

## МАКРОСИСТЕМНЫЙ ПОДХОД В ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ПРИ УРОТЕЛИАЛЬНОМ РАКЕ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ ПО ДАННЫМ КОМПЬЮТЕРНОЙ МОРФОМЕТРИИ

© М. Т. Абенова,<sup>1</sup> Т. С. Фрязинова,<sup>2</sup> Н. В. Жарков<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Казахский научно-исследовательский институт онкологии и радиологии и*

<sup>2</sup> *Научно-исследовательский институт экспериментальной и теоретической физики при КазНУ им. Аль-Фараби, Алма-Ата, Республика Казахстан*

Работа посвящена исследованию возможности включения в цитологическую диагностику уротелиальных неоплазий макросистемных подходов, направленных на оценку системных реакций клеток в процессе неопластической трансформации и в ходе лечения (на примере 95 больных уротелиальным раком мочевого пузыря). Для этого изучали следующие количественные показатели: размеры площадей ядер и цитоплазмы, функциональную активность клеточных структур и уровень неоднородности функциональной напряженности в пространстве клетки. Установлено, что уротелий в норме имеет внутреннюю фрактальную структуру более активную, чем в опухолевой клетке. Повреждающее воздействие лучевой терапии приводит к снижению потенциала ядра и перестройке структуры цитоплазмы. Прием макросистемных подходов в цитологических исследованиях позволяет более унифицированно подходить к анализу устойчивости клеток уротелия и получить целый ряд новых количественных характеристик состояния клеток.

Ключевые слова: уротелий, мочевой пузырь, рак, морфометрия, клетка, ядро, цитоплазма.

Вопросы ранней диагностики рака и предраковых состояний мочевого пузыря являются важной проблемой онкоурологии, где существенную помощь оказывает цитологический метод исследования. Раннее морфологическое установление диагноза и выявление признаков, определяющих прогноз течения болезни, необходимы как для выбора успешной тактики лечения, так и для оценки эффективности проводимой терапии (Деденков и др., 1987; Огнерубов и др., 1998). Современная онкология нуждается в точной и всесторонней характеристике опухоли на всех этапах ее развития. В связи с этим все еще остается актуальным поиск объективных критериев доброкачественного и злокачественного роста (Ермолаева, Агамова, 1996).

Учитывая тенденции развития и потребности клинической онкологии, мы исследовали возможность включения в цитологические методы диагностики макросистемных подходов, направленных на оценку системных реакций клеток, связанных с развитием рака и опирающихся на данные компьютерной морфометрии.

Причины возросшего интереса к применению морфометрии в морфологических исследованиях кроются в появлении новых приборов, существенно упростивших получение объективных результатов при измерении клеток и внутриклеточных структур. Наиболее часто оценку морфологических изменений клеток новообразований проводят методами статистического анализа, учитывая результаты клинических наблюдений (диагноз, стадию патологического процесса). Интерпретация полученных результатов практически всегда опирается только на знания, накопленные в классических цитоморфологических исследованиях.

В последнее время развитие физики сложных макро-систем и необходимость формирования в медицине взглядов на клетку, орган или организм как на целостную систему, имеющую свои, только ей присущие свойства, привели к внедрению в медицину приемов синергетики и физики открытых систем (Курдюмов, 2004; Куперин, 2001). Аналогичный подход был применен для изучения ядер клеток при гемобластозах, где рассматривали структуру ядер, применяя фрактальный анализ с целью улучшения диагностики (Cross et al., 1994). При морфологических исследованиях были обнаружены структуры, точно соответствующие представлениям о фракталах (Ангельский и др., 1999). Фрактальные структуры были обнаружены при воздействии водно-спиртовых систем на клетки, определена их роль в формировании общего состояния организма (Кершенгольц и др., 2004).

На основании анализа гистологических микрофотографий, по данным ангиографии, иммунологических исследований, ультразвуковой томографии был установлен ряд макросистемных закономерностей, сопровождающих развитие злокачественных новообразований (Фрязинова, 2002). Использование комплекса статистических оценок и пространственных распределений ряда биологических параметров позволило утверждать, что развитие рака сопровождается ослаблением системной устойчивости тканей всего организма. Макросистемная устойчивость новообразования оказывается более высокой, чем устойчивость окружающих тканей. При развитии неоплазии направление, по которому наиболее активно происходит синхронизация функционирования клеток,

перпендикулярно ориентации подобных процессов в окружающих опухоль тканях. Воздействие радиации на опухоль приводит к нарастанию неоднородности функциональной напряженности клеток в пространстве и изменению асимметрии распределения оптической плотности в клетках, что снижает на системном уровне потенциальные возможности новообразования к адаптации. Эти результаты показали эффективность развития макросистемного подхода в онкологических исследованиях.

