество нейтрофилов увеличилось в 12,8 раза, а малых лимфоцитов на 56,4 %, на фоне уменьшения количества макрофагов, иммунобластов, ретикулярных клеток, зрелых плазматических клеток на 62,2 %, 37 %, 31,7 % и 15,4 % соответственно.

6.3 Исследование кровотока

После неoadъювантной полихимиотерапии, дополненной фитокоррекцией по сравнению с интактной группой, при анализе доплерограмм отмечали увеличение показателя микроциркуляции на 12,1 %, индекса эффективности микроциркуляции – в 2 раза (таблица 4). Также было отмечено увеличение амплитуды $A_{\max}LF$ – на 72,9 %, что, как правило, происходит вследствие

активации миогенной активности вазомоторов (увеличением соотношения $A_{\max}LF/M$ – на 50 %). Амплитуды в других рассматриваемых частотных диапазонах ($A_{\max}CF$, $A_{\max}HF$) не имели достоверных отличий от интактной группы. Увеличение амплитуды $A_{\max}LF$ приводит к уменьшению вклада пассивного механизма (кардиального и дыхательного) регуляции капиллярного кровотока: уменьшается $A_{\max}CF/A_{\max}LF$ – на 60,3 %, $A_{\max}HF/A_{\max}LF$ – на 40 %. Причем, уменьшение вклада кардиального механизма регуляции капиллярного кровотока более выражено: уменьшалось соотношение $A_{\max}CF/\delta$ – на 50 %. По сравнению с нелеченой группой после курса неоадьювантной полихимиотерапии, дополненной фитокоррекцией анализ доплерограмм выявил увеличение показателя микроциркуляции на 30,7 %, а индекса эффективности микроциркуляции – на 38,5 %. Отмечалось увеличение амплитуды $A_{\max}LF$ на 27,4 %, в результате чего происходит уменьшение вклада пассивного механизма (кардиального и дыхательного) регуляции капиллярного кровотока: уменьшилось соотношение $A_{\max}CF/A_{\max}LF$ – на 41,5 %, $A_{\max}HF/A_{\max}LF$ – на 20 %. Причем, уменьшение вклада кардиального механизма регуляции капиллярного кровотока более выражено, так как уменьшалось соотношение $A_{\max}CF/\delta$ – на 45,5 %.

После неоадьювантной полихимиотерапии в сочетании с фитокоррекцией животных с ОМЖ структурно-функциональная организация аксиллярных лимфатических узлов соответствует фрагментированному типу. При этом корково-мозговое соотношение в данной группе животных превышает значение всех других экспериментальных групп. По сравнению с нелеченой группой, в данной группе выявлено увеличение площади лимфоидных узелков со светлыми центрами, тимусзависимой зоны до значений интактной группы, транспорт лимфы через акселлярный лимфатический узел понижен (уменьшена площадь мозговых синусов). В сравнении с группой, не получавшей лечение, отмечено активация пролиферации клеток плазматического ряда (увеличено количество незрелых форм клеток), активация процессов бласттрансформации клеток лимфоидного ряда (увеличивалось количество малых лимфоцитов), а также уменьшение количества макрофагов.

В опухоли наблюдалось интенсивное разрастание стромы, соединительной ткани, признаки кистозной трансформации опухоли, фрагментация опухолевых клеток, изменение типа опухоли с преобладанием в ней стромальных компонентов. Результаты лазерной доплеровской флоуметрии, по сравнению с нелеченой группой, выявили повышение уровня микроциркуляции, а также свидетельствуют о преобладании в микроциркуляции активного механизма регуляции капиллярного кровотока над пассивным (кардиальный и дыхательный). Причем, уменьшение вклада кардиального механизма регуляции капиллярного кровотока более выражено.

Таблица 4 – Показатель микроциркуляции (М) (пф.ед), индекс эффективности микроциркуляции (ИЭМ), среднеквадратическое отклонение (δ) (пф.ед), коэффициент вариации (K_v) (%), величины и соотношения амплитуд колебаний в красном диапазоне спектра излучения в молочной железе (МЖ) в норме, при экспериментальной опухоли молочной железы (ОМЖ) и в условиях химиотерапии (ХТ) и фитокоррекции (Ф), фитофилактики (ФП) ($M \pm m$)

Показатели кровотока	Интактные животные	Животные с (ОМЖ)	Животные с (ОМЖ + ФП)	Животные с (ОМЖ + ХТ)	Животные с (ОМЖ + ХТ + Ф)
М	$17,52 \pm 0,83$	$15,03 \pm 1,5$	$21,3 \pm 2,17^{***}$	$24,57 \pm 1,37^{***}$	$19,64 \pm 0,7^{***}$
δ	$0,92 \pm 0,18$	$0,93 \pm 0,18$	$0,82 \pm 0,09$	$1,19 \pm 0,16$	$1,21 \pm 0,29$
K_v	$5,3 \pm 0,56$	$7,13 \pm 0,7^*$	$3,81 \pm 0,13^{***}$	$4,92 \pm 0,48^{**}$	$6,14 \pm 0,9$
ИЭМ	$0,62 \pm 0,06$	$0,91 \pm 0,05^*$	$0,58 \pm 0,11^{**}$	$0,84 \pm 0,16^*$	$1,26 \pm 0,19^{***}$
$A_{\max}LF$	$0,7 \pm 0,11$	$0,95 \pm 0,08^*$	$0,63 \pm 0,15^{**}$	$1,04 \pm 0,14^*$	$1,21 \pm 0,16^{***}$
$A_{\max}HF$	$0,57 \pm 0,16$	$0,61 \pm 0,05$	$0,44 \pm 0,06^{**}$	$0,58 \pm 0,07$	$0,63 \pm 0,11$
$A_{\max}CF$	$0,55 \pm 0,13$	$0,51 \pm 0,08$	$0,63 \pm 0,18$	$0,79 \pm 0,15^{**}$	$0,36 \pm 0,08$
$A_{\max}CF/A_{\max}LF$	$0,78 \pm 0,05$	$0,53 \pm 0,04^*$	$1,04 \pm 0,12^{***}$	$0,8 \pm 0,19^{**}$	$0,31 \pm 0,07^{***}$
$A_{\max}HF/A_{\max}LF$	$0,86 \pm 0,12$	$0,65 \pm 0,06^*$	$0,73 \pm 0,06$	$0,56 \pm 0,07^*$	$0,52 \pm 0,03^{***}$
$A_{\max}LF/M$	$0,04 \pm 0,004$	$0,06 \pm 0,005^*$	$0,03 \pm 0,005^{***}$	$0,04 \pm 0,003^{**}$	$0,06 \pm 0,004^*$
$\delta/A_{\max}LF$	$1,31 \pm 0,19$	$0,98 \pm 0,13^*$	$1,3 \pm 0,2$	$1,14 \pm 0,12$	$1,0 \pm 0,15$
$A_{\max}CF/\delta$	$0,6 \pm 0,11$	$0,55 \pm 0,08$	$0,77 \pm 0,12^{**}$	$0,66 \pm 0,09$	$0,3 \pm 0,06^{***}$
$A_{\max}HF/\delta$	$0,62 \pm 0,13$	$0,66 \pm 0,09$	$0,54 \pm 0,06$	$0,49 \pm 0,05^{**}$	$0,52 \pm 0,09$
Примечания: * – достоверность отличия с нормой ($p < 0,05$); ** – достоверность отличия с нелеченой группой животных ($p < 0,05$)					

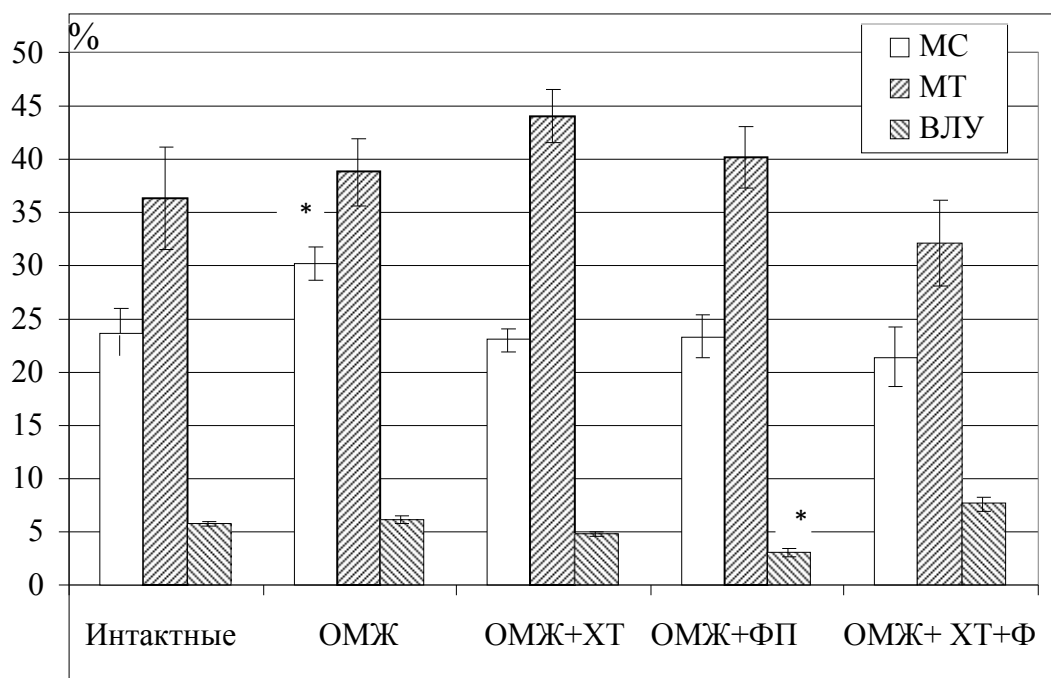


Рисунок 18 – Относительная площадь мозговых тяжей (MT) и синусов (MC), вторичных лимфоидных узелков (ВЛУ) аксиллярных лимфатических узлов при опухоли молочной железы (ОМЖ), в условиях химиотерапии (ХТ) и фитокоррекции и (Ф), фитопрофилактики (ФП) ($M \pm m$); * – достоверность отличия с нормой ($p < 0,05$)

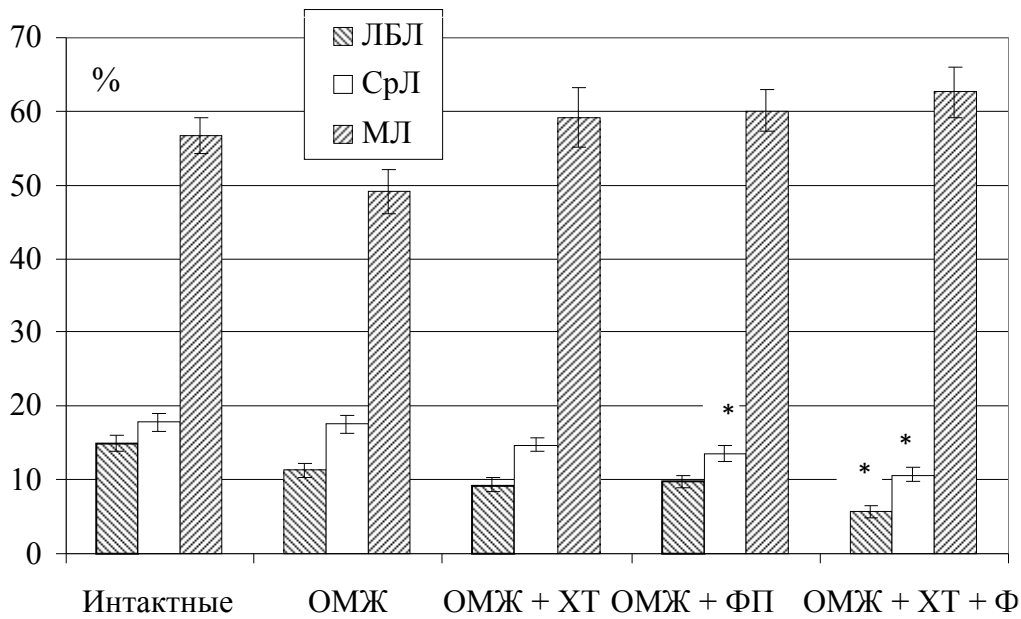


Рисунок 19 – Количество иммунобластов (ИБЛ), средних (СрЛ) и малых (МЛ) лимфоцитов в светлых центрах аксиллярных лимфатических узлов при опухоли молочной железы (ОМЖ), в условиях химиотерапии (ХТ) и фитокоррекции (Ф), фитопрофилактики (ФП) ($M \pm tm$); * – достоверность отличия с нормой ($p < 0,05$)

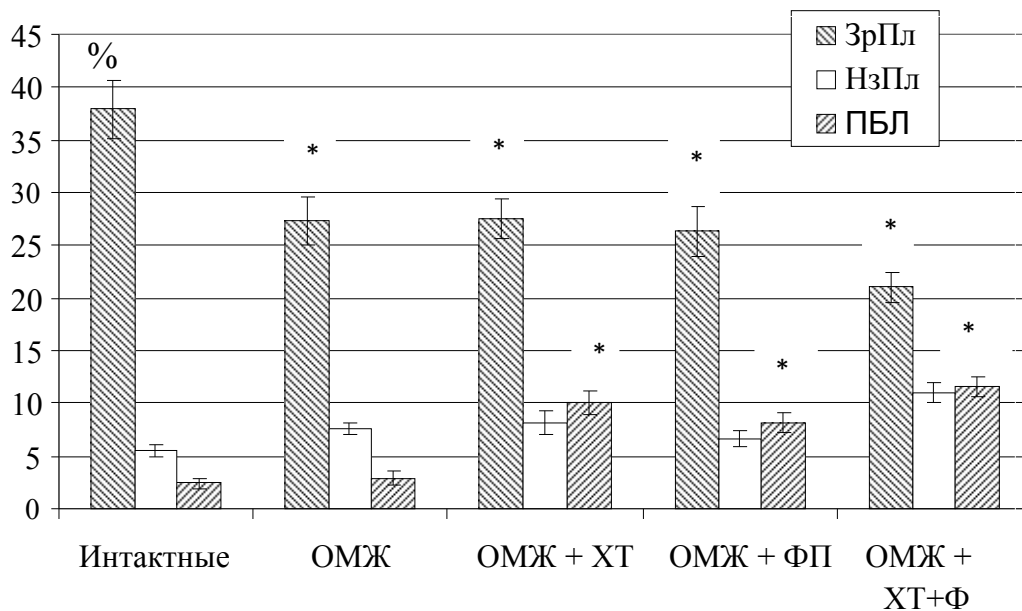


Рисунок 20 – Численность иммунобластов (ИБЛ), зрелых (ЗрПл) и незрелых (НзПл) плазматических клеток в мозговых тяжах аксиллярных лимфатических узлов при опухоли молочной железы (ОМЖ), в условиях химиотерапии (ХТ) и фитокоррекции (Ф), фитопрофилактики (ФП) ($M \pm tm$); * – достоверность отличия с нормой ($p < 0,05$)

ГЛАВА 7 МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКСИЛЛЯРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ ПРИМЕНЕНИИ ФИТОКОМПЛЕКСА В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

7.1 Опухоль молочной железы

Профилактическое применение фитокомплекса при индукции ОМЖ (на протяжении всего периода роста опухоли – 6 месяцев) приводит к перестройке тканевой архитектоники опухоли, которая может развиваться в 2-х основных вариантах.

В первом варианте выявляется гиперплазия долек МЖ, которые становятся увеличенными в размерах и имеют неправильную форму. Количество долек возрастает. Четко определяются внутريدольковые протоки (рисунок 21). Железы выстланы двумя рядами эпителиальных и одним рядом миоэпителиальных клеток. Эпителий высокий с обильной вакуолизированной цитоплазмой. Ядра гиперхромные, темно окрашенные, с глыбчатым распределением хроматина, содержат по одному ядрышку. Встречаются митозы. Между гиперплазированными дольками лежат разнокалиберные, иногда – кистозно расширенные протоки. Протоки выстланы несколькими рядами клеток кубического эпителия с темноокрашенными гиперхромными ядрами, необильной цитоплазмой. Встречаются митозы. Внутри протоков определяется базофильный секрет.

Во втором варианте микроскопически определяется резкое нарушение архитектоники ткани МЖ. Дольки значительно увеличены в размерах, неправильной формы и представляют собой солидно-железистые пласты с формированием криброзных структур (рисунок 22). Клетки полиморфные с тёмноокрашенными, гиперхромными ядрами с грубым, неравномерно распределенным хроматином, с одним или несколькими ядрышками. Цитоплазма

вакуолизирована. Часто встречаются митозы. Соединительнотканый каркас, оплетающий каждую железистую структуру, присутствует не всегда. Правильная послойность выстилки в железах нарушена: количество рядов эпителиальных клеток увеличено до 3–4-х, миоэпителиальная выстилка часто отсутствует. Иногда клетки лежат разрозненно, не образуя железистых структур. На отдельных участках определяется инфильтрация клеток за пределы дольки. Протоки расширены, разнокалиберные, неправильной формы, выстланы несколькими рядами (от 2-х до 5-ти) относительно мономорфных эпителиальных клеток с гиперхромными ядрами. Протоки лежат хаотично, погружены в плотную фиброзную строму.

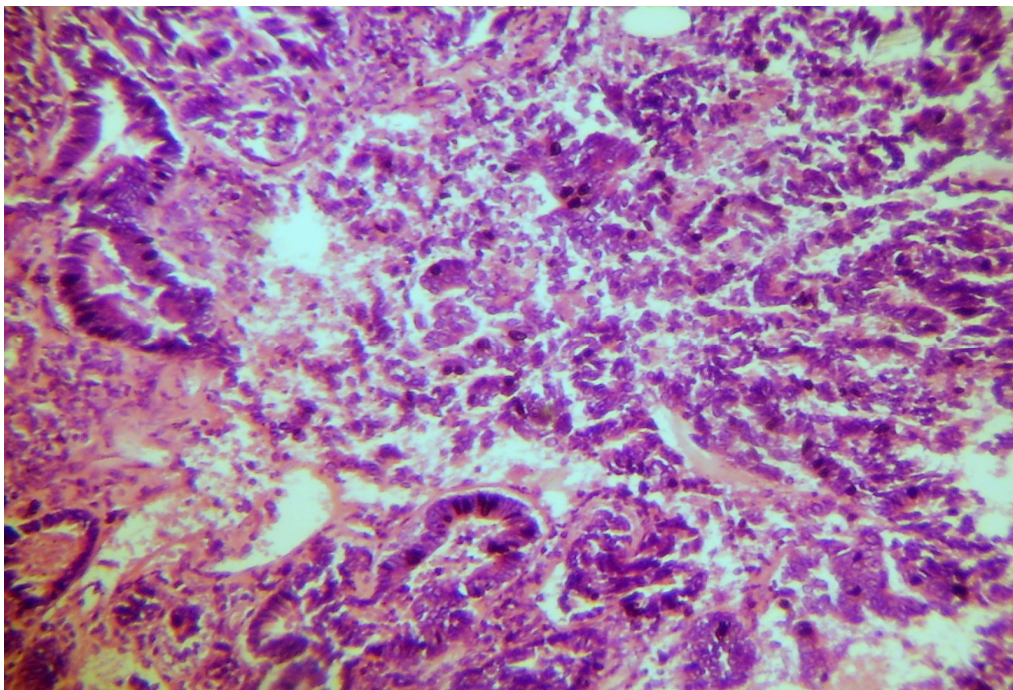


Рисунок 21 – Опухоль молочной железы на фоне профилактического применения фитокомплекса при экспериментальной опухоли молочной железы половозрелых крыс-самок Wistar (типичная и атипичная гиперплазия ткани молочной железы).

Окрашивание гематоксилином-эозином. Ув. 400.

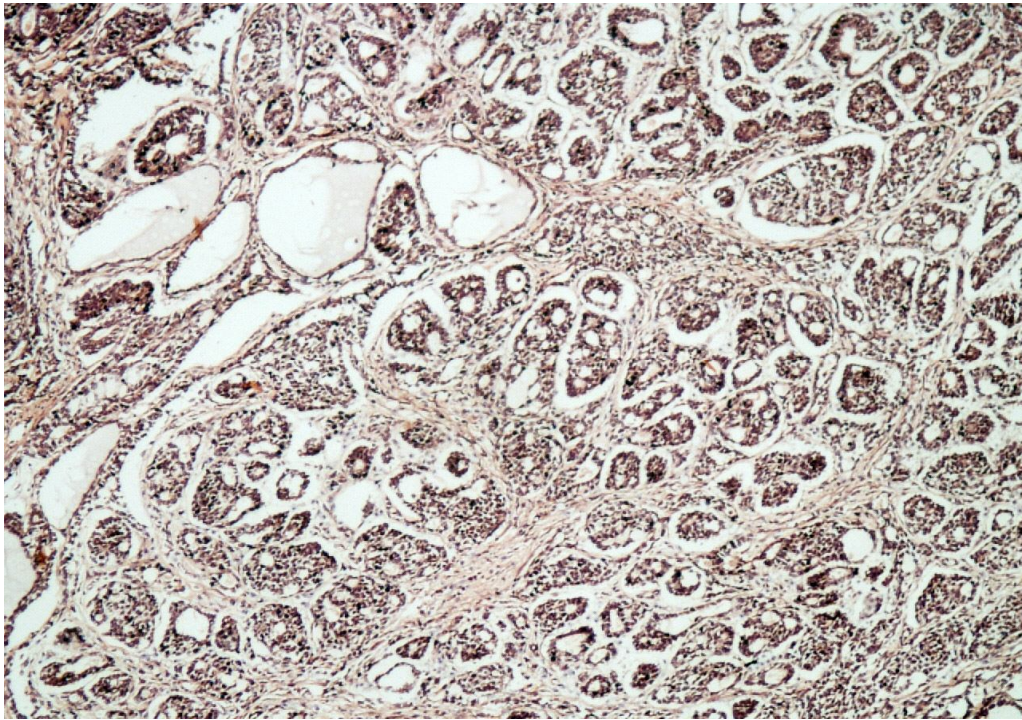


Рисунок 22 – Опухоль молочной железы на фоне профилактического применения фитокомплекса при экспериментальной опухоли молочной железы половозрелых крыс-самок Wistar (внутридольковый неинфильтрирующий рак молочной железы). Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 400.

Результаты морфометрии опухолевой ткани на фоне профилактического введения фитокомплекса на протяжении индукции опухоли, свидетельствуют о преобладании стромы в опухоли ($54,82 \pm 1,92$) % над паренхимой ($45,18 \pm 1,64$) %, при этом в сравнении с группой без фитопрофилактики площадь стромы возрастает на 21 %.

7.2 Аксиллярный лимфатический узел

Прием фитокомплекса во время роста опухоли при экспериментальном канцерогенезе МЖ ведет к тому, что в аксиллярных лимфатических узлах выявлено увеличение площади лимфоидных узелков без светлых центров на 70,7 % и уменьшение площади лимфоидных узелков со светлыми центрами на 46,8 % по сравнению с интактной группой. Аксиллярные лимфатические узлы по

своей структурно-функциональной организации соответствуют фрагментированному типу (к/м индекс – 0,51) (рисунок 14, 23). Краевой синус сужался – площадь уменьшилась на 28 %, а площадь капсулы лимфатического узла уменьшалась на – 30 % (таблица 2).

В сравнении с группой без лечения, у данной группы в лимфатических узлах отмечается увеличение коркового вещества на 25,6 %, вследствие увеличения площади паракортикальной зоны – на 57,7 % (рисунок 15). Площадь лимфоидных узелков со светлыми центрами уменьшалась на 49,4 %, коркового плато – на 18,5 %. Снизился транспорт лимфы через лимфатический узел: уменьшалась площадь краевого и мозговых синусов на 38,1 % и 22,7 % соответственно (рисунок 18).

Цитоархитектоника аксиллярных лимфатических узлов на фоне профилактического применения фитокомплекса при ОМЖ превидена в таблице 3. В светлых центрах лимфоидных узелков наблюдалось увеличения количества макрофагов, ретикулярных клеток на 87,4 % и 49,3 % соответственно, а также уменьшение количества иммунобластов, средних лимфоцитов на 34,3 % и 24 % соответственно (рисунок 19, 24). Опухолевых клеток не обнаружено.

В паракортикальной зоне также наблюдалось уменьшение количества макрофагов, иммунобластов на 45 % и 36,5 % соответственно. Опухолевых клеток не выявлено.

В мозговых тяжах отмечено увеличение количества макрофагов, средних лимфоцитов, зрелых плазматических клеток на 89,4 %, 35,6 % и 30,6 % соответственно, а нейтрофилов и иммунобластов в 7,8 и 3,4 раза соответственно. Опухолевых клеток не выявлено.

В мозговых синусах отмечено увеличение количества иммунобластов на 53,2 %, средних лимфоцитов – на 14,6 %, а нейтрофилов – в 7,7 раза. Количество макрофагов снижено на 42,8 %. Опухолевых клеток не выявлено.

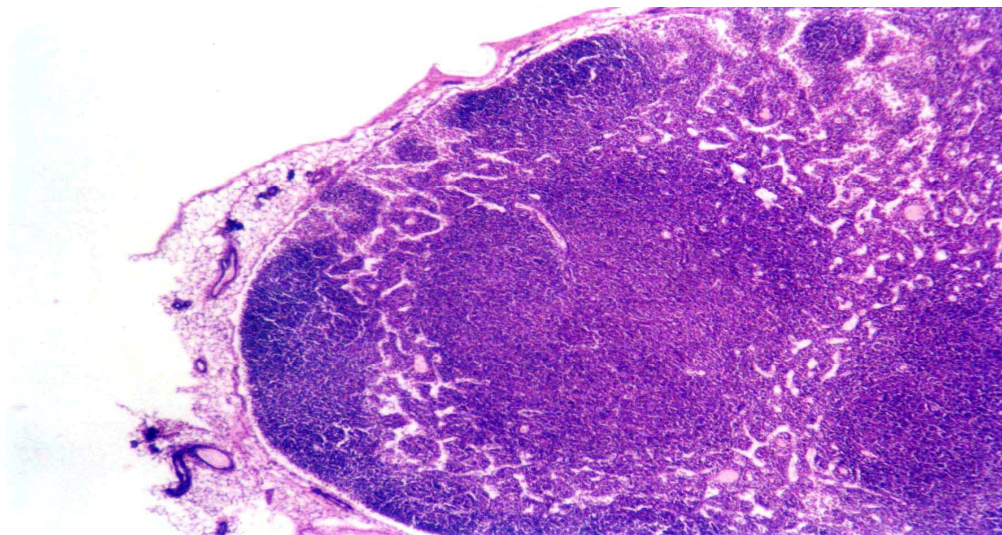


Рисунок 23 – Аксиллярный лимфатический узел на фоне профилактического применения фитокомплекса при росте экспериментальной опухоли молочной железы у половозрелых крыс-самок Wistar (увеличение Т-зависимой зоны, уменьшение площади мозговых и краевого синусов) – фрагментированный тип.

Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 800.

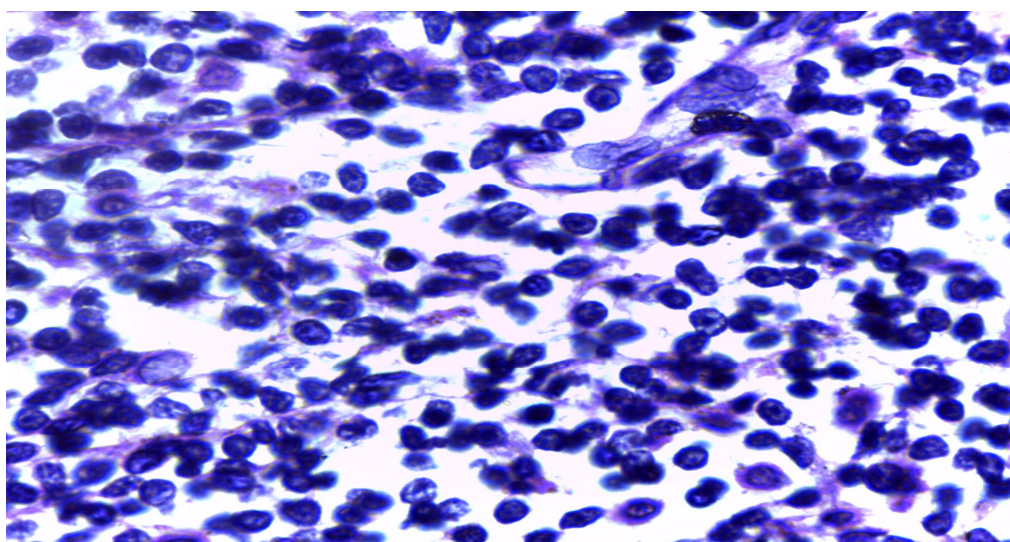


Рисунок 24 – Иммунобласты, малые лимфоциты, макрофаги, ретикулярные клетки и средние лимфоциты аксиллярного лимфатического узла на фоне применения фитокомплекса при росте экспериментальной опухоли молочной железы у половозрелых крыс-самок Wistar. Опухолевые клетки отсутствуют.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 800.

В сравнении с группой контроля по ОМЖ, в цитоархитектонике структурно-функциональных зон аксиллярных лимфатических узлов данной группы особей отмечено, что в мозговых синусах возрастание количества нейтрофилов – в 12 раз, средних и малых лимфоцитов на 66,2 % и 41,1 % соответственно, зрелых плазматических клеток – на 25,7 %, а также уменьшение количества макрофагов, ретикулярных клеток, иммунобластов и незрелых плазматических клеток – на 68,7 %, 62,4 %, 28,8 % и 25 % соответственно. В мозговых тяжах отмечается увеличение количества нейтрофилов, иммунобластов в 7,2 и 2,8 раза соответственно, средних лимфоцитов – на 62,5 %, при одновременном уменьшении количества ретикулярных клеток – на 31,4 %. В светлых центрах лимфоидных узелков происходит уменьшение количества ретикулярных клеток, средних лимфоцитов, иммунобластов на 34,3 %, 23 % и 13,7 % соответственно, увеличение количества малых лимфоцитов на 22,2 %. В паракортикальной зоне увеличилось количество средних лимфоцитов на 21 %.

7.3 Исследование кровотока

При профилактическом применении фитокомплекса при экспериментальном канцерогенезе МЖ, в сравнении с интактной группой, анализ доплерограмм выявил увеличение показателя микроциркуляции на 21,6 %, уменьшение коэффициента вариации на 28 %. На фоне недостоверных отличий амплитуды в рассматриваемых частотных диапазонах ($A_{\max}LF$, $A_{\max}CF$, $A_{\max}HF$). Отмеченное уменьшение соотношения $A_{\max}LF/M$ на 25 % может свидетельствовать о снижении миогенной активности вазомоторов (таблица 4).

По сравнению с группой с ОМЖ в условиях профилактического применения фитокомплекса анализ доплерограмм выявил увеличение показателя микроциркуляции на 41,7 %, уменьшение коэффициента вариации на 46,6 %, индекса эффективности микроциркуляции на 36,3 %. Отмечалось уменьшение амплитуд $A_{\max}LF$ на 33,7 %, $A_{\max}HF$ на 28 %. Уменьшение амплитуды $A_{\max}LF$ приводило к снижению миогенной активности вазомоторов (уменьшается

соотношение $A_{\max}LF/M$ на 50 %), увеличению вклада кардиального механизма регуляции капиллярного кровотока: увеличению соотношения $A_{\max}CF/A_{\max}LF$ на 96,2 %, а $A_{\max}CF/\delta$ на 40 %.

При профилактическом применении фитокомплекса в процессе роста экспериментальной ОМЖ в аксиллярных лимфатических узлах тип структурно-функциональной организации соответствовал фрагментированному. По сравнению с группой с опухолью без фитопрофилактики, в данной группе особей были выявлены более выраженные, чем при химиотерапии структурные признаки активации клеточного звена иммунитета (площадь тимусзависимой зоны увеличена до значений интактной группой) и уменьшение площади лимфоидных узелков со светлыми центрами, а также уменьшение транспортного потенциала лимфатического узла (уменьшалась площадь мозговых и краевого синусов). В структурных компонентах аксиллярных лимфатических узлов, в отличие от экспериментальной группы с химиотерапией, выявлено отсутствие опухолевых клеток. По сравнению с группой с опухолью без различной коррекции, отмечается активация процессов бласттрансформации клеток лимфоидного ряда (увеличивается число малых лимфоцитов) и активация процессов пролиферации клеток плазматического ряда (увеличивается число иммунобластов в мозговых тяжах), количество макрофагов не имеет достоверных отличий от значений интактной группы.

Наблюдается трансформация и деструкция опухолевой ткани, в сравнении с группой без профилактического воздействия. Архитектоника опухоли (тканевой и клеточный атипизм) характеризуется более высокой дифференцировкой и полиморфизмом клеточных и тканевых структур, свидетельствующих об изменении степени ее зрелости, замедлении темпов роста, дистрофических изменениях ткани опухоли.

Результаты исследование кровотока в условиях профилактического применения фитокомплекса при опухолевом росте, по сравнению с экспериментальной группой без коррекции, выявили снижение миогенной активности вазомоторов, увеличение вклада кардиального механизма регуляции капиллярного кровотока.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Отмеченная во всем мире тенденция увеличения числа РМЖ у женщин является актуальной проблемой для изучения способов профилактики данной патологии. Так, последние 20 лет прирост заболеваемости РМЖ ежегодно составил 2 % не зависимо от возраста женщин. Несмотря на достигнутые успехи в онкологии к настоящему моменту, заболеваемость РМЖ, снижение качества жизни больных представляют собой социальную проблему. Ежегодно в мире выявляют около 1 млн. новых случаев РМЖ. С 1980 года в России рак молочной железы занимает первое место среди злокачественных опухолей у женщин, составляя в данное время 20,5% от общего числа онкологических заболеваний [161]. Согласно отчетам ВОЗ, РМЖ – это основная причина смертности среди женщин в возрасте от 40 до 55 лет [51; 95; 93; 106; 119; 171]. До настоящего времени основным методом лечения локализованных и местно-распространенных форм РМЖ остается хирургический. Одним из звеньев генерализации неопластического процесса является метастазирование опухолевых клеток в лимфатические узлы. При этом появлению новых метастазов предшествуют нарушения структуры и функции регионарных лимфатических узлов [154, 159, 161, 191].

Причиной аксиллярной лимфодиссекции является частое лимфогенное распространение РМЖ на регионарные лимфатические узлы, при отсутствии достоверных методов определения их состояния. В ходе прогрессирования опухоли в регионарных лимфатических узлах выявляются определенные морфологические и функциональные изменения [168; 175]. В 47–50 % случаев онкологи не могут достоверно выявить наличие или отсутствие в них метастазов, оценивая состояние лимфатических узлов аксиллярного коллектора [93; 175; 248; 225; 244]. Сообщается о повышении диагностики наличия метастазов в регионарных лимфатических узлах до 58,6–97 % при проведении тонкоигольной биопсии лимфатических узлов аксиллярной области под контролем ультразвукового исследования [248; 249]. И все же при малых размерах

лимфатических узлов менее 1 см не удастся достичь даже при такой методике диагностики метастазирования опухолевых клеток в регионарные лимфатические узлы – достоверность обоих методов составляет порядка 44 % [218; 261]. С целью более объективной оценки определения состояния лимфатических узлов аксиллярного коллектора предложено применение биопсии близлежащих лимфатических узлов [198]. Полученные результаты оценки состояния близлежащих лимфатических узлов таким методом показали увеличение точности диагностики метастазирования при опухолях [251; 223; 250; 201]. Показано, что синусовый гистиоцитоз тормозит диссеминацию опухолевых клеток и увеличение лимфоидной гиперплазии в регионарных лимфатических узлах на начальных стадиях РМЖ [168]. Полагают, что через воздействие на лимфатические структуры, можно ослабить неблагоприятное влияние внешней среды или активировать саногенные свойства лимфатической системы [126; 20; 79]. Недостаточно литературных сведений о наличии взаимосвязи функционирования иммунной системы с изменениями морфологии в регионарных лимфатических узлах при РМЖ [150].

Лимфатическая система, являясь одной из основных специализированных и саморегулирующихся систем, занимает важное место в комплексной оценке механизма биологического действия на организм различных дестабилизирующих факторов, принимает активное участие в жизнедеятельности органов и тканей, их эндозкологии, патогенезе и саногенезе [21; 134].

Полученные нами данные в ходе исследования строения и функционирования регионарных лимфатических узлов МЖ крыс-самок Wistar (аксиллярные лимфатические узлы 1-го порядка) в норме показали, что они относятся к фрагментированному типу структурно-функциональной организации (к/м индекс – 0,59) [22]. Можно отметить выраженную транспортную функцию аксиллярных лимфатических узлов крыс в норме. Цитоархитектоника структурно-функциональных зон лимфатических узлов выявила признаки пролиферации, бласттрансформации и макрофагальной реакции.

В норме количество МЖ у крыс-самок обычно 12, 6 пар – три грудных, одна брюшная и две паховые пары. В нашей работе мы исследовали 2-ю грудную МЖ справа. Паренхима МЖ крыс в норме состоит из долек, последние из желез. Млечные протоки у крыс открываются на поверхности соска. Проведенное нами иммуногистохимическое исследование сосудов МЖ в норме у половозрелых крыс-самок Wistar показало, что площадь сечения кровеносных сосудов на тестовую площадь $38285\mu\text{m}^2$ ($M \pm m$) составляет $(198 \pm 16,0)$, а лимфатических – $(87 \pm 14,5 \mu\text{m}^2)$.

Исследование в коже в области ареолы МЖ интактных животных показало преобладание в модуляции кровотока пассивного механизма (респираторно-пульсовые флуктуации кровотока) над активным механизмом (вазоконстрикторные модуляции флуктуации кровотока).

Таким образом, исследование структуры аксиллярного лимфатического узла крыс интактной группы выявило фрагментированный тип структурно-функциональной организации, характеризующийся более активной транспортной функцией. В МЖ в норме преобладает количество кровеносных сосудов, над лимфатическими сосудами, кровоток в прилежащих к МЖ тканях синхронизирован с физиологическим ритмом дыхания и сокращения сердечной мышцы.

Мы использовали экологически обусловленную модель канцерогенеза. Химические канцерогены ответственны за возникновение до 80–90 % опухолей человека. Нитрозосоединения (НС) и нитрамины – химические бластомогены (канцерогены) прямого канцерогенного действия (N-метилнитрозоуретан, метилнитрозомочевина, N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанидин) используются при производстве лако-красящих веществ, медикаментов, полимеров, антиоксидантов, растворителей, антикоррозийных средств. Метаболиты НС через алкилирование, карбомоилирование, гуанидирование вызывают поперечные сшивки в ДНК, что обеспечивает канцерогенный эффект [136].

Через 6 месяцев от момента индукции МНМ в МЖ крыс-самок Wistar визуально наблюдается образование экспериментальной опухоли молочной

железы, с выраженными признаками злокачественности. Микроскопически опухоль представлена множеством железистых разнокалиберных структур (от мелких розеток, до неправильной формы кистозных полостей), формирующих «причудливую» сеть. Железы выстланы эпителиальными клетками, расположенными в один, а иногда – в 2, 3 и более рядов. Наряду с железисто-солидными, криброзными и тубулярными структурами клетки опухоли формируют мелкие сосочковые структуры. Строма опухоли скудная, представлена единичными коллагеновыми волокнами. Клетки опухоли среднего размера, овальной или округлой формы, полиморфные, с умеренно гиперхромными ядрами, содержащими от 1-го до 3-х ядрышка. Отдельные фрагменты опухоли характеризуется наличием кистоподобных образований, выстланных клетками наподобие эндотелия и окруженных полями фибробластоподобных клеток. Хорошо выражена лимфоплазмоцитарная инфильтрация, локализующаяся, преимущественно, по ходу сосудов. Встречаются обширные очаги некроза и кровоизлияний, много патологических митозов. Таким образом, опухоль по своему строению представляет собой аденокарциному. Результаты морфометрии опухолевой ткани, свидетельствуют о преобладании паренхимы в опухоли ($59,22 \pm 1,42$) % над стромой ($40,78 \pm 1,18$) %.

В ходе мастэктомии при РМЖ удаляют клетчатку и лимфатические узлы зон регионарного метастазирования. В практике онкологов при наличии показаний для проведения аксиллярной лимфодиссекции иссекают все аксиллярные лимфатические узлы, включая три уровня лимфооттока по Бергу [245], что связано с высоким риском пропустить метастазирование в отдаленные лимфатические узлы при РМЖ. При дальнейшем патогистологическом исследовании удаленных лимфатических узлов не во всех группах выявляются метастазы. Многие авторы показали, что при отсутствии метастазов в «сторожевом узле» не выявляются метастазы в отдаленных лимфатических узлах, а обнаружение метастазов показание к выполнению аксиллярной лимфаденэктомии [263; 250; 245].

В данной работе проведено исследование «сторожевых» аксиллярных лимфатических узлов 1-го порядка при ОМЖ. «Сторожевым» называли лимфатический узел, в который в первую очередь осуществлялся отток лимфы от опухоли. Это подтвердил метод инъекционной наливки тушью через 2-ю МЖ справа крыс-самок Wistar. При инъекции в первую очередь окрашивается наиболее каудально расположенный лимфатический узел (первого порядка) из 3–4 аксиллярных лимфатических узлов крыс. При ОМЖ в аксиллярных лимфатических узлах нами выявлены метастазы во всех структурных компонентах лимфатического узла: опухолевые клетки составляют: в светлых центрах – 1,53 %, в паракортикальной зоне – 1,96 %, в мозговых тяжах – 3,19 %, в мозговых синусах – 3,37 % от общего количества клеток.

Онкологи при РМЖ у женщин также наблюдают схожую картину метастазирования в регионарные аксиллярные лимфатические узлы с формированием различных типов метастазов. Подавляющая часть метастазов при РМЖ в регионарных лимфатических узлах отмечается при лимфоидноклеточном опустошении Т- и В-зависимых зон [110].

Исследование цитоархитектоники в структурных компонентах аксиллярных лимфатических узлов крыс при ОМЖ проводилось непосредственно рядом с местами локализации метастазов. Анализ морфологической структуры аксиллярных лимфатических узлов выявил увеличение на 19,6 % общей площади срезов лимфатических узлов относительно интактной группы животных, площадь коркового вещества уменьшается на 25,8 %, а мозгового увеличивается – на 15,1 %. Относительная площадь лимфоидных узелков без светлых центров увеличивается на 73,3 %, также выявлена тенденция к увеличению лимфоидных узелков со светлыми центрами.

Показано, что при РМЖ у женщин в аксиллярных лимфатических узлах происходит увеличение относительной площади первичных и вторичных лимфоидных узелков. Прогрессия опухоли идет на фоне хронического воспаления, а ее прорастание в окружающую ткань ведет к деструкции и некрозу этих тканей [100]. Это способствует притоку в региональные лимфатические узлы

многоклеточного и тканевого детрита. В ответ на антигенную нагрузку В-лимфоциты коркового слоя начинают интенсивно делиться и формируются фолликулы без центров размножения.

В данном исследовании в аксиллярных лимфатических узлах показано увеличение площади мозговых синусов на 28 %, признаки синусного гистиоцитоза [177], что может свидетельствовать о переполнении синусной системы лимфатических узлов лимфой, лимфостазе, аналогично тому, как было показано в работе авторов при ультразвуковой оценке состояния аксиллярных лимфатических узлов у больных РМЖ [191]. В лимфатических узлах нами были выявлены структурные признаки угнетения клеточного звена иммунитета (уменьшалась площадь тимусзависимой зоны на 36,8 %), снижения активности процессов пролиферации и бласттрансформации клеток лимфоидного ряда (уменьшалось количества иммунобластов, средних и малых лимфоцитов), на фоне усиления процессов пролиферации клеток плазматического ряда (увеличивалось количество иммунобластов и незрелых плазматических клеток).

Также нами наблюдалась выраженная макрофагальная реакция во всех структурных зонах аксиллярных лимфатических узлов (лимфоидные узелки со светлыми центрами, паракортикальная зона, мозговые тяжи и синусы), выражающаяся в достоверном увеличении количества макрофагов в них, это указывает на активацию фазы распознавания и кооперации клеточного звена иммунитета [122; 247]. Полученные нами экспериментальные данные согласуются с точкой зрения о роли элементов естественной цитотоксичности (ЕЦТ) в противоопухолевой защите организма [181; 180; 182; 183]. Основными клеточными элементами ЕЦТ являются естественные (натуральные) киллерные клетки (ЕКК), мононуклеарные фагоциты (моноциты и МФ), Т-лимфоциты, а также полиморфноядерные нейтрофилы [147; 183; 264]. Первым звеном ЕЦТ являются ЕКК и мононуклеарные фагоциты, которые способны лизировать чужеродные клетки, без рестрикции по главному комплексу гистосовместимости, непосредственно, а также опосредованно через продукцию цитокинов, включая ИФН- γ [81; 170], ФНО- α [61], ИЛ-1 [112; 229]. Показана важная роль оксида

азота, продуцируемого в большом количестве МФ, в обеспечение цитотоксической активности макрофагов [197]. Помимо клеток первого звена противоопухолевой защиты организма, ЕКК и мононуклеарных фагоцитов, важная роль в противоопухолевом иммунитете отводится Т- и В-лимфоцитам, полиморфноядерным нейтрофилам, а также тромбоцитам [32; 47; 180; 182; 183]. С другой стороны, субпопуляции Т-хелперов (Th1 и Th2) отводится роль главных регуляторов иммунного ответа из-за их способности продуцировать широкий спектр цитокинов [131].

Таким образом, на основании исследований можно заключить, что структурные преобразования в регионарных к опухоли, аксиллярных лимфатических узлах свидетельствуют о затруднении транспорта лимфы через них, лимфостазе (увеличение общей площади срезов, площади мозговых синусов), гипоплазии паракортикальной зоны, умеренной фолликулярной реакции, что является характерными признаками угнетения местного противоопухолевого иммунитета [176].

Результаты исследования кровотока (лазерная доплеровская флоуметрия) при ОМЖ показали высокую степень васкуляризации ОМЖ. Об этом свидетельствует повышение уровня микроциркуляции, вазомоторной активности микрососудов в участке коже, расположенном в пограничной с опухолью области увеличены коэффициент вариации на 34,52 %, индекс эффективности микроциркуляции – на 46,8 %, возрастает миогенная активность вазомоторов на 50 %, снижается сосудистый тонус – на 25,2 %. При сформировавшейся опухоли у крыс изменяется кровоток в пограничной области, так на границе со здоровыми тканями отмечено усиление кровотока сопровождается ослаблением тонуса сосудов.

Иммуногистохимическое исследование кровеносных и лимфатических сосудов в ОМЖ показало, что площадь кровеносных сосудов превышает в 2,2 раза, а площадь лимфатических сосудов почти в 3 раза аналогичные параметры у интактных животных. При этом наблюдается окрашивание и люминесценция как анатомически оформленных крупных сосудов, так и расширенных мелких

лимфатических капилляров (прерывистое слабое люминесцентное свечение клеток лимфатического эндотелия), что позволило нам их дифференцировать. Наши результаты не противоречат данным других исследователей [41].

Таким образом, при анализе полученных данных выявлено, что при экспериментальной опухоли у крыс выявлена характерная перестройка сосудисто-стромального компонента, спонгизация тканей, стаз лимфы. Регионарный эндотоксикоз и системный эндотоксикоз, формирующийся при опухолевом росте, вызывает более выраженное повреждающее действие на структурную организацию регионарного аксиллярного лимфатического узла, что приводит к угнетению местного иммунного ответа, нарушению их барьерно-детоксикационной и дренажной функции с дальнейшей генерализации процесса.

Неoadъювантная полихимиотерапия злокачественных опухолей преследует главной целью снижение интенсивности пролиферации или индукцию необратимых повреждений в опухолевых клетках, приводящих к их гибели. Словосочетание «неoadъювантная полихимиотерапия» в широком смысле отражает все виды лекарственного лечения злокачественных новообразований и лейкозов, связанного с влиянием фармакологических средств непосредственно на опухоль. Однако наиболее полно все аспекты полихимиотерапии опухолей отражает термин "лекарственная терапия опухолей", подразумевающий применение синтетических препаратов, лекарств природного происхождения, антибиотиков, гормонов и других противоопухолевых средств [127; 128; 160]. Цитостатическое и цитотоксическое действие большинства химиопрепаратов связано с образованием свободных радикалов, перекисным окислением липидов и прямым повреждением клеточных мембран быстро пролиферирующих клеток [200]. Максимальный терапевтический эффект цитостатиков достигается при их комбинации, чем при монотерапии [231].

Химио- и гормонотерапии отводится существенная роль в комплексном лечении РМЖ, что связано с некоторыми особенностями данной опухоли. Так уже на ранних стадиях заболевания велик риск существования отдаленных микрометастазов, особенно при поражении аксиллярных лимфоузлов,

отрицательных рецепторах эстрадиола и прогестерона, гиперэкспрессии Her-2/neu [59]. Невизуализируемые метастазы служат причиной неудовлетворительных результатов хирургического или лучевого лечения первичного опухолевого очага. При применении неoadъювантной полихимиотерапии при РМЖ 5-летняя выживаемость составляет до 50 % даже при наличии метастазов в аксиллярных лимфоузлах [130]. Стандартами химиотерапии и эндокринной терапии являются: 4 цикла химиотерапии в режиме АЦ (адриамицин + циклофосфан) или АЦФ (адриамицин + циклофосфан + фторурацил) или 6 циклов химиотерапии по схеме ЦМФ (циклофосфан + метотрексат + фторурацил), а также тамоксифен 20 мг в день в течение пяти лет [59; 75]. В данной работе была использована схема ЦМФ для коррекции ОМЖ у крыс. Выбор метода коррекции был обусловлен наличием метастазов в лимфатических узлах, а также разработкой и обоснованием методов терапии сопровождения при неoadъювантной полихимиотерапии РМЖ.

В условиях проводимой нами химиотерапии опухолевый узел разделен на сегменты тонкими прослойками соединительной ткани, богато инфильтрированной лимфоцитами, плазматическими клетками, нейтрофильными лейкоцитами. Паренхима опухоли представлена солидными пластами с вкраплениями множества мелких и средних железистоподобных структур, придающих опухоли кистозный вид. Структуры опухолевой ткани формируют кистозные полости, заполненные базофильным секретом. Клетки опухоли были среднего, иногда – крупного размера, со светлыми ядрами, содержащими 1 или 2 ядрышка. Цитоплазма умеренная, богато вакуолизирована. Контуров клеток просматриваются не всегда отчетливо. Встречаются клетки в разрушенном, фрагментированном состоянии. Митозы атипические, единичные. Результаты морфометрии опухолевой ткани в условиях использования химиотерапии, свидетельствуют о сохраняющемся преобладании паренхимы в опухоли ($56,46 \pm 1,32$ %) над стромой ($43,47 \pm 1,14$ %), но при этом в сравнении с группой без лечения площадь стромы возрастает на 6,5 %.

«Лечебный» патоморфоз – это типовые и стойкие изменения клинических и морфологических проявлений опухоли под воздействием лечения [77; 97; 98; 141]. W. Doerr (в 1956г.) попытался установить границы и формы патоморфоза и выделил :

- естественный патоморфоз (спонтанные изменения картины болезни, возникшие вследствие изменения как внешних – изменения экологии человека, так и внутренних - изменения конституции человека, причин болезни);

- индуцированный, или терапевтический, патоморфоз (изменения болезни, вызванные терапевтическими воздействиями) [210].

Данные о патоморфозе опухолей используют на практике для сравнения разных методов лечения, для оценки эффективности проводимого (или уже законченного) лечения для объективного обоснования прогноза и его критериев, для оптимизации сроков диспансерного наблюдения и экспертизы трудоспособности. Многие исследователи предприняли попытки как-то классифицировать ответ опухоли на проводимые лечебные воздействия (лекарственные или лучевые) в зависимости от степени изменений в опухоли [97; 98; 215; 233; 204]. Во всех исследованиях отмечено, что «полный лечебный» патоморфоз (pathologic complete response, pCR) обозначает полное отсутствие опухолевых клеток (как инфильтративного рака, так и рака *in situ*). Чаще используют классификацию Е. Ф. Лушникова [97; 98] и I. D. Miller [232] в зависимости от степени изменений в опухоли. По Е. Ф. Лушникову выделяют четыре степени лечебного патоморфоза. Так, первая степень характеризуется изменениями на молекулярном и субклеточном уровнях; вторая степень характеризуется повреждениями в большей степени в паренхиматозных элементах опухоли, хотя и не минуют «здоровые» участки, например дистрофические и некробиотические изменения, нарушение деления этих клеток с появлением гигантских клеток, сосудистые изменения, активизацию клеток соединительной ткани [98]; третья степень характеризуется массовой гибелью опухолевых клеток с образованием полей некроза, выраженными сосудистыми расстройствами (кровоизлия, лимфостаз, разрастание соединительной ткани) с

сохранностью наиболее устойчивых к действию цитостатиков опухолевых клеток и нарастанием атрофических и дистрофических явлений в окружающих опухоль тканях; четвертая степень патоморфоза характеризуется замещением некротических масс опухоли соединительной тканью, импрегнацией ее солями извести, кистообразованием, что также сопровождается атрофическими, дистрофическими и склеротическими изменениями в окружающих тканях. Классификация по Miller I. D., Payne S. [233] учитывает показатели общей выживаемости в зависимости от степени патоморфологического регресса опухоли.

Таким образом, в свете концепции лечебного патоморфоза опухоли, можно констатировать, что в нашем исследовании при ОМЖ у крыс после курса неоадьювантной полихимиотерапии наблюдаются умеренно выраженные признаки лечебного патоморфоза (II степень), выражающиеся в регрессе и трансформации опухолевой ткани, дистрофии клеток, увеличении стромальных компонентов опухоли.

На фоне опухолевого роста в организме опухоленосителя развивается эндогенная интоксикация [192].

Эндотоксемия это результат патологических процессов или функциональных расстройств органов детоксикации, вследствие ионизирующего излучения, побочного эффекта противоопухолевых препаратов. У опухоленосителя происходит накладка токсического воздействия опухоли на окружающие ее ткани (астенический синдром) с токсическими эффектами антипролиферативных препаратов и облучения на ткани организма. Курсы неоадьювантной полихимиотерапии или γ -облучения способствуют утяжелению степени эндотоксикации, как результат гибели опухолевых клеток, так и в силу токсического влияния на другие клетки организма [192].

На фоне хронической эндотоксикации у больных опухолями происходит снижение общей резистентности организма, кроме этого, она ослабевает под напором неблагоприятных факторов окружающей среды.

Очевидно, что оценка неспецифической реактивности организма на фоне курсов неоадьювантной полихимиотерапии является важной проблемой [114]. Показано, что на фоне курсов неоадьювантной полихимиотерапии развиваются структурные поражения печени [3; 50; 157], почек [124] и гемодепрессии [49], что ведет к снижению доз цитостатиков, удлинению интервалов между курсами, а это, скорее всего, увеличивает вероятность сохранения резидуального клеточного клона и развития рецидива опухоли [44; 43; 67; 48]. В комплексе это диктует необходимость создания системы эффективной защиты клеток, не вовлеченных в опухолевый процесс, от разрушающего воздействия химиотерапии.

При РМЖ подтверждена высокая клиническая эффективность новых цитостатиков с оригинальными механизмами действия (таксаны, капецитабин, гемцитабин) как в моно режиме, так и в комбинации с другими цитостатиками в лечении больных, резистентных к антрациклиновым антибиотикам [193]. Введение цитостатиков ведет к изменению строения лимфоидных органов. На фоне приема циклофосфана отмечено возрастание количества люминесцирующих гранулярных клеток и тучных клеток в тимусе на фоне деформации долек, фрагментации и уменьшения размеров коркового и мозгового вещества и замещения паренхимы жировой тканью. Особенностью воздействия циклофосфана на тимус является накопление уровней гистамина особенно в паренхиме. Эти структурные изменения результат острой инволюции тимуса [104]. У женщин при проведении неоадьювантной полихимиотерапии по поводу РМЖ в аксиллярных лимфатических узлах отмечено уменьшение, а иногда и исчезновение лимфоидных фолликулов без светлых центров после полихимиотерапии при РМЖ [82]. Более того, были показаны более выраженные изменения в цитограмме лимфоидных фолликулов и менее выраженные изменения в цитограмме структур мозгового вещества – мякотных тяжах и мозговых синусах лимфатических узлов [82].

В данной работе показано, что на фоне неоадьювантной полихимиотерапии схемой ЦМФ при ОМЖ – тип структурно-функциональной организации аксиллярных лимфатических узлов соответствовал фрагментированному (к/м

индекс 0,42). В аксиллярных лимфатических узлах при опухоли на фоне неoadъювантной полихимиотерапии, по сравнению с нелеченой группой, отмечались структурные преобразования, свидетельствующие об активации клеточного звена иммунитета – паракортикальная гиперплазия (увеличена площадь паракортикальной зоны – на 24,3 %). На фоне неoadъювантной полихимиотерапии показано, что площадь синусной системы лимфатических узлов уменьшалась, по сравнению с нелеченой группой, так сокращались размеры мозговых на 23,7 % и краевого на 24,2 % синусов, достигая значений интактной группы, что не противоречило исследованиям других авторов [82]. Более того, нами показано уменьшение размеров лимфоидных узелков без светлых центров и со светлыми центрами.

В структурных компонентах аксиллярных лимфатических узлов при проведении неoadъювантной полихимиотерапии ОМЖ по сравнению с нелеченой группой, уменьшается число опухолевых клеток: в светлых центрах лимфоидных узелков – на 80,4 %; в паракортикальной зоне – на 89,3 %; в мозговых тяжах – на 88,7 %; в мозговых синусах – на 69,1 %. В светлых центрах лимфоидных узелков аксиллярных лимфатических узлов увеличено, в сравнении с группой без химиотерапии экспериментальной опухоли, число малых лимфоцитов увеличивается на 20,3 %, на фоне достоверного уменьшения количества незрелых лимфоидных клеток (иммунобластов, средних лимфоцитов), количества митозов. В работах других исследователей также показано, что в результате полихимиотерапии подавляется деление и созревание практически всех клеток, в том числе и В-лимфоцитарной линии [209; 255].

В мозговых тяжах аксиллярных лимфатических узлов при проведении неoadъювантной полихимиотерапии ОМЖ, в сравнении с группой без лечения, наоборот, нами было выявлено резкое увеличение количества незрелых клеток плазматического и лимфоидного рядов (увеличилось количество иммунобластов в мозговых тяжах в 3,4 раза, незрелых плазмоцитов и средних лимфоцитов), а количество макрофагов уменьшалось.

Выявленное нами увеличение размеров коркового вещества аксиллярных лимфатических узлов при проведении неoadъювантной полихимиотерапии ОМЖ, согласуется с результатами других исследователей [125]. Так, авторами было показано, что при лечении больных раком шейки матки с применением эндолимфатической полихимиотерапии в регионарных лимфатических узлах отмечалось увеличение показателей коркового вещества, но при этом нами не наблюдалось выявленное автором увеличение площади лимфоидных узелков [125]. Обнаруженное нами уменьшение количества моноцитов в различных зонах лимфатических узлов вероятно связано с угнетением моноцитарного ростка красного костного мозга противоопухолевыми средствами [202; 207]. В работе В. И. Майбородиной, выявленные различия в строение аксиллярных лимфатических узлов у больных РМЖ, без консервативного лечения и после неадъювантной полихимиотерапии, были статистически значимы только для относительной площади на срезе органов лимфоидных фолликулов без светлых центров [100]. Более того, относительная площадь данных структур была меньше в 27,6 раза, чем у женщин без предшествующего консервативного лечения. Автор полагает, что именно с опухолевой антигенной стимуляцией лимфатических узлов связано снижение относительной плотности на срезе органов лимфоидных фолликулов без светлых центров после полихимиотерапии [100].

Неoadъювантная полихимиотерапия и лучевая терапия при РМЖ ведет к резкому уменьшению площади лимфоидных фолликулов без светлых центров на срезе аксиллярных лимфатических узлов, во всех структурах этих органов подавляется митотическая активность и увеличивается число клеточных элементов стромы [184].

В работе С. Э. Красильникова, дана подробная характеристика морфологических изменений в регионарных лимфатических узлах при раке шейки матки после неoadъювантной полихимиотерапии [78]. Автор указывает, что наряду со структурными признаками выключения лимфатических узлов, как коллекторов на пути лимфотока, выявленные структурные преобразования в них свидетельствовали о повышении их функциональной активности (гиперплазия

паракортикальной зоны, образование лимфоидных узелков с герминативными центрами, появление посткапиллярных венул с высоким эндотелием и мигрирующими лимфоцитами в стенке).

Таким образом, препараты, используемые для неoadъювантной полихимиотерапии опухолей, в первую очередь влияют на активно пролиферирующие и дифференцирующиеся клетки, в том числе и на клетки лимфоидного ряда лимфатических узлов. Причем происходит не только торможение этих процессов, но и включаются механизмы индукции апоптоза, приводящие эти клетки к гибели [209; 230; 208].

Результаты исследования кровотока на фоне проведения неoadъювантной полихимиотерапии ОМЖ в данной группе особей выявили увеличение показателя микроциркуляции, как по сравнению с интактной группой, так и группой без лечения. По сравнению с нелеченой группой установлено преобладание вклада кардиального на 50,9 % механизма регуляции капиллярного кровотока над миогенной активностью вазомоторов (миогенная активность вазомоторов ослаблена – уменьшено соотношение $A_{\max}LF/M$ на 33,3 %) и флуктуацией кровотока синхронизированного с дыханием (уменьшается соотношение $A_{\max}HF/\delta$ на 25,8 %).

Возможности неoadъювантной полихимиотерапии ограничены неблагоприятным действием цитостатических препаратов, связанным в первую очередь с низкой селективностью канцеролитического эффекта препаратов и их токсическим влиянием на нормальные пролиферирующие клетки [49; 80; 236]. Прием цитостатиков ведет к дальнейшему развитию иммунодефицита у больных опухоленосителей [113]. В связи с этим, при проведении неoadъювантной полихимиотерапии для повышения клинической эффективности препаратов применяют модификаторы биологических реакций воздействующие, как на опухолевые клетки, так и на различные регуляторные системы организма. Препараты растительного происхождения – особая группа модификаторов биологических реакций, выгодно отличающаяся от остальных лекарственных средств, прежде всего широким спектром регулирующих эффектов, низкой

токсичностью и отсутствием побочных явлений, а также высокой биологической доступностью [48].

Показано, что растительные препараты способствуют усилению антипролиферативной терапии и снижению побочных токсических эффектов цитостатиков [90; 62]. Существенным действием фитокомплексов является их способность влиять на цитотоксичность эффекторов ЕЦТ, уровни продукции цитокинов, в том числе ФНО- α , ИФН- γ , ИЛ-1, ИЛ-2 и колониестимулирующие факторы [34; 48], нормализовать баланса субпопуляций Т-лимфоцитов при развитии в организме опухоли [34].

Учитывая способность экстрактов растений подавлять рост опухолей, фармакологи создают новые лекарственные вещества. Например, созданы препараты с противоопухолевой активностью на основе барвинка розового, безвременника великолепного, подофила щитовидного, тиса тихоокеанского и китайского дерева [240; 242; 259].

Об увеличении противоопухолевой активности сочетания цитостатиков с растительными веществами свидетельствуют исследования авторов [216] показавшие, что применение экстракта шлемника байкальского либо пантовита у мышей линии СВА/Са Лас, получивших циклофосфан, приводит к ускорению регенераторных процессов в исследуемых органах за счет активации практически всех ростков кроветворения. Фитосбор "Чакус" (смесь экстрактов чаги, курильского чая и солянки) при длительном применении незначительно замедляет рост опухоли LS через индукцию апоптоза, усиливает противоопухолевый эффект циклофосфана при совместном применении [10].

Показана противоопухолевая активность флавоноидов растительного происхождения [246], например курильского чая [137]. Употребление курильского чая приводило к активации регенерации эпителиальной выстилки толстого кишечника после курса химиотерапии у животных (более раннее восстановление количества эпителиальных клеток на единицу длины кишечной крипты без увеличения количества митозов), что указывает на большую сохранность эпителиальной выстилки кишечника.

Отмечено синергистическое усиление антиметастатического действия комбинации циклофосфана и комплексных водных экстрактов коры и листьев ольхи клейкой у мышей с карциномой Льюис, а комплексный водный экстракт листьев способствовал увеличению ингибирующего действия циклофосфана в отношении первичного опухолевого узла [189]. Как показано в работе А. В. Сипрова, использование производных 3-оксипролина приводило к уменьшению миелотоксичности циклофосфана; и доксорубицина, за счет большей сохранности гранулоцитарного и эритроидного ростков кроветворения, а также отмены тромбоцитопенического эффекта циклофосфана [153]. Показано, что экстракт шлемника байкальского повышает противоопухолевое и противометастатическое действие циклофосфана при карциноме Льюиса, способствует повышению цитотоксичности перитонеальных Мф на поздних сроках исследования [68].

Таким образом, проблема коррекции негативных эффектов неoadъювантной полихимиотерапии, а также оптимизация такой терапии остается актуальной задачей в современной медицине. Это диктует поиск и создание новых средств антибластной терапии и защиты жизненно важных органов и тканей от токсического действия противоопухолевых препаратов без ослабления их специфической активности [111; 186]. Развитие структурных и метаболических нарушений в здоровых клетках и обуславливает возникновение выраженных местных и системных побочных эффектов [116].

Микроскопическое исследование ОМЖ на фоне сочетанного применения неoadъювантной полихимиотерапии и фитокомплекса показало, что опухоль представляет собой кистозную полость с папиллярными разрастаниями, исходящими из стенки кисты. Строма ворсин скудная, эпителиальная выстилка представлена многорядным эпителием. Эпителиальные клетки полиморфные, имеют светлое, базально расположенное ядро с одним или несколькими ядрышками, атипичные митозы. Клетки дистрофически изменены: «разреженность» ядра, фестончатость краев клеток, обильная вакуолизация и зернистость цитоплазмы. Отдельные клетки в разрушенном, фрагментированном

состоянии. В окружающей плотной строме определяется инфильтрирующий рост. Результаты морфометрии опухолевой ткани в условиях сочетанного использования химиотерапии и фитокомплекса, свидетельствуют о преобладании стромы в опухоли ($60,84 \pm 2,12$) % над паренхимой ($39,60 \pm 1,14$) %, при этом в сравнении с группой без фитокоррекции площадь стромы возрастает на 54 %.

На фоне сочетанного применения неoadъювантной полихимиотерапии и фитокомплекса при ОМЖ в аксиллярных лимфатических узлах тип структурно-функциональной организации соответствует фрагментированному (к/м индекс – 0,78). При этом корково-мозговое соотношение в лимфатических узлах превышает значение всех экспериментальных групп, корковое вещество увеличивается на 46%, а мозговое уменьшается на 20 % в сравнении с группой на фоне неoadъювантной полихимиотерапии. По сравнению с группой с опухолью и химиотерапией, в данной группе выявлены структурные признаки активации клеточного звена иммунитета (площадь тимусзависимой зоны увеличена на 45 %) и структурные признаки угнетения гуморального звена иммунитета (уменьшается площадь В-зависимой зоны на 17 %). По сравнению с группой с опухолью и химиотерапией, в этой группе особый транспорт лимфы через аксиллярный лимфатический узел снижен (уменьшена площадь мозговых синусов на 7 %, мозговых тяжей на 27 %).

В аксиллярных лимфатических узлах выявлены опухолевые клетки, количество которых в сравнении с группой с опухолью и химиотерапией возрастает во всех структурно-функциональных зонах: в светлых центрах – в 11 раз, в паракортикальной зоне – в 8 раз, в мозговых тяжях – в 9 раз, в мозговых синусах в 3,2 раза.

По сравнению с экспериментальной группой с опухолью, в группе особой на фоне неoadъювантной полихимиотерапии, отмечается угнетение процессов пролиферации клеток лимфоидного ряда в корковом веществе аксиллярных лимфатических узлов, а именно в светлом центре уменьшилось количество иммунобластов на 60%, средних лимфоцитов на 27 %, в паракортикальной зоне сократилось количество иммунобластов на 32 % и средних лимфоцитов на 42 %.

В мозговом веществе рассматриваемых лимфатических узлов, активируются процессы бласттрансформации (в мозговых тяжах увеличилось количество иммунобластов на 16 %, незрелых плазматических клеток на – 34 %). Принципиальным моментом наших исследований явилось обнаружение резкого увеличения количества фагоцитов в мозговом веществе аксиллярных лимфатических узлов при опухоли на фоне неoadъювантной полихимиотерапии в сочетании с фитокоррекцией, по сравнению с группой без фитокоррекции: в мозговых тяжах количество нейтрофилов возросло в 11 раз, макрофагов на 32 %, а мозговых синусах количество нейтрофилов выросло в 14 раз, а макрофагов на 17 %.

Известно, что нейтрофилы вовлечены в патогенез опухолей. Выявляемые при прогрессии опухоли изменения в гранулоцитарном ростке кроветворения можно рассматривать, как результат системного действия опухоли на организм, так и в качестве компонента самого процесса неопластомогенеза, с одной стороны. С другой стороны, эти сдвиги могут быть также интерпретированы, и как результат мобилизации механизмов общей резистентности организма [1; 194]. Известно, что нейтрофилы подвержены влиянию цитокинов, способных менять количественный уровень их в периферической крови, модулировать функциональную активность, в том числе продукцию и секрецию ферментов, медиаторов, включая цитокины, вырабатывать активные формы кислорода. Все это в конечном итоге направлено на реализацию физиологического потенциала нейтрофилов – фагоцитоз и киллинг, уничтожение вирусов, бактерий, аллергенов, неопластических клеток [9; 220; 239]. Нейтрофилы, мигрируя в очаг развития опухоли, оказывают цитолитическое и цитотоксическое действие [1]. При этом они оказывают не только антитело-опосредованную цитотоксичность на прикрепившиеся к эндотелию трансформированные клетки, но также способны вступать в контакт с клетками опухоли, которые мигрируют в сосудистое русло [102; 123]. Более того, отторжение опухоли в некоторых случаях может быть связано только с инфильтрацией ее нейтрофилами [12].

На основании полученных нами данных исследований аксиллярных лимфатических узлов можно предположить, что на фоне сочетанного применения неoadъювантной полихимиотерапии и фитокоррекции при ОМЖ происходит трансформация структуры лимфатического узла. Свидетельствующая о стимуляции токсических реакций (паракортикальная гиперплазия), замедление тока лимфы через лимфатический узел (уменьшение размеров мозгового вещества, мозговых синусов), активации киллинга неопластических клеток (возрастание численности нейтрофилов и макрофагов в мозговом веществе).

Результаты исследования кровотока на фоне сочетанного применения неoadъювантной полихимиотерапии и фитокоррекции при ОМЖ в группе особей с сочетанием полихимиотерапии и фитосбора в сравнении с нелеченой группой, показали повышение уровня микроциркуляции на 30,7 % и свидетельствовали о преобладании в микроциркуляции активного (увеличена амплитуда $A_{\max}LF$ – на 27,4 %) механизма регуляции капиллярного кровотока над пассивным (кардиальный – уменьшается $A_{\max}CF/A_{\max}LF$ – на 41,5 % и дыхательный – $A_{\max}HF/A_{\max}LF$ – на 20 %). Причем, уменьшение вклада кардиального механизма регуляции капиллярного кровотока более выражено.

Наряду с традиционными методами раннего выявления и устранения факторов риска возникновения РМЖ, самостоятельным и перспективным профилактическим направлением является химиопрофилактика - торможение процесса канцерогенеза в латентном периоде его развития при помощи биологически активных веществ с антиканцерогенной активностью. Противоопухолевая активность присуща многим лекарственным средствам и биологически активным веществам, в том числе антиоксидантам, нестероидным противовоспалительным препаратам, гормонам и их антагонистам, витаминам, микроэлементам, иммуномодуляторам [64; 30; 65; 203; 206]. Показано, что препараты женьшеня и другие адаптогенные фитосредства (элеутерококк, аралия, заманиха, родиола, левзея, лимонник) повышают неспецифическую резистентность организма [27; 52; 84; 85; 91; 145].

Вопрос о причинах и механизмах биологической активности препаратов рассматриваемой группы остается до сих пор открытым. Еще в 60-х годах Н. В. Лазарев постулировал, что под влиянием адаптогенных фитокомплексов организм переходит в так называемое "состояние неспецифической повышенной сопротивляемости", которое также может быть достигнуто и путем тренировки, адаптации к различным неблагоприятным факторам внешней среды [84; 85]. Ряд исследователей полагают, что повышение адаптационных возможностей организма при применении препаратов женьшеня и других фитоадаптогенов опосредуется на уровне центральных адренергических, холинэргических, ГАМК-эргических, глутаматных и эндогенных опиоидных систем [167; 115; 221; 260]. Другие авторы считают, что биологическая активность фитоадаптогенов реализуется непосредственно в периферических тканях, за счет оптимизации процессов внутриклеточного метаболизма, в частности через активизацию аэробного гликолиза и цикла Кребса [52; 212; 222]. В качестве одной из возможных причин широкого спектра фармакологических эффектов фитоадаптогенов рассматриваются также выявленные *in vitro* и на экспериментальных моделях антиоксидантные свойства ряда природных соединений, выделенных из этих растений [66]. Имеется много сведений о лечебно-профилактических свойствах отдельных адаптогенов в отношении онкологических заболеваний. Так, в частности, прием женьшеня, элеутерококка, родиолы розовой сдвигал сроки развития спонтанных и индуцированных опухолей, снижал частоту их возникновения и скорость роста, а также увеличивал продолжительность жизни животных [27; 48; 265; 266]. Использование лекарственных трав с адаптогенным действием во время неoadъювантной полихимиотерапии или после ее окончания, а также у неоперабельных пациентов вело к снижению метастазирования, увеличению безрецидивного периода, улучшению качества жизни [24; 26; 266]. Накоплено много сведений о том, что эффекты адаптогенов опосредованы через активацию клеток иммунной системы. Адаптогены активируют продукцию интерферонов, функциональную активность ЕКК и Т-лимфоцитов [205; 227; 243]. С другой стороны, адаптогены могут влиять

и на уровне экспрессии молекул адгезии опухолевыми клетками и тем самым, стимулировать клетками иммунной системы распознавание и их лизис [36; 25; 241]. В тоже время, необходимость индивидуального контроля чувствительности больных к лекарственным травам, развивающаяся к ним толерантность ограничивают их применение. Поэтому выходом из данной ситуации является разработка фитосборов, содержащих ряд адаптогенов, а также растений, обладающих различным сочетанием протекторных и других регулирующих свойств [13; 48; 196]. Имеются тест-системы скрининга адаптогенных препаратов, используемых для иммунокоррекции, включающих оценку эффекта препарата на пролиферативную активность опухолевых клеток человека *in vitro*; на иммунологический фенотип и интерферогенную активность лимфоцитов онкологических больных III–IV стадий с опухолями различных локализаций *in vitro*; на рост штамма пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в неблагоприятных условиях культивирования [99].

Природные вещества статистически значимо по сравнению с контролем уменьшали частоту опухолей на 14,8–40 %, множественность опухолей – на 24,97 %. Биоженьшень тормозит развитие ряда индуцированных опухолей, например, опухолей головного и спинного мозга, МЖ и др. [11]. В Российском онкологическом научном центре им. Н. Н. Блохина Российской академии медицинских наук был создан и исследован комплексный фитоадаптоген «Фитомикс-40». Выявлена его антиоксидантная, антиметастатическая и иммуномодулирующая [36; 24] активность, низкая токсичность [129] и радиопротекторный эффект. У больных с лейкоплакией слизистой оболочки полости рта прием «Фитомикса-40» выявлены лучшие клинические результаты по сравнению с витамином А [179]. При проотивоопухолевом лечении усиливается дисбаланс окислительного/антиокислительного потенциала организма, а также развитие вторичного иммунодефицита. «Антиоксифит» состоящий из экстракта лекарственных растений дягила, календулы, герани, подорожника, лапчатки используется для коррекции дисбаланса окислительной/антиокислительной системы. «Антиоксифит» обладает антиоксидативной активностью (50 ± 4 у.е.),

превышающей таковую для витаминов-антиоксидантов (А, Е, С, 0-каротина), общеукрепляющим, детоксицирующим, и антиканцерогенным действием и используется в схемах корригирующей терапии с целью купирования ракового токсикоза и токсических реакций противоопухолевого лечения [116].

Неспецифическое и патогенетическое действие фитокомплекса, разработанного в научно-исследовательском институте клинической и экспериментальной лимфологии Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, обусловлено его компонентами. Действие фитокомплекса направлено на купирование основных патогенетических звеньев в развитии различных форм мастопатии: нарушение микроциркуляции и трофики в органах малого таза и МЖ; нейроэндокринные нарушения, связанные с дисгормональной природой этого заболевания; нарушения обмена микроэлементов, особенно йода. При рассмотрении химиопрофилактической активности фитокомплекса необходимо подчеркнуть, что исследуемые средства применялись после окончания введения канцерогена МНМ, на протяжении шести месяцев фитокомплекс добавляли в корм вивария.

Профилактическое применение фитокомплекса в условиях экспериментального канцерогенеза МЖ (на протяжении всего периода роста опухоли – 6 месяцев) приводит к перестройке тканевой архитектоники опухоли. Результаты морфометрии опухолевой ткани в этой группе особей, свидетельствуют о преобладании стромы в опухоли ($54,82 \pm 1,92$) % над паренхимой ($45,18 \pm 1,64$) %, при этом в сравнении с группой без фитопрофилактики площадь стромы возрастает на 21 %. При профилактическом применении фитокомплекса при индукции ОМЖ наблюдается трансформация и деструкция опухолевой ткани, в сравнении с группой с опухолью без фитопрофилактики. Гистоархитектоника опухоли (тканевой и клеточный атипизм) характеризуется более высокой дифференцировкой и полиморфизмом клеточных и тканевых структур, свидетельствующих об изменении степени ее зрелости, замедлении темпов роста и метастазирования, дистрофических изменениях ткани опухоли. По-видимому, биоантиоксиданты и фитоадаптогены,

содержащиеся в лекарственных растениях фитокомплекса оказывают ингибирующее влияние на канцерогенез, индуцированный у крыс МНМ, что проявляется снижением степени малигнизации, торможении неопластических изменений в МЖ.

Данные, полученные в нашей работе, согласуются с результатами других авторов. Так, при изучении фитоадаптогенов – экстракт корня солодки и препарат «Чаговит», которые оказывают ингибирующее влияние на канцерогенез печени и пищевода, индуцированный у крыс ДЭНА было показано достоверное снижение частоты возникновения и степени малигнизации неопластических изменений в печени, снижении множественности и злокачественности новообразований пищевода [173]. Также в работах других авторов, была показана при ОМЖ противоопухолевая активность отвара цветков лабазника, при канцероген-индуцированных опухолях шейки матки – отвара листьев березы [108].

При профилактическом применении фитокомплекса в динамике формирования ОМЖ в аксиллярных лимфатических узлах тип структурно-функциональной организации соответствует фрагментированному (к/м индекс 0,51). По сравнению с нелеченой группой выявлены, более выраженные, чем при химиотерапии, структурные признаки активации клеточного звена иммунитета (площадь тимусзависимой зоны увеличивалась на 57,7 %) и структурные признаки угнетения гуморального звена иммунитета (уменьшалась площадь лимфоидных узелков со светлыми центрами на 49,4 %). По сравнению с нелеченой группой, как и при химиотерапии, транспорт лимфы через аксиллярный лимфатический узел понижен (уменьшалась площадь мозговых синусов – на 22,7 % и краевого синусов на 38,1 %). В структурных компонентах аксиллярных лимфатических узлов, в отличие от группы с химиотерапией, выявлено отсутствие локальных скоплений опухолевых клеток, в виде метастатических узлов. По сравнению с нелеченой группой, в данной группе особей в структурно-функциональных зонах аксиллярных лимфатических узлов отмечается активация процессов бласттрансформации клеток лимфоидного ряда (увеличивалось число малых лимфоцитов: в светлых центрах на 22,2 %, в

мозговых синусах – на 41,1 %) и активация процессов пролиферации клеток плазматического ряда (увеличивалось число иммунобластов в мозговых тяжах в 2,8 раза), значительно увеличивалось количество нейтрофилов в мозговых тяжах в 7,2 раза и мозговых синусах в 12 раз.

Таким образом, на основании данного исследования можно заключить, что фитокомплекс обладает антиметастатической активностью, способствует активации местного иммунного ответа, естественной цитотоксической реакции лимфоидных клеток и стимулирует фагоцитоз в регионарных к опухоли и отдаленных лимфатических узлах. Сокращение размеров синусов в лимфатических узлах на фоне увеличения количества фагоцитов в мозговом веществе, свидетельствует об активации барьерно-детоксикационной функции, усиленной биологической обработке оттекающей от опухолевого узла лимфы. Отсутствие в регионарных лимфатических узлах метастазов свидетельствует об антипромоторном действии фитокомплекса и способности ингибировать канцерогенез независимо от влияния на этиологический фактор.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного нами экспериментального исследования позволяют заключить, что в норме у крыс-самок Wistar относительная площадь кровеносного русла в МЖ преобладает над площадью лимфатического русла, регионарный аксиллярный лимфатический узел по своей структурно-функциональной специализации относится к фрагментированному типу, что свидетельствует о преобладании его транспортной функции. Исследование кровотока выявило преобладание в модуляции кровотока пассивного механизма (респираторно-пульсовые флюктуации кровотока) над активным механизмом (вазоконстрикторные флюктуации кровотока).

В сформированной у крыс-самок Wistar ОМЖ (через 6 месяцев от момента инициации канцерогенеза в МЖ) площадь кровеносных сосудов по-прежнему преобладает над площадью лимфатических сосудов и в 2,2 раза превышает аналогичный показатель в нормальной ткани МЖ, а лимфатических сосудов превышает почти в 3 раза. Параллельно в структуре аксиллярного лимфатического узла отмечается значительное уменьшение площади тимусзависимой зоны, при увеличении площади мозговых синусов. В структурных компонентах аксиллярных лимфатических узлов выявлены атипичные опухолевые клетки, угнетение процессов пролиферации и бласттрансформации клеток лимфоидного ряда, отмечается макрофагальная реакция. При исследовании кровотока в коже по периферии опухоли обнаружено повышение уровня микроциркуляции, вазомоторная активность микрососудов. Это соответствует высокой степени васкуляризации опухоли, обнаруженной нами.

Результаты проведенного исследования позволяют заключить, что применение фитокомплекса в дополнении к неoadьювантной полихимиотерапии при ОМЖ вызывает усиление деструкции опухоли, сопровождается структурными преобразованиями в лимфатических узлах, что указывает на усилении местной противоопухолевой резистентности.

Профилактическое использование фитокомплекса в процессе индукции ОМЖ, приводит к трансформации структуры ОМЖ, в сравнении с группой без фитопрофилактики, уменьшает размеры метастазов и сопровождается структурными преобразованиями в лимфатических узлах, свидетельствующих о замедлении лимфотока и активации Т-зависимой зоны, процессов бласттрансформации, лимфопоза и фагоцитоза.

Результаты работы являются фундаментальным обоснованием для практических рекомендаций: фитокомплекс целесообразно использовать в схеме терапии сопровождения (вспомогательной фитотерапии) пациентов проходящих курсы неoadъювантной полихимиотерапии, для активации цитотоксических клеточных реакций и лимфокоррекции; фитокомплекс целесообразно использовать в качестве профилактического средства при доброкачественных фиброзно-кистозных гиперплазиях в качестве фитоадаптогена, для повышения "состояние неспецифической повышенной сопротивляемости" организма.

ВЫВОДЫ

1. Выявлено, что в норме регионарный аксиллярный лимфатический узел первого порядка по своей структурно-функциональной специализации относится к фрагментированному типу (К/М индекс – 0,59), а в строме молочной железы площадь сечения кровеносных сосудов ($198 \pm 16,0 \mu\text{m}^2$) преобладает над площадью лимфатических сосудов ($87 \pm 14,5 \mu\text{m}^2$), в коже у основания молочной железы преобладают респираторно-пульсовые флюктуации локального кровотока над вазоконстрикторными.

2. Введение N-метил-N-нитрозомочевина в молочную железу вызывает образование экспериментальной полиморфной злокачественной опухоли (аденокарцинома), с преобладанием паренхимы опухоли ($59,22 \pm 1,42$) % над стромой ($40,78 \pm 1,18$) %, приводит к усилению кровотока и вазомоторной активности микрососудов в пограничных с опухолью тканях. Площадь кровеносных сосудов опухоли ($432,4 \pm 24,3 \mu\text{m}^2$) в 2,2 раза превышает значения в молочной железе в норме, а площадь лимфатических сосудов ($249 \pm 19,2 \mu\text{m}^2$) в 2,8 раза.

3. При экспериментальной опухоли молочной железы в аксиллярных лимфатических узлах выявлены атипичные клетки (в светлых центрах – 1,53 %, в паракортикальной зоне – 1,96 %, в мозговых тяжах – 3,19 %) и структурные преобразования, свидетельствующие о развитии эндотоксикоза, угнетении клеточного (уменьшение размеров паракортикальной зоны на 36,8 %, количества незрелых лимфоидных клеток) и стимуляции гуморального звеньев иммунитета (увеличение площади первичных лимфоидных узелков на 73,3 %, количества незрелых плазматических клеток в мозговых тяжах на 40 %), активации макрофагальной реакции, на фоне отека и усиления лимфонакопления в лимфатических узлах (увеличение площади на 19,6 %, площади мозговых синусов на 28 %).

4. Введение цитостатиков при экспериментальной опухоли молочной железы приводит к структурным преобразованиям в аксиллярных лимфатических

узлах, свидетельствующих об активации клеточного (гиперплазия паракортикальной зоны) и угнетении гуморального звеньев иммунитета (уменьшение площади лимфоидных узелков, количества иммунобластов на 37,5 %, клеток на стадии митоза – на 39,3 % в светлых центрах), транспортной функции (уменьшении размеров мозговых и краевого синусов), на фоне уменьшения количества атипичных клеток, что сопровождается деструкцией опухоли (дистрофия, увеличении стромы опухоли на 6,5 %), усилению кровотока в пограничных с опухолью тканях.

5. Сочетанное применение фитокомплекса и цитостатиков при экспериментальной опухоли молочной железы способствует уменьшению количества атипичных клеток в аксиллярных лимфатических узлах, оказывает лимфокорригирующее действие, выражающееся в увеличении коркового вещества на 46 %, паракортикальной гиперплазии, изменении лимфотока (уменьшение площади мозговых тяжей на 27 %, мозговых синусов на 7 %), активации процессов бласттрансформации (увеличение количества незрелых плазматических клеток) и фагоцитоза, что сопровождается деструкцией опухоли (кистозная трансформация, увеличение площади стромы на 54 %) и снижением кровотока в пограничной с опухолью тканях.

6. Применение фитокомплекса приводит к активации процессов лимфокоррекции и лимфопротекции в лимфатическом регионе опухоли молочной железы, выражающемся в изменении лимфотока в аксиллярных лимфатических узлах (уменьшение площади мозгового вещества, мозговых и краевого синусов (на 38 %) и увеличению Т-зависимой зоны, процессов бласттрансформации и лимфопоэза, фагоцитоза и сокращения количества атипичных клеток, сопровождающихся дистрофией опухоли, увеличением площади стромы опухоли на 21 % и активацией кровотока в пограничных тканях (увеличение показателя микроциркуляции на 41,7 %).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ИЭМ – индекс эффективности микроциркуляции

ДМБА – диметилбензантрацен

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЕКК – естественные (натуральные) киллерные клетки

ЕЦТ – естественная цитотоксичность

к/м индекс – индекс соотношения коркового слоя к мозговому слою лимфатического узла

ЛДФ – лазерная доплеровская флоуметрия

МЖ – молочная железа

МНМ – N-метил-N-нитрозомочевина

Мф – макрофаг

НС – нитрозосоединения

ОМЖ – экспериментальная опухоль молочной железы

Окр. – окраска

ПФ.ед. – перфузионные единицы

РМЖ – рак молочной железы

Ув. – увеличение

ЦМФ – циклофосфан + метотрексат + 5-фторурацил

Атах – соотношение частотных диапазонов колебаний при доплерографии

CF – частотный диапазон колебаний стенки кровеносных сосудов при доплерографии (зона CF-ритма) – кардиоритмы совпадают с пульсовыми колебаниями кровотока

HF – частотный диапазон колебаний стенки кровеносных сосудов при доплерографии – быстрые колебания (зона HF-ритма) совпадают с дыхательными ритмами и зависят от колебаний венозного кровотока в связи с изменением давления в грудной клетке в фазы вдоха и выдоха

LF – частотный диапазон медленных колебаний (зона LF-ритма) стенки кровеносных сосудов при доплерографии – активностью собственных

компонентов микроциркуляторного русла

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абакумова, Т. В. Функциональное состояние нейтрофильных лейкоцитов периферической крови и асцитической жидкости при раке яичников : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.13 / Т. В. Абакумова. – Ульяновск, 2009. – 117 с.
2. Автандилов, Г. Г. Медицинская морфометрия : руководство / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 1990. – 384 с.
3. Агеева, Т. А. Патоморфологические аспекты постцитостатических поражений печени и желудка при гемобластозах : автореф. дис ... д-ра мед. наук : 14.00.15 / Т. А. Агеева. – Новосибирск, 2002. – 48 с.
4. Агеенко, А. И. Иммуитет и терапия экспериментальных опухолей / А. И. Агеенко, С. П. Гордиенко, О. Г. Саканделидзе. – Кишинев : [б. и.], 1982. – С. 197.
5. Акимов, А. А. Отбор и изучение противоопухолевых лекарственных средств / А. А. Акимов, В. Н. Филон // Экспериментальная онкология. – 1994. – № 16. – С. 102–108.
6. Аксель, Е. М. Статистика заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований в 2000 году / Е. Д. Аксель, М. И. Давыдов // Злокачественные новообразования в России и странах СНГ в 2000 году. – М. : РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, 2002. – С. 85–106.
7. Александров, В. А. Принципы и перспективы химиопрофилактики рака / В. А. Александров, В. Г. Беспалов // Вопросы онкологии. – 1991. – Вып. 4. – С. 387–393.
8. Аничков, Н. М. Лимфатические пути и метастазирование рака / Н. М. Аничков, А. В. Борисов, У. А. Габуния. – Тбилиси : [б. и.], 1989. – С. 82–101.
9. Антонеева, И. И. Иммунопатология и иммунотерапия рака яичников / И. И. Антонеева. – Ульяновск : [б. и.], 2007. – 144 с.

10. Баймак, Т. Ю. Исследование клеточных механизмов противоопухолевой активности химиопрепаратов при их применении отдельно, в комбинации и с природным биогенным регулятором "Чакус" в клинике : дис. ... канд. биол. наук : 14.00.16 / Т. Ю. Баймак. – Новосибирск, 2003. – 136 с.
11. Беспалов, В. Г. Синтетические и природные антиканцерогенные вещества в профилактике рака : дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.14 / В. Г. Беспалов. – СПб., 2004. – 301 с.
12. Блиндарь, В. Н. Функциональные особенности нейтрофилов крови онкологических больных : дис. ... д-ра биол. наук : 14.00.14 ; 14.00.46 / В. Н. Блиндарь. – М., 2002. – 225 с.
13. Богданова, Т. Б. Влияние фитосбора Тан-2 на устойчивость животных к иммобилизационному стрессу / Т. Б. Богданова, И. М. Бальхаев // Человек и лекарство : материалы 9-го российского национального конгресса. – М., 2002. – С. 584–585.
14. Бодягин, Д. А. Реакция лимфатических узлов мышей с опухолью на введение сарколизина : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 14.00.14 / Д. А. Бодягин. – М., 1972. – 24 с.
15. Болиева, Л. З. Влияние антиоксидантов на возникновение опухолей молочной железы, индуцированных у крыс N-метил-N-нитрозомочевинной / Л. З. Болиева // Тюменский медицинский журнал. – 2002. – Вып. 3–4. – С. 71–73.
16. Болиева, Л. З. Возможные механизмы антиканцерогенной активности каротиноидов / Л. З. Болиева // Южно-Российский медицинский журнал. – 2003. – № 3. – С. 98–101.
17. Болиева, Л. З. Экспериментально-клиническое обоснование применения микронутриентов и нестероидных противовоспалительных препаратов в профилактике злокачественных новообразований : дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.25 / Л. З. Болиева. – Старая Купавна, 2005. – 248 с.
18. Борисов, А. В. Лимфатический узел / А. В. Борисов. – Л. : [б. и.], 1987. – С. 14–17.

19. Бородай, Н. В. Морфофункциональные изменения в лимфоидных органах в динамике злокачественного роста : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.25 / Н. В. Бородай. – Киев, 1980. – 17 с.
20. Бородин, Ю. И. 50 лет в лимфологии / Ю. И. Бородин // Проблемы лимфологии и интерстициального массопереноса : материалы научной конференции с международным участием. – Новосибирск, 2004. – Т. 10, Ч. 1. – С. 5–12.
21. Бородин, Ю. И. Лимфатический узел как маркер средового прессинга на биосистему / Ю. И. Бородин // Бюллетень Сибирского отделения Российской Академии медицинских наук. – 1993. – № 2. – С. 5–9.
22. Бородин, Ю. И. Лимфатический узел при циркуляторных нарушениях / Ю. И. Бородин, В. Н. Григорьев. – Новосибирск : Наука, 1986. – 266 с.
23. Бородин, Ю. И. Проблемы лимфодетоксикации и лимфосанации / Ю. И. Бородин // Проблемы экспериментальной, клинической и профилактической лимфологии : материалы международного симпозиума. – Новосибирск, 2000. – С. 5–9.
24. Бочарова, О. А. Адаптогены как средства профилактической онкологии / О. А. Бочарова // Вестник РАМН. – 1999. – № 5. – С. 49–53.
25. Бочарова, О. А. Адгезивные взаимодействия в биологии рака / О. А. Бочарова // Вестник РАМН. – 2001. – № 1. – С. 22–25.
26. Бочарова, О. А. Фитоадаптогены в онкологии / О. А. Бочарова, А. Ю. Барышников. – М., : [б. и.], 2005. – 140 с.
27. Брехман, И. И. Элеутерококк / И. И. Брехман. – Л. : [б. и.], 1968. – 186 с.
28. Брувере, Р. Ж. Морфологические изменения в лимфатических узлах при росте и регрессии опухолей / Р. Ж. Брувере, Л. С. Глинкина // Функциональная морфология лимфатических узлов и других органов иммунной системы и их роль в иммунных процессах. – М., 1983. – С. 26.

29. Бугров, В. В. Фолликулярная гиперплазия регионарных лимфатических узлов при раке желудка и ее прогностическое значение / В. В. Бугров, В. П. Чернов // Вопросы онкологии. – 1989. – № 1. – С. 17–21.
30. Букин, Ю. В. Витамины и бета-каротин в профилактике злокачественных новообразований (итоги и перспективы) / Ю. В. Букин // Вопросы питания. – 1993. – № 4. – С. 9–12.
31. Букин, Ю. В. Молекулярно-биологические основы и перспективы витаминопрофилактики рака / Ю. В. Букин // Вопросы онкологии. – 1986. – № 11. – С. 35–49.
32. Васильева, Г. И. Кооперативное взаимодействие моно-и полинуклеарных фагоцитов, опосредованное моно-и нейтрофилокинами / Г. И. Васильева, И. А. Иванова, С. Ю. Тюкавкина // Иммунология. – 2000. – № 5. – С. 11–17.
33. Введение в фармакотерапию злокачественных опухолей / М. Л. Гершанович [и др.]. – СПб. : Сотис, 1999. – С. 152.
34. Вершинина, С. Ф. Применение природных биорегуляторов в онкологии / С. Ф. Вершинина, Е. В. Потявина // Вопросы онкологии. – 2003. – Т. 49, № 2. – С. 145–151.
35. Викалюк, Ю. Ф. О значении недостаточности лимфообращения и лимфоблока легких при раке/ Ю. Ф Викалюк // Вопросы канцерогенеза и патогенетической терапии опухолей. – Киев, 1974. – С. 169–172.
36. Влияние экстракта *Rhodiola rosea* на частоту рецидивов поверхностного рака мочевого пузыря у людей / О. А. Бочарова [и др.] // Урология и нефрология. – 1995. – № 2. – С. 46–47.
37. Возможности применения иммуномодуляторов в комплексной терапии фиброзно-кистозной мастопатии / Л. З. Болиева [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2004. – № 4. – С. 104–105.
38. Войцицкий, В. Е. Патоморфология лимфатического аппарата матки, тонкой и толстой кишки при действии цитостатических препаратов и коррекции

биофлавоноидами (экспериментальное исследование) : дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.15 / В. Е. Войцицкий. – Новосибирск, 2006. – 524 с.

39. Волкова, О. В. Основы гистологии и гистологической техники / О. В. Волкова, Б. К. Елецкий. – М. : Медицина, 1971. – 253с.

40. Вылков, И. Н. Патология лимфатических узлов / И. Н. Вылков. – София : Медицина и физкультура, 1980. – 246 с.

41. Ганцев, Ш. Х. Аксилярный лимфатический аппарат при раке молочной железы : атлас / Ш. Х. Ганцев. – М. : ООО Медицинское информационное агентство, 2010. – 143 с.

42. Гарин, А. М. Справочник практической химиотерапии опухолей / А. М. Гарин, А. В. Хлебнов. – М. : Росмезн, 1995. – С. 6–14.

43. Гершанович, М. Л. Кардиотоксичность противоопухолевых антрациклиновых антибиотиков и возможности ее предупреждения кардиоксаном (дек-сразоксаном) в онкологической практике / М. Л. Гершанович // Вопросы онкологии. – 2001. – Т. 47, № 1. – С. 119–122.

44. Гершанович, М. Л. Осложнения при химио- и гормонотерапии злокачественных опухолей / М. Л. Гершанович. – М. : Медицина, 1982. – 224 с.

45. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М. : Практика, 1998. – 459 с.

46. Глумов, В. Я. Патоморфология метастазов рака молочных желез в регионарных лимфоузлах / В. Я. Глумов, Н. Ф. Гизатуллина // Российские морфологические ведомости. – 1998. – Т. 1, № 2. – С. 116–120.

47. Головознин, М. В. Вмешательство раковых клеток в процессы созревания и селекции Т-лимфоцитов как фактор опухолевой прогрессии / М. В. Головознин // Иммунология. – 2001. – № 6. – С. 4–10.

48. Гольдберг, Е. Д. Препараты из растений в комплексной терапии злокачественных заболеваний / Е. Д. Гольдберг, Е. П. Зуева. – Томск : Изд-во Томского ун-та, 2000. – 129 с.

49. Гольдберг, Е. Д. Противоопухолевые антибиотики антрациклинового ряда и система крови / Е. Д. Гольдберг, В. В. Новицкий. – Томск: ТГУ, 1986. – 236 с.
50. Грек, О. Р. Протективное действие энтеросгеля на лизосомы печени крыс при введении комплекса цитостатических препаратов / О. Р. Грек, С. В. Мишенина, Л. Б. Пупышев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – Т. 133, № 10. – С. 413–417.
51. Давыдов, М. И. Злокачественные новообразования в России и странах СНГ в 2000 г. / М. И. Давыдов, Е. М. Аксель. – М., 2002. – 178 с.
52. Дардымов, И. В. Элеутерококк: тайны «панацеи» / И. В. Дардымов, Э. И. Хасина. – СПб. : Наука, 1993. – 125 с.
53. Джигоев Ф. К. О влиянии зитазониума и двухсторонней овариэктомии на возникновение опухолей молочной железы, индуцированных у крыс N-нитрозо-N-метилмочевиной : сборник научных трудов СОГМИ / Ф. К. Джигоев ; ред. Р. Д. Хубецова. – Краснодар, 1989. – С. 112–114.
54. Джигоев, Ф. К. Исследование факторов, влияющих на процесс канцерогенеза, и поиск антиканцерогенных соединений : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.12 / Ф. К. Джигоев. – Л., 1984. – 42 с.
55. Дзодзикова, М. Э. Тучные клетки человека и животных в процессе развития рака молочной железы: дис. ... д-ра мед. наук : 03.00.25 / М. Э. Дзодзикова. – М., 2005. – 170 с.
56. Диагностика рака молочной железы / под ред. В. А. Хайленко, Д. В. Комова, В. Н. Богатырева. – М. : ООО Медицинское информационное агентство, 2005. – 240 с.
57. Дымарский, Л. Ю. Рак молочной железы / Л. Ю. Дымарский. – Л. : [б. и.], 1980. – 200 с.
58. Ермилова, В. Д. Роль современной патоморфологии в характеристике рака молочной железы / В. Д. Ермилова // Практическая онкология. – 2002. – Т. 3, № 1. – С. 15–20.

59. Загрекова, Е. И. Лекарственное лечение рака молочной железы / Е. И. Загрекова, А. А. Мещеряков // Русский медицинский журнал. – 2002. – № 12. – С. 605–609.
60. Зербино, Д. Д. Общая патология лимфатической системы / Д. Д. Зербино. – Киев : Здоров'я, 1974. – 160 с.
61. Зубова, С. Г. Молекулярные механизмы действия фактора некроза опухолей и трансформирующего фактора роста в процессе ответа макрофага на активацию / С. Г. Зубова, В. Б. Окулов // Иммунология. – 2001. – № 5. – С. 18–22.
62. Зуева, Е. П. Препараты из растений Сибири и Дальнего Востока в комплексной терапии злокачественных новообразований / Е. П. Зуева, Т. Г. Разина, Е. Н. Амосова // Актуальные проблемы фармакологии и поиска лекарственных препаратов. – Томск, 1997. – Т. 9. – С. 52–54.
63. Изучение возможностей химиопрофилактики злокачественных новообразований молочной железы / Ф. К. Джигоев [и др.] // Успехи современного естествознания. – 2006. – № 1. – С. 65–66.
64. Изучение эффективности препаратов с антиканцерогенной активностью у больных мастопатией / Л. З. Болиева [и др.] // Российский биотерапевтический журнал. – 2006. – № 4. – С. 68–72.
65. Имунофармакология микроэлементов / А. В. Кудрин [и др.]. – М. : Изд. КМК, 2000. – 537 с.
66. Ингибирующая активность салидрозида в реакции радикально-цепного окисления изопропилового спирта / Г. П. Гарифуллина [и др.] // Растительные ресурсы. – 2000. – Т. 36, вып. 3. – С. 89–99.
67. Индуцированная гибель клеток в развитии гипоплазии кроветворной ткани после цитостатического воздействия / Е. Д. Гольдберг [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1999. – Т. 124, № 1. – С. 39–42.
68. Капля, О. А. Механизмы влияния экстракта шлемника байкальского на состояние системы естественной цитотоксичности при опухолевом росте : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.25 ; 14.00.16 / О. А. Капля. – Томск, 2004. – 156 с.

69. Каприн А. Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2012 году / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, Г. В. Петрова. – М. : ФГБУ МНИОИ им. П. А. Герцена Минздрава России, 2013. – 232 с.
70. Клиническая иммунология и аллергология : в 3 т. Т. 1. / ред. Л. Йегер. – М. : Медицина, 1990. – 528 с.
71. Козлов, В. И. Инструкция по применению анализатора лазерного микроциркуляции крови компьютеризированного ЛАКК-02 / В. И. Козлов, Э. С. Мач, В. В. Сидоров. – М. : [б. и.], 2002. – 32 с.
72. Козлов, В. И. Исследование колебаний кровотока в системе микроциркуляции / В. И. Козлов, В. Г. Соколов // Применение лазерной доплеровской флуометрии в медицинской практике : материалы 2-го всероссийского симпозиума. – М., 1998. – С. 8–14.
73. Козлов, В. И. Лазерный анализатор кровотока ЛАКК-01 / В. И. Козлов, В. В. Сидоров // Применение лазерной доплеровской флуометрии в медицинской практике : материалы 2-го всероссийского симпозиума. – М., 1998. – С. 5–8.
74. Коноплев, В. П. Перевиваемые опухоли / В. П. Коноплев // Модели и методы экспериментальной онкологии. – М. : Медгиз, 1960. – С. 144–237.
75. Константинова, М. М. Адьювантная терапия рака молочной железы : оценка экономической эффективности применения летрозоло (Фемара) в ранней адьювантной терапии в Российской Федерации/ М. М. Константинова, Ю. Б. Белоусов, Д. Ю. Белоусов // Русский медицинский журнал (онкология). – 2007. – № 25. – С. 1933–1940.
76. Коростелев, С. А. Фармакология и механизм антиканцерогенного действия каротиноидов : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.25 / С. А. Коростелев. – М., 2002. – 46 с.
77. Краевский, Н. А. Патологоанатомическая диагностика опухолей человека : руководство : в 2 т. Т. 1. / Н. А. Краевский, А. В. Смольяников, Д. С. Саркисов. – М. : Медицина, 1993. – 560 с.

78. Красильников, С. Э. Патоморфологическое обоснование неадъювантной химио-, лучевой терапии в сочетании с индуктором интерфероногенеза в комплексном лечении рака шейки матки : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.15 ; 14.00.14 / С. Г. Красильников. – Новосибирск, 2004. – 37 с.
79. Кровеносные и лимфатические сосуды : ангиогенез, гистохимические маркеры эндотелия/ Ю. И. Бородин [и др.] // Проблемы лимфангиологии / под ред. Ю. И. Бородина, В. И. Коненкова, А. Ф. Повещенко. – Новосибирск, 2010. – С. 121–135.
80. Кудашева, И. В. Морфологический и функциональный статус пула плазматических клеток при цитостатической гемодепрессии и в условиях антигенной стимуляции : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.16 / И. В. Кудашева. – Томск, 1997. – 26 с.
81. Кузнецов, В. П. Интерфероны в каскаде цитокинов : исторический и современный аспекты / В. П. Кузнецов // Антибиотики и химиотерапия. – 1998. – Т. 43, № 5. – С. 28–40.
82. Куликова, О. В. Возрастная морфология не пораженных метастазами акселлярных лимфатических узлов у больных при раке молочной железы после полихимиотерапии : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.02 ; 14.00.15 / О. В. Куликова. – Барнаул, 2008. – 139 с.
83. Лабораторные животные / И. П. Западнюк [и др.]. – Киев : Вища школа, 1983. – 380 с.
84. Лазарев, Н. В. Адаптогены и рак / Н. В. Лазарев // Материалы конференции по опосредованному воздействию на опухолевый процесс. – Л., 1963. – С. 52–55.
85. Лазарев, Н. В. Состояние неспецифически повышенной сопротивляемости / Н. В. Лазарев, Е. И. Люблина, М. А. Розин // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1959. – Т. 3, № 4. – С. 16–21.
86. Лакин, Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.

87. Лапач, С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, Л. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – Киев : МОРИОН, 2001. – 408 с.
88. Левшин, В. Ф. Эпидемиология рака молочной железы / В. Ф. Левшин, П. М. Пихут. – М. : [б. и.], 1997. – 223 с.
89. Лейн-Петтер, У. Обеспечение научных исследований лабораторными животными / У. Лейн-Петтер. – М. : Медицина, 1964. – 194 с.
90. Лекарственные растения как средства дополнительной терапии для лечения опухолей / Е. Н. Амосова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2003. – № 2. – С. 24–34.
91. Лесиовская, Е. Е. Препараты тонизирующего действия на фармацевтическом рынке Северо-Запада / Е. Е. Лесиовская, Е. В. Коноплева // Ремедиум. – 2002. – № 1–2. – С. 49–53.
92. Летягин, А. Ю. Экспериментальная перестройка синхронизирующими факторами суточных биоритмов органов лимфоидной системы : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.02 / А. Ю. Летягин. – Новосибирск, 1984. – 15 с.
93. Летягин, В. П. Первичные опухоли молочной железы : практическое руководство по лечению / В. П. Летягин. – М. : Миклош, 2004. – С. 58–60.
94. Летягин, В. П. Современные подходы к лечению рака молочной железы / В. П. Летягин // Вопросы онкологии. – 1985. – № 8. – С. 108–110.
95. Лечение доброкачественных и злокачественных заболеваний молочной железы / В. П. Летягин [и др.]. – М. : [б. и.], 1997. – 287 с.
96. Лойт, А. А. Теория лимфогенного метастазирования рака и пролиферации / А. А. Лойт, А. В. Гуляев. – СПб. : Элби, – 2005. – 88 с.
97. Лушников, Е. Ф. Лучевой патоморфоз опухолей человека / Е. Ф. Лушников. – М. : Медицина, 1977. – 328 с.
98. Лушников, Е. Ф. Патологоанатомическая диагностика злокачественных опухолей / Е. Ф. Лушников. – М. : Медицина, 1993. – 560 с.
99. Лыженкова, М. А. Иммунобиологические критерии состава и стандартизации фитоадаптогена для профилактической онкологии клиники :

дис. ... канд. биол. наук : 14.00.14 ; 14.00.36 / М. А. Лыженкова. – М., 2003. – 123 с.

100. Майбородина, В. И. Общие и специфические закономерности реакции лимфатических узлов различных регионов на неоадьювантную терапию при раке (экспериментально-клиническое исследование) : дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.02 ; 14.00.15 / В. И. Майбородина. – Барнаул, 2009. – 582 с.

101. Масная, Н. В. Реакции иммунной и кроветворной систем у мышей разных линий после антигенного и цитостатического воздействия : дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.16 / Н. В. Масная. – Томск, 2005. – 586 с.

102. Международная гистологическая номенклатура (на латинском, русском и английском языках) / под ред. В. В. Семченко [и др.]. – Омск : Омская медицинская академия, 1999. – 156 с.

103. Методика оценки клеточного состава лимфатических узлов / М. Р. Сапин [и др.] // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1988. – № 8. – С. 85–89.

104. Михайлова, М. Н. Морфофункциональные изменения тимуса и показатели крови после введения циклофосфана, имунофана и их комбинации : дис. ... канд. мед. наук : 03.00.25 / М. Н. Михайлова. – М., 2004. – 118 с.

105. Мичурин, И. Е. Регионарные лимфатические узлы яичка в норме, при экспериментальном опухолевом росте в яичке и его лечение цитостатиками и фитокомплексом : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.02 / И. Е. Мичурин. – Новосибирск, 2003. – 19 с.

106. Моисеенко, В. М. «Естественная история» роста рака молочной железы / В. М. Моисеенко // Практическая онкология. – 2002. – Т. 3, № 1. – С. 6–14.

107. Молекулярная биология клетки : в 3 т. Т. 1–3 / Б. Альбертс [и др.]. – М. : Мир, 1994.

108. Молоковский, Д. С. Патогенетические основы применения адаптогенных фитокомплексов и их биологическая активность при различных

патологических состояниях : дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.16 / Д. С. Молоковский. – СПб., 2004. – 324 с.

109. Монцевичюте-Эрингене, Е. В. Изменения иммунобиологических свойств опухоли под влиянием алкирирующих препаратов/ Е. В. Монцевичюте-Эрингене. – М. : Медицина, 1975. – С. 5–9.

110. Мустакимова, Н. Ф. Патоморфология и морфогенез поражений регионарных лимфатических узлов при раке молочных желез : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.15 / Н. Ф. Мустакимова. – Челябинск, 2004. – 129 с.

111. Муфазалова, Н. А. Влияние препаратов «тактивин» и «витамин Е» на токсичность и противоопухолевую активность циклофосфана / Н. А. Муфазалова, И. Д. Трещалин, Е. М. Трещалина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2004. – Т. 137, № 1. – С. 45–47.

112. Навашин, С. М. Модификаторы биологических реакций в терапии злокачественных новообразований / С. М. Навашин, М. М. Вядро // Итоги науки и техники. Сер. Онкология. – М., 1989. – Т. 21. – С. 4–14.

113. Напалков, Н. П. Клиническая онкология для семейного врача / Н. П. Напалков, Я. В. Бохман, А. М. Гранов. – СПб. : Гиппократ, 1995. – 178 с.

114. Наров, Ю. Э. Патогенетические аспекты сорбционных и лимфотропных методов коррекции эндотоксикоза у онкологических больных на фоне полихимиотерапии : дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.16 / Ю. Е. Наров. – Новосибирск, 2005. – 268 с.

115. Нейрохимические и иммунохимические механизмы действия корейского красного женьшеня и переступня белого, пролонгирующего продолжительность жизни белых крыс / Г. В. Априкян [и др.] // Нейрохимия. – 1998. – Т. 15, № 3. – С. 318–322.

116. Немцова, Е. Р. Принципы и методологические аспекты разработки и изучения антиоксидантных средств для онкологической клиники : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 14.00.14 / Е. Р. Немцова. – М., 2006. – 48 с.

117. Непомнящих, Л. М. Статистическое обеспечение оптимального объема выборки в морфологических исследованиях / Л. М. Непомнящих,

Е. Л. Лушникова, Л. В. Колесникова // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1981. – Т. 81, № 10. – С. 94–99.

118. Ноздрачев, А. Д. Анатомия крысы (лабораторные животные) / А. Д. Ноздрачев, Е. Л. Поляков. – СПб. : [б. и.], 2001. – 464 с.

119. Орлов, О. А. Органосохраняющее лечение рака молочной железы / О. А. Орлов // Российский онкологический журнал. – 2000. – № 5. – С. 7–10.

120. Осипов, А. И. Образование гидроксильных радикалов при взаимодействии гипохлорита с ионами железа / А. И. Осипов // Биофизика. – 1993. – Т. 38, № 3. – С. 390–396.

121. Особенности гемограммы и миелограммы при прогрессировании неходжкинских лимфом / Н. П. Домникова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. – Т. 140, № 7. – С. 95–99.

122. Особенности функционального состояния перитонеальных макрофагов мышей чувствительной и устойчивой линий при интравагинальном заражении вирусом простого герпеса типа 2 и мукозальной вакцинации / Е. В. Нагурская [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – Т. 145, № 2. – С. 196–201.

123. Пальцев, М. А. Межклеточные взаимодействия / М. А. Пальцев, А. А. Иванов. – М. : [б. и.], 1995. – С. 224.

124. Паранеопластическое поражение почек при солидных опухолях / Л. В. Козловская [и др.] // Нефрология и диализ. – 2002. – Т. 4, № 2. – С. 34–38.

125. Патоморфологическая характеристика регионарных лимфатических узлов при плоскоклеточном раке шейки матки в условиях эндолимфатического введения цитостатиков / Е. В. Бабаянц [и др.] // Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии : сборник материалов второй региональной конференции молодых ученых им. академика РАМН Н. В. Васильева. – Томск, 2007. – С. 13–14.

126. Патоморфологическая характеристика регионарных лимфатических узлов при плоскоклеточном раке шейки матки в условиях эндолимфатического

введения некоторых цитостатиков / Ю. И. Бородин [и др.] // Бюллетень СО РАМН. – 2004. – № 1. – С. 45–49.

127. Переводчикова, Н. И. Новое в терапии рака молочной железы / Н. И. Переводчикова. – М. : [б. и.], 1998. – 91 с.

128. Переводчикова, Н. И. Химиотерапия опухолевых заболеваний : руководство / под ред. Н. И. Переводчиковой. – М. : [б. и.], 2000 – 390 с.

129. Перспективы использования Фитомикс-40 для профилактической онкологии / О. А. Бочарова [и др.] // Российский биотерапевтический журнал. – 2002. – Т. 1, № 2. – С. 114.

130. Поддубная, И. В. Лекарственная терапия злокачественных опухолей (современное состояние и перспективы) / И. В. Поддубная // Русский медицинский журнал (онкология). – 1998. – № 10. – С. 2–7.

131. Потапнев, М. П. Апоптоз клеток иммунной системы и его регуляция цитокинами / М. П. Потапнев // Иммунология. – 2002. – № 4. – С. 237–243.

132. Потапов, Ю. Н. Морфологические изменения опухоли и лимфоидной ткани при моно- и сочетанной химиотерапии иммуномодуляторами и цитостатиками : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.14 / Ю. Н. Потапов. – М., 1993. – 32 с.

133. Применение комбинации паклитаксела, цисплатина и фторурацила в амбулаторной химиотерапии злокачественных опухолей / Л. В. Платинский [и др.] // Русский медицинский журнал. – 2000. – Т. 1, № 3. – С. 115.

134. Проблемы клинической и экспериментальной лимфологии : труды ИКиЭЛ СО РАМН / Ю. И. Бородин [и др.]. – Новосибирск, 1996. – Т. 5. – С. 33–38.

135. Проблемы ранней диагностики рака молочной железы / В. П. Демидов [и др.] // Вопросы онкологии. – 1983. – № 29 (11). – 38 с.

136. Профилактика, ранняя диагностика и лечение злокачественных новообразований : лекционный курс в рамках подпрограммы “О мерах по развитию онкологической помощи населению Российской Федерации” / под ред. М. И. Давыдова. – М. : Издательская группа РОНЦ, 2005. – 423 с.

137. Прыткина, О. К. Анатомия и патоморфология толстой кишки и ее лимфатического аппарата в условиях введения цитостатиков с последующей коррекцией биофлавоноидами курильского чая: автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.02 ; 14.00.15 / О. К. Прыткина. – Новосибирск, 2006. – 20 с.

138. Радзинский, В. Е. Перспективы оздоровления женщин с нарушениями репродуктивной системы / В. Е. Радзинский, В. Н. Зубкин, Т. Н. Иванова // Вестник РУДН. – 2003. – № 1. – С. 175–179.

139. Разина, Т. Г. Фитопрепараты и биологически активные вещества лекарственных растений в комплексной терапии злокачественных новообразований : экспериментальное исследование : дис. ... д-ра биол. наук : 14.00.25/ Т. Г. Разина. – Томск, 2006 – 336 с.

140. Разработка способов лекарственной профилактики рака молочной железы / Ф. К. Джигоев [и др.] // Сборник научных трудов Северо-Осетинского отделения Академии наук РФ. – 2005. – № 2. – С. 237–242.

141. Раппопорт, Я. Л. Проблемы патоморфоза / Я. Л. Раппопорт // Архив патологии. – 1962. – № 2. – С. 3–11.

142. Ромейс, Б. Микроскопическая техника / Б. Ромейс. – М. : Иностранная литература, 1954. – 718 с.

143. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты) : в 2 ч. Ч. 1, 2 / под ред. А. Н. Миронова. – М. : Гриф и К, 2012.

144. Сапин, М. Р. Лимфатический узел / М. Р. Сапин, Н. А. Юрина, Л. Э. Этинген. – М. : Медицина, 1987. – 271 с.

145. Саратиков, А. С. Радиола розовая ценное лекарственное растение (золотой корень) / А. С. Саратиков, Е. А. Краснов. – Томск : Изд-во ТГУ, 1987. – 254 с.

146. Саркисов, Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. – М. : Медицина, 1996. – 548 с.

147. Семененя, И. Н. Естественные киллерные клетки (ЕКК) как звено в иммунной системе организма / И. Н. Семененя // Иммунология. – 1991. – № 4. – С. 4–6.
148. Семиглазов, В. Ф. Минимальный рак молочной железы / В. Ф. Семиглазов, А. Г. Веснин, В. М. Моисеенко. – СПб. : Гиппократ, 1992. – 240 с.
149. Семиглазов, В. Ф. Рак молочной железы: профилактика, диагностика, лечение / В. Ф. Семиглазов. – Алма-Ата : Гылым, 1992. – 180 с.
150. Серов, А. А. Оценка иммунологического состояния лимфатических узлов, регионарных к опухоли / А. А. Серов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1980. – Т. 89. – № 2. – С. 196–198.
151. Серов, А. А. Оценка Т- и В-системы иммунитета регионарных лимфатических узлов у больных меланомой кожи и прогноз заболевания / А. А. Серов, З. Г. Кадагидзе // Вопросы онкологии. – 1983. – Т. 29, № 12. – С. 18–20.
152. Серов, А. А. Функциональная активность лимфатической системы у онкологических больных / А. А. Серов // Клиническая медицина – 1978. – Т. 56, № 2. – С. 125–127.
153. Сипров, А. В. Оптимизация химиотерапии злокачественных новообразований некоторыми антиоксидантами – производными 3-оксипиридина (экспериментальное исследование) : дис. ... д-ра мед. наук : 14.0025 ; 14.00.16 / А. В. Сипров. – М., 2009. – 283 с.
154. Способ предупреждения и подавления роста рака молочной железы в эксперименте : пат. 2301073 Рос. Федерация : МПК А 61 К 35/60, А 61 Р 35/00 / Хубецова Р. Д., Батагова Ф. Э., Гриднев Е. А. ; заявитель и патентообладатель ИБМИ ВНИЦ РАН. – № 2005110452/14 ; заявл. 11.04.05 ; опубл. 20.06.07, Бюл. № 17.
155. Стефанов, С. Б. Визуальная классификация при количественном сравнении изображений / С. Б. Стефанов // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1985. – Т. 88, № 2. – С. 78–83.

156. Струков, А. И. Общая патология человека : в 2 т. Т. 2. / под ред. А. И. Струкова, В. В. Серова, Д. С. Саркисова. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Медицина, 1990. – 416 с.

157. Структурная реорганизация печени крыс при цитотоксическом действии доксорубина/ О. П. Молодых [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – Т. 141, № 5. – С. 579–585.

158. Суховершин, А. А. Регионарные лимфатические узлы конечности в норме, при раневом воспалении и в условиях коррекции сорбентом СИАЛ и лазерным излучением : дис. ... канд. мед. наук : 14.03.01 / А. А. Суховершин. – Новосибирск, 2009. – 183 с.

159. Трапезников, Н. Н. К вопросу о функциональной активности лимфатических узлов у онкологических больных / Н. Н. Трапезников, А. А. Серов // Клиническая медицина. – 1978. – Т. 56, № 4. – С. 27–32.

160. Трапезников, Н. Н. Справочник по онкологии / под ред. Н. Н. Трапезникова, И. В. Поддубной. – М. : КАППА, 1996. – 624 с.

161. Трапезников, Н. Н. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ / Н. Н. Трапезников, Е. М. Аксель. – М. : РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, 2001. – 296 с.

162. Туркевич, Н. М. Нейроэндокринная система и экспериментальный рак молочной железы / Н. М. Туркевич, С. С. Васнецова, Н. С. Гутник ; под ред. Н. М. Туркевич. – Киев : Наукова Думка, 1982. – 184 с.

163. Тучные клетки молочной железы и регионарного лимфатического узла у крыс при раке молочной железы, индуцированном N-метил-N-нитрозомочевинной / М. Э. Дзодзикова [и др.] // Морфология. – 2005. – Т. 127, № 5. – С. 60–64.

164. Тюляндин, С. А. Химиотерапия диссеминированного рака молочной железы / С. А. Тюляндин // Практическая онкология. – 2000. – № 2. – С. 3–11.

165. Удинцев, С. Н. Механизмы повышения эффективности цитостатической химиотерапии злокачественных новообразований

адаптационными препаратами в эксперименте / С. Н. Удинцев // Бюллетень Томского Научного Центра АМН СССР. – Томск, 1992. – С. 80–87.

166. Ульянова, Т. Н. Морфологические изменения лимфатических узлов при развитии опухолевого процесса в эксперименте: автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.02 / Т. Н. Ульянова. – Киев, 1971. – 18 с.

167. Фармакологический анализ механизма адаптогенного действия элеутерококка и дибазола / Ж. И. Абрамова [и др.] // Лекарственные средства Дальнего Востока. – Владивосток, 1972. – Вып. 11. – С. 102–105.

168. Федин, Ю. В. Клеточные реакции стромы и реактивные изменения регионарных лимфатических узлов при раке молочной железы / Ю. В. Федин, В. Д. Ермилова // Вопросы онкологии. – 1984. – Т. 30, № 11. – С. 38–44.

169. Фрейдлин, И. С. Иммунная система и ее дефекты : руководство для врачей / И. С. Фрейдлин. – СПб. : НТФФ «Полисан», 1998. – 113 с.

170. Фрейдлин, И. С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновой иммунорегуляции / И. С. Фрейдлин // Иммунология. – 2001. – № 5. – С. 4–7.

171. Хакимова, Р. Х. Оптимизация ранней диагностики рака молочной железы на амбулаторно–поликлиническом этапе : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.14 / Р. Х. Хакимова. – Уфа, 1999. – 24 с.

172. Холланд, Д. Рак. Вызов, брошенный химикам / Д. Холланд // Журнал Всесоюзного химического общества им. Д. И. Менделеева. – 1973. – № 6. – С. 602–610.

173. Хубулова, А. Е. Возможности химиопрофилактики рака органов желудочно–кишечного тракта в эксперименте: дис. ... канд. мед. наук : 14.00.25 / А. Е. Хубулова. – М., 2008. – 207 с.

174. Цыплаков, Д. Э. Гиперпластическая фолликулярная реакция регионарных лимфатических узлов при раке (иммуногистохимия, ультраструктура, прогностическое значение) / Д. Э. Цыплаков, С. В. Петров // Архив патологии. – 1997. – Т. 59, № 4. – С. 55–60.

175. Цыплаков, Д. Э. Динамика и прогностическое значение морфологических изменений регионарных к раковой опухоли лимфатических узлов / Д. Э. Цыплаков, В. А. Добрынин // Казанский медицинский журнал. – 1989. – Т. 70, № 6. – С. 453–456.

176. Цыплаков, Д. Э. Рак и регионарные лимфатические узлы (иммуногистохимическое и ультраструктурное исследование) / Д. Э. Цыплаков, С. В. Петров // Архив патологии. – 1997. – Т. 59, № 1. – С. 12–19.

177. Цыплаков, Д. Э. Рак и регионарные лимфатические узлы (иммуногистохимическое и ультраструктурное исследование) : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.14 / Д. Э. Цыплаков. – СПб., 1997. – 32 с.

178. Цыплаков, Д. Э. Рак и регионарные лимфоузлы / Д. Э. Цыплаков // Архив патологии. – 1997. – № 4. – С. 155–160.

179. Чекалина, Т. Л. Клинико-иммунологическая оценка эффективности применения Фитомикс-40 в комплексном лечении больных лейкоплакией : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.21 ; 14.00.36 / Т. Л. Чекалина. – М., 2002. – 155 с.

180. Чекнев, С. Б. Естественная цитотоксичность в комплексе межклеточных взаимодействий / С. Б. Чекнев // Вестник РАМН. – 1999. – № 4. – С. 30–34.

181. Чекнев, С. Б. Недостаточность системы интерферона как механизм развития иммунодефицита по естественным киллерам / С. Б. Чекнев // Иммунология. – 1993. – № 6. – С. 8–12.

182. Чекнев, С. Б. Фенотипическая и функциональная гетерогенность циркулирующего пула естественных киллеров / С. Б. Чекнев // Иммунология. – 1999. – № 4. – С. 24–32.

183. Чекнев, С. Б. Функциональная организация и механизмы внутренней регуляции системы естественной цитотоксичности человека / С. Б. Чекнев // Вестник РАМН. – 1999. – № 10. – С. 37–40.

184. Черенкова, М. М. Структура акселлярных лимфатических узлов и лимфорея после неоадьювантного лечения при раке молочной железы : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.15 / М. М. Черенкова. – Новосибирск, 2005. – 186 с.

185. Чиссов В. И. Злокачественные заболевания в России в 2011 году (заболеваемость и смертность) / В. И. Чиссов, В. В. Старинский, Г. В. Петрова. – М. : ФГБУ МНИОИ им. П. А. Герцена Минздрава России. – 2013. – 289 с.
186. Чиссов, В. И. Современное состояние онкологии и перспективы ее развития / В. И. Чиссов // Российский онкологический журнал. – 1996. – № 4. – С. 50–54.
187. Чочиева А. Р. Химиопрофилактика рака молочной железы в эксперименте : дис. ... д-ра мед. наук : 14.03.06 / А. Р. Чочиева. – Старая Купавна, 2010. – 289 с.
188. Чочиева, А. Р. Влияние бета-каротина и комплексного препарата «Бета-кламин» на возникновение опухолей молочной железы, индуцированных у крыс N-метил-N-нитрозомочевинной / А. Р. Чочиева, Л. З. Болиева, Ф. К. Джигоев // Перспективные информационные технологии и проблемы управления рисками на пороге нового тысячелетия : материалы международного экологического симпозиума. – СПб., 2000. – С. 288–289.
189. Шилова, Н. В. Влияние экстрактов ольхи клейкой на развитие перевиваемых опухолей в условиях цитостатической терапии : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.25 / Н. В. Шилова. – Томск, 2005. – 228 с.
190. Шуркус, В. Э. Грудной проток : Теоретические и прикладные аспекты / В. Э. Шуркус, Е. А. Шуркус, Л. Д. Роман. – СПб. : [б. и.], 2003. – 284с.
191. Шуркус, В. Э. Ультразвуковая оценка состояния; лимфатических узлов у больных раком молочной железы / В. Э. Шуркус, Е. А. Шуркус, Л. Д. Роман // Рак молочной железы : Актуальные вопросы диагностики и лечения. – Архангельск, 1998. – 142 с.
192. Эндогенная интоксикация у больных с доброкачественной гиперплазией предстательной железы II–III стадии / А. В. Соломенников [и др.] // Эфферентная терапия. – 2000. – № 2. – С. 40–44.
193. Эрдниев, С. П. Оценка эффективности новых цитостатиков при антрациклинрезистентных формах рака молочной железы : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.14 / С. П. Эрдниев. – СПб., 2005. – 154 с.

194. Юшков, В. Г. Глюкозаминогликаны и стволовые кроветворные клетки в норме и при опухолевом росте / В. Г. Юшков // Стволовые клетки и опухолевый рост. – Киев, 1985. – С. 74–76.
195. Якубовская, Р. И. Современные представления о молекулярных механизмах канцерогенеза и опухолевой прогрессии как основа для разработки новых методов терапии злокачественных новообразований / Р. И. Якубовская. // Российский онкологический журнал. – 2000. – № 6. – С. 42–50.
196. Яременко, К. В. Адаптогены как средства профилактической медицины / К. В. Яременко. – Томск : [б. и.], 1990. – 92 с.
197. Activated peritoneal macrophages inhibit the proliferation of rat ascites hepatoma AH-130 cells via the production of tumor necrosis factor-alpha and nitric oxide / H. Maekawa [et al.] // Inflammatory Research. – 2000. – № 49. – P. 541–547.
198. Alex, J. C. Gamma-probe guided localization of lymph nodes / J. C. Alex, D. N. Krag // Surgeon Oncology. – 1993. – Vol. 2, № 3 – P. 137–143.
199. Alpha-tocopherol reduces doxorabi-cin-induced toxicity in rats-histological and biochemical evidences / A. Geetlia [et al.] // Indian Journal Physiology Pharmacology. – 1990. – Vol. 34, № 2. – P. 94–100.
200. Anti-oxidant and immunomodulatory properties of seabuckthorn (Hippophae rhamnoides)-an in vitro study / S. Geetha [et al.] // Journal Ethnopharmacology. – 2002. – Vol. 79, № 3. – P. 373–378.
201. Axillary recurrence after negative sentinel lymph node biopsy without axillary dissection : a study on 479 breast cancer patients / G. Zavagno [et al.] // European Journal Surgeon Oncology. – 2005. – Vol. 8. – P. 1039–1043.
202. BR96-doxorubicin conjugate (BMS-182248) versus doxorubicin: a comparative toxicity assessment in rats / C. R. Comereski [et al.] // Toxicology Pathology. – 1994. – Vol. 22, № 5. – P. 473–488.
203. Brigelius-Flone, R. Vitamin E : function and metabolism / R. Brigelius-Flone, M. G. Traler // The Faseb Journal. – 1999. – Vol. 13. – P. 1145–1155.

204. Can breast MRI help in the management of women with breast cancer treated by neoadjuvant chemotherapy / R. M. Warren [et al.] // *British Journal of Cancer*. – 2004. – № 90. – P. 1349–1360.

205. Chemoprevention of mammary, cervix and nervous system carcinogenesis in animals using cultured *Panax ginseng* drugs and preliminary clinical trials in patients with precancerous lesions of the esophagus and endometrium / V. G. Beshpalov [et al.] // *Journal Korean Medical Science*. – 2001. – Vol. 16. – P. 42–53.

206. Chen, L. W. The value and vitamin C in preventing cancer / L. W. Chen, K. J. Barnes // *Cancer prevention*. – 1990. – P. 1–16.

207. Combined effect of 5-fluorouracil and carboplatin against human gastric cancer cell lines in vitro and in vivo / Y. Saikawa [et al.] // *Anticancer Rescuer*. – 1994. – Vol. 14, № 2A. – P. 461–464.

208. Cyclophosphamide augments inflammation by reducing immunosuppression in a mouse model of allergic airway disease/ Y. C. Su [et al.] // *Journal Allergy Clinical Immunology*. – 2006. – Vol. 117, № 3. – P. 635–641.

209. Cyclophosphamide decreases the number, percentage and the function of CD25+ CD4+ regulatory T cells, which suppress induction of contact hypersensitivity / Y. Ikezawa [et al.] // *Journal Dermatology Science*. – 2005. – Vol. 39, № 2. – P. 105–112.

210. Doerr, W. Changes of form of typical diseases from the pathology–anatomic aspect / W. Doerr // *Dotsche Medical Journal*. – 1956. – Vol. 7, № 15 – P. 97–105.

211. Dworak, O. Morphology of lymph nodes in the resected rectum of patients with rectal carcinoma / O. Dworak // *Pathology Research of Practical*. – 1991. – Vol. 187, № 8. – P. 1020–1024.

212. Effect of the standardized ginseng extract G 115 on the metabolism and electrical activity of rabbit brain / M. H. Samira [et al.] // *Journal International Medicine Research*. – 1985. – Vol. 13, № 6. – P. 342–348.

213. Fagrell, B. Microcirculatory methods for the clinical assessment of hypertension, hypotension, and ischemia / B. Fagrell // *Annals Biomedical Engineering*. – 1986. – Vol. 14, № 2. – P. 163–173.

214. Fisher, E. R. Pathobiology of preoperative chemotherapy : findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel (NSABP) protocol B-18 / E. R. Fisher, J. Wang, J. Bryant // *Cancer*. – 2002. – № 95 – P. 681–695.

215. Globocan 2008: cancer incidence and mortality worldwide [Electronic resource] / J. Ferlay [et al.]. – Lyon : International agency for research on cancer, 2010. – Режим доступа : <http://globocan.iarc.fr>. – Загл. с экрана.

216. Gowri, V. Cellular adhesion and paracrine growth regulation in lymph node metastasis of breast carcinoma cells / V. Gowri, J. Nip, H. Brodt // *Process Annual Meeting of American Association. Cancer Research*. – 1993. – Vol. 34. – P. 362.

217. Gullino, P. M. N-nitrosomethylurea as mammary gland carcinogen in rats / P. M. Gullino, H. M. Pettigrew, F. H. Grantham // *Journal National of Cancer Institute*. – 1975. – Vol. 54, № 2 – P. 401–414.

218. High-resolution axillary ultrasound is a poor prognostic test for determining pathologic lymph node status in patients undergoing neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast cancer / N. Klauber-Demore [et al.] // *American Journal Surgeon*. – 2004. – Vol. 188, № 4. – P. 386–389.

219. Huggins, C. B. Experimental leukemia and mammary cancer / C. B. Huggins. – University of Chicago Press, 1979. – 221 p.

220. Human granulocyte chemotactic peptide (IL-8) as a specific neutrophil degranulator: comparison with other monokines / J. Willems [et al.] // *Immunology*. – 1989. – Vol. 67, № 4. – P. 540–542.

221. Huong, N. T. The antistress effect of Mayonozide R 2, a major saponin of Vietnamese ginseng: Neuronal mechanism of action / N. T. Huong, K. Matsumoto, H. Watanabe // *Methods and Find Experimental and Clinical Pharmacology*. – 1998. – Vol. 20, № 1. – P. 65–76.

222. Hypoglycemic activity of ginseng glycopeptide / B. X. Wang [et al.] // *Acta pharmacologic*. – 2003. – Vol. 24, № 1. – P. 50–54.

223. Incidence of axillary recurrence in 113 sentinel node negative breast cancer patients : a 3-year follow-up study / M. C. Kokke [et al.] / *European Journal Surgeon Oncology*. – 2005. – Vol. 31, № 3. – P. 221–225.

224. Johnson, J. M. The cutaneous circulation / J. M. Johnson // In book : *Laser-Doppler blood flowmetry* / ed. by A. P. Shepherd. – Kluwer : Ac. Pub, 1990. – P. 121–141.

225. Kaufmann, M. Prognostic factors in breast cancer / M. Kaufmann, F. Sharl // *European Journal of Cancer*. – 2000. – Vol. 36. – P. 293–306.

226. Kundu, A. B. Binding of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene to BALB/c mouse mammary gland DNA in organ culture/ A. B. Kundu, N. T. Telang, M. R. Banerjee // *Journal National Cancer Institution*. – 1978. – Vol. 61, № 2 – P. 465–469.

227. Li, X. Pharmacological variations of Panax ginseng C. A. Meyer during processing / X. Li, R. Guo, L. Li // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. – 1991. Vol. 16, № 1. – P. 3–7; 62.

228. Lichtenstein, A. K. Enhancement of natural killer cytotoxicity by cis-diamminedichloroplatinum (II) in vivo and in vitro/ A. K. Lichtenstein, D. Pende // *Cancer Research*. – 1986. – Vol. 46, № 2. – P. 639–644.

229. Lin, T. J. Activation of macrophage CD8: pharmacological studies of TNF and IL-113 production / T. J. Lin, N. Hirji, G. R. Stenton // *The Journal of Immunology*. – 2000. – № 64. – P. 1783–1792.

230. Lymph node histology in head and neck cancer: impact of immunotherapy with IRX-2 / A. Meneses [et al.] // *International Immunopharmacology*. – 2003. – Vol. 8, № 3 – P. 1083–1091.

231. Macdonald, J. S. Chemotherapy of advanced gastric cancer: present status, future prospects / J. S. Macdonald, J. J. Gohmann // *II Seminar of Oncology* – 1988. – Vol. 15, № 3. – P. 42–49.

232. Medina, D. Significance of chemical carcinogen-induced immunosuppression in mammary tumor genesis in BALB-c mice/ D. Medina,

G. Stockman, D. Griswold // *Cancer Research*. – 1974. – Vol. 34, № 10. – P. 2663–2668.

233. Miller, I. D. A new histological grading system to assess response of breast cancer to primary chemotherapy / I. D. Miller, S. Payne, K. N. Ogston // *International Journal of Oncology*. – 2002. – № 20. – P. 791–796.

234. Nandi, S. Role of hormones in mammary neoplasia / S. Nandi // *Cancer Research*. – 1978. – Vol. 38, № 11, Pt. 2. – P. 4046–4049.

235. Neoplastic transformation of mammary epithelial cells in rats is associated with decreased apoptotic cell death/ A. Shilkaitis [et al.] // *Carcinogenesis*. – 2000. – Vol. 21, № 2. – P. 227–233.

236. Nicol, D. Cyclophosphamide and the urinary tract / D. Nicol // *International Medicine*. – 2002. – Vol. 32, № 5-6. – P. 199–201.

237. Noble, R. L. Mammary tumors of the rat : a review. / R. L. Noble, J. H. Cutts // *Cancer Research*. – 1959. – № 19. – P. 1125–1139.

238. Oscillations in the human cutaneous blood perfusion signal modified by endothelium-dependent and endothelium-independent vasodilators / H. D. Kvernmo [et al.] // *Microvascular Research*. – 1999. – Vol. 57, № 3 – P. 298.

239. Oxidative burst and anticancer activities of rat neutrophils / M. Zivkovic [et al.] // *Biofactors*. – 2005. – Vol. 24, № 1–4. – P. 305–312.

240. Phase i and pharmacologic study of oral topotecan administered twice daily for 21 days to adults patients with solid tumors/ G. J. Greemers [et al.] // *Journal Clinical Oncology*. – 1997. – Vol. 15. – P. 1087–1093.

241. Pierres, A. Adhesion molecules and cancer / A. Pierres, A. M. Benoliel, P. Bongrand // *Review Medicine International*. – 1999. – Vol. 20, № 12. – P. 1099–1113.

242. Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *taxus brevifolia* / M. C. Wani [et al.] // *Journal American Chemical Society*. – 1971. – Vol. 93. – P. 2325–2327.

243. Potentiation of cytotoxicity of mitomycin C by a polyacetylenic alcohol, panaxytriol / H. Matsunaga [et al.] // *Cancer Chemotherapy Pharmacology*. – 1994. – Vol. 33, № 4. – P. 291–297.

244. Prediction of axillary lymph node status in breast cancer patients by use of prognostic indicators/ P. M. Ravdin [et al.] // *Journal National Cancer Institute*. – 1994. – Vol. 86. – P. 1771–1775.

245. Radioguided sentinel node biopsy to avoid axillary dissection in breast cancer / S. Zurrida [et al.] // *Annual of Surgeon Oncology*. – 2000. – Vol. 7, № 1. – P. 28–31.

246. Recent advances in the discovery and development of flavonoids and their analogues as antitumor and anti-HTV agents / H. K. Wang [et al.] // *Adventure Experimental Medical Biology*. – 1998. – Vol. 439. – P. 191–225.

247. Response of different organs of immune system of mice upon administration bacterial CpG DNA / S. Olishovsky [et al.] // *Experimental Oncology*. – 2005. – № 4. – P. 290–297.

248. Role of ultrasound-guided fine needle cytology of axillary lymph nodes in breast carcinoma staging / B. Brancato [et al.] // *Radiology Medicine*. – 2004. – Vol. 108, № 4. – P. 345–355.

249. Role of ultrasound-guided fine-needle aspiration of indeterminate and suspicious axillary lymph nodes in the initial staging of breast carcinoma / S. Krishnamurthy [et al.] // *Cancer*. – 2002. – Vol. 95, № 5. – P. 982–988.

250. Sentinel node biopsy in breast cancer: early results in 953 patients with negative sentinel node biopsy and no axillary dissection / U. Veronesi [et al.] // *European Journal Cancer*. – 2005. – Vol. 41, № 2. – P. 231–237.

251. Sentinel node biopsy without systematic axillary dissection: study about 1000 procedures / S. Giard [et al.] // *Gynecology Obstetric Fertility*. – 2005. – Vol. 33, № 4. – P. 213–219.

252. Site-specific human breast cancer (MDA-MB-231) metastases in nude rats : model characterization and in vivo effects of ibandronate on tumor growth /

M. Neudert [et al.] // International Journal of Cancer. – 2003. – Vol. 107, № 3. – P. 468–477.

253. Slemmer, G. Proceedings: Interactions of separate types of cells during normal and neoplastic mammary gland growth / G. Slemmer // Journal Investigation of Dermatology. – 1974. – Vol. 63, № 1. – P. 24–47.

254. Smits, G. J. Evaluation of laser-Doppler flowmetry as a measure of tissue blood flow / G. J. Smits, R. J. Roman, J. H. Lombard // Journal Applied of Physiology. – 1986. – Vol. 61. – P. 666–672.

255. Sporn, M. B. Chemoprevention of cancer / M. B. Sporn, N. Suh // Carcinogenesis. – 2000. – Vol. 3. – P. 525–530.

256. Tarillion, P. Micronucleated cells during the growth of the Ehrlich ascites tumor on spontaneous and by titanocenedichloride– induced conditions / P. Tarillion, G. Taubert, H. Nenning // Mutation Research. – 1997. – № 17. – P. 213–218.

257. Tilney, N. L. Patterns of lymphatic drainage in the adult laboratory rat / N. L. Tilney // Journal of Anatomy. – 1971. – Vol. 109, № 3. – P. 369–383.

258. Torgersen, O. Regional distribution of DMBA-induced mammary tumors in the rat / O. Torgersen // Acta Pathology Microbiology Scandinavia Academic. – 1975. – Vol. 83, № 6. – P. 639–644.

259. Treatment of disseminated germ-cell tumors with cisplatin, bleomycin, and either vinblastine or etoposide / S. D. Williams [et al.] // New England Journal of Medicine. – 1987. – Vol. 316. – P. 1435–1440.

260. Tsang, D. Ginseng saponins: influence on neurotransmitter uptake in rat brain synaptosomes / D. Tsang // Plantae Medical. – 1985. – № 3. – P. 221 –224.

261. Tumor microvessel density and prognosis in node-negative breast cancer/ L. Medri [et al.] // International Journal of Cancer. – 2000. – Vol. 89, № 1. – P. 74–80.

262. Twenty years of experience with the steroid receptor external quality assessment program – the paradigm for tumor biomarker EQA studies. On behalf of the EROTC receptor and biomarker study group / J. Geurts-Moespot [et al.] // International Journal of Oncology. – 2000. – Vol. 17, № 1 – P. 13–22.

263. Veronesi, U. Sentinel lymph node biopsy and axillary dissection in breast cancer: results in a large series / U. Veronesi, G. Paganelli, G. Viale // Journal National of Cancer Institute. – 1999. – Vol. 91, № 4. – P. 368–373.

264. Wahl, L. M. Tumor-associated macrophages as targets for cancer therapy / L. M. Wahl, H. K. Kleinman // Journal National Cancer Institution. – 1998. – Vol. 90. – P. 1583.

265. Wu, X. G. Anticarcinogenic effect of red ginseng on the development of liver cancer induced by diethylnitrosamine in rats / X. G. Wu, H. Zhu, X. Li // Journal Korean of Medicine Science. – 2001. – № 16. – P. 61–65.

266. Yun, T. K. Anticarcinogenic effect of red ginseng and identification of active compounds / T. K. Yun, Y. S. Lee // Journal Korean Medical Science. – 2001. – № 16. – P. 6–18.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 1 – Акселлярный лимфатический узел крыс-самок при инъекции раствора туши в молочную железу : 1 – место инъекции, 2 – окрашивание лимфатического узла, 3 – лимфатический сосуд (инъекция 1 мл 5 %-го раствора туши в 0,9 %-м растворе хлорида натрия)..... С. 33
2. Рисунок 2 – Кровеносные сосуды молочной железы intactных половозрелых крыс-самок Wistar - красное свечение (Isolectin GS-IB4, Alexa Fluor 594, фильтр ZEISS 00,02). Ув. 1000..... С. 38
3. Рисунок 3 – Лимфатические сосуды молочной железы intactных половозрелых крыс-самок Wistar – зеленое свечение (DLL-4, ABCAM-FITC, фильтр ZEISS 02,38). Ув. 1000..... С. 39
4. Рисунок 4 – Акселлярный лимфатический узел intactных крыс-самок Wistar – фрагментированный тип. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 800..... С. 41
5. Рисунок 5 – Индуцированная - N-метил-N-нитрозомочевинной опухоль молочной железы у крыс-самок Wistar (6 месяцев роста). Низкодифференцированная карцинома с инфильтрирующим характером роста. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 400..... С. 44
6. Рисунок 6 – Индуцированная - N-метил-N-нитрозомочевинной опухоль молочной железы у крыс-самок Wistar (6 месяцев роста). Высокодифференцированная карцинома. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 400..... С. 44
7. Рисунок 7 – Кровеносные сосуды в опухоли молочной железы половозрелых крыс-самок Wistar - красное свечение. (Isolectin GS-

- IB4, Alexa Fluor 594, фильтр ZEISS 00,02).
Ув. 1000..... С. 45
8. Рисунок 8 – Лимфатические сосуды в опухоли молочной железы половозрелых крыс-самок Wistar – зеленое свечение. (DLL-4, ABCAM-FITC, фильтр ZEISS 02,38). Ув. 1000..... С. 45
9. Рисунок 9 – Акселлярный лимфатический узел в норме (9А) и при экспериментальной опухоли молочной железы половозрелых крыс-самок Wistar (9Б) (увеличение площади мозгового вещества, площади лимфоидных узелков без светлых центров, уменьшение площади коркового вещества по сравнению с нормой) – фрагментированный тип. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 800..... С. 47
10. Рисунок 10 – Атипичные опухолевые клетки, иммунобласты, средние лимфоциты, малые лимфоциты, незрелые плазматические клетки, ретикулярные и зрелые плазматические клетки в мозговых тяжах акселлярного лимфатического узла крыс при экспериментальной опухоли молочной железы. Окрашивание гематоксилином и эозином. Ув. 800..... С. 48
11. Рисунок 11 – Опухоль молочной железы крыс-самок Wistar после курса неоадьювантной полихимиотерапии (наблюдается деструкция опухолевой ткани: разрастание стромы, дистрофия клеток, инфильтрация). Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 400..... С. 56
12. Рисунок 12 – Акселлярный лимфатический узел при экспериментальной опухоли молочной железы половозрелых крыс-самок Wistar после курса неоадьювантной полихимиотерапии (увеличение тимусзависимой зоны, уменьшение площади мозговых и краевого синусов). Окрашивание гематоксилином-эозином. Ув. 800.. С. 57
13. Рисунок 13 – Атипичные опухолевые клетки в акселлярном

- лимфатическом узле крыс при экспериментальной опухоли молочной железы после курса неoadъювантной полихимиотерапии, тубулярные и солидные структуры среди лимфоидной ткани (увеличение количества иммунобластов, малых лимфоцитов, уменьшение количества опухолевых клеток. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 800..... С. 58
14. Рисунок 14 – Корково-мозговой индекс подмышечных лимфатических узлов при опухоли молочной железы (ОМЖ), в условиях химиотерапии (ХТ) – и фитокоррекции (Ф), фитопрофилактики (ФП)($M \pm m$); *– достоверность отличия с нормой $p < 0,05$ С. 61
15. Рисунок 15 – Относительная площадь Т- и В-зависимых зон подмышечных лимфатических узлов при опухоли молочной железы (ОМЖ), в условиях химиотерапии (ХТ)- и фитокоррекции (Ф), фитопрофилактики (ФП) ($M \pm m$); *– достоверность отличия с нормой $p < 0,05$ С. 61
16. Рисунок 16 – Опухоль молочной железы после неoadъювантной полихимиотерапии, дополненной фитокоррекцией (интенсивное разрастание стромы, которая в опухоли преобладает над паренхимой; соединительной ткани). Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 400..... С. 63
17. Рисунок 17 – Акселлярный лимфатический узел (фрагментированный тип) при экспериментальной опухоли молочной железы половозрелых крыс-самок Wistar после неoadъювантной полихимиотерапии, дополненной фитокоррекцией (увеличение площади лимфоидных узелков со светлыми центрами, количества незрелых форм клеток, малых лимфоцитов). Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 800..... С. 63
18. Рисунок 18 – Относительная площадь мозговых тяжей (МТ) и синусов (МС), вторичных лимфоидных узелков (ВЛУ) акселлярных

- лимфатических узлов при опухоли молочной железы (ОМЖ), в условиях химиотерапии (ХТ) и фитокоррекции и (Ф), фитопрофилактики (ФП) ($M \pm m$); * – достоверность отличия с нормой $p < 0,05$ С. 69
19. Рисунок 19 – Количество иммунобластов (ИБЛ), средних (СрЛ) и малых (МЛ) лимфоцитов в светлых центрах акселлярных лимфатических узлов при опухоли молочной железы (ОМЖ), в условиях химиотерапии (ХТ) и фитокоррекции (Ф), фитопрофилактики (ФП) ($M \pm tm$); * – достоверность отличия с нормой $p < 0,05$ С. 69
20. Рисунок 20 – Численность иммунобластов (ИБЛ), зрелых (ЗрПл) и незрелых (НзПл) плазматических клеток в мозговых тяжах акселлярных лимфатических узлов при опухоли молочной железы (ОМЖ), в условиях химиотерапии (ХТ) и фитокоррекции (Ф), фитопрофилактики (ФП) ($M \pm tm$); * – достоверность отличия с нормой $p < 0,05$ С. 70
21. Рисунок 21 – Опухоль молочной железы на фоне профилактического применения фитокомплекса при экспериментальной опухоли молочной железы половозрелых крыс-самок Wistar (типичная и атипичная гиперплазия ткани молочной железы). Окрашивание гематоксилином-эозином. Ув. 400..... С. 72
22. Рисунок 22 – Опухоль молочной железы на фоне профилактического применения фитокомплекса при экспериментальной опухоли молочной железы половозрелых крыс-самок Wistar (внутридольковый неинфильтрирующий рак молочной железы). Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 400..... С. 73
23. Рисунок 23 – Акселлярный лимфатический узел на фоне профилактического применения фитокомплекса при росте экспериментальной опухоли молочной железы у половозрелых

- крыс-самок Wistar (увеличение Т-зависимой зоны, уменьшение площади мозговых и краевого синусов) – фрагментированный тип. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. 800..... С. 75
24. Рисунок 24 – Иммунобласты, малые лимфоциты, макрофаги, ретикулярные клетки и средние лимфоциты акселлярного лимфатического узла на фоне применения фитокомплекса при росте экспериментальной опухоли молочной железы у половозрелых крыс-самок Wistar. Опухолевые клетки отсутствуют. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 800..... С. 75
25. Таблица 1 – Распределение подопытных животных в исследовании по группам..... С. 27
26. Таблица 2 – Относительные размеры структурно-функциональных зон акселлярных лимфатических узлов в норме, при опухоли молочной железы (ОМЖ) и в условиях химиотерапии (Х) и фитокоррекции (Ф), фитопрофилактики (ФП) ($M \pm m$) %..... С. 51
27. Таблица 3 – Клеточный состав структурно-функциональных зон акселлярного лимфатического узла крыс в норме, при экспериментальной опухоли молочной железы (ОМЖ) и в условиях химиотерапии (Х) и фитокоррекции (Ф), фитопрофилактики (ФП) ($M \pm m$) %..... С. 52
28. Таблица 4 – Показатель микроциркуляции (М) (пф.ед), индекс эффективности микроциркуляции (ИЭМ), среднее квадратическое отклонение (δ) (пф.ед), коэффициент вариации (Kv) (%), величины и соотношения амплитуд колебаний в красном диапазоне спектра излучения в молочной железе (МЖ) в норме, при экспериментальной опухоли молочной железы (ОМЖ) и в условиях химиотерапии (ХТ) и фитокоррекции (Ф), фитопрофилактики (ФП) ($M \pm m$)..... С. 68