Все вышесказанное позволило сформулировать цель настоящей работы — провести оценку макросистемных свойств клеток уротелия мочевого пузыря по количественным показателям компьютерной морфометрии при неопластической трансформации и лучевой терапии.

### Материал и методика

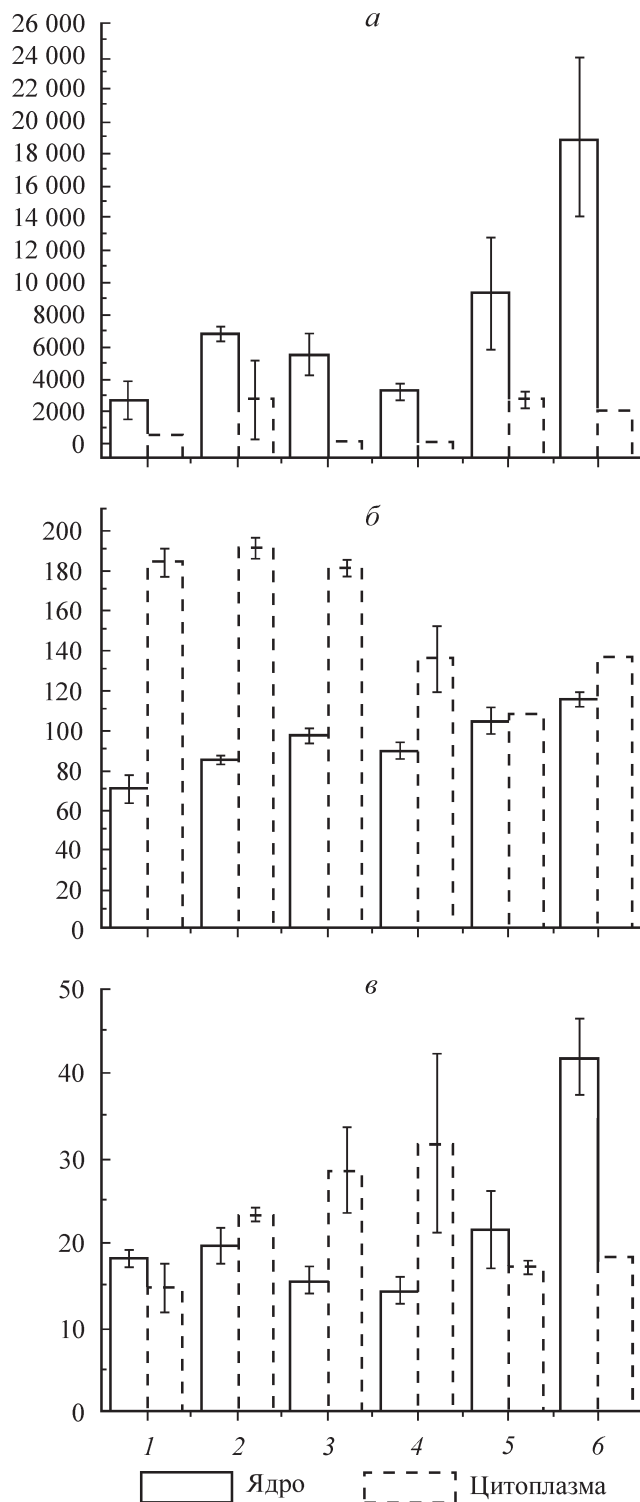
Материалом исследований послужили данные 95 больных раком мочевого пузыря, находившихся на обследовании и лечении в Казанском научно-исследовательском институте онкологии и радиологии. Средний возраст пациентов составлял  $59 \pm 9$  лет. Мужчин было в 4 раза больше, чем женщин; 90.5 % больных имели стадию T<sub>3</sub> и 9.5 % — T<sub>4</sub>. Морфологическая верификация во всех случаях соответствовала уротелиальной карциноме мочевого пузыря.

Больных подвергали воздействию лучевой терапии, которую проводили в два этапа с различным фракционированием: первый этап — среднее фракционирование, разовая очаговая доза (РОД) 3 Гр 3 раза в 1 нед, 10 сеансов до суммарной очаговой дозы (СОД) 30 Гр; второй этап — стандартное фракционирование, РОД 2 Гр, 5 раз в 1 нед, 15 сеансов до СОД 30 Гр. Общая СОД за два этапа — 60 Гр. Индивидуальную предлучевую подготовку больных проводили на рентгеновском стимуляторе Ximatron с получением компьютерно-томографических срезов на уровне полей облучения и расчетом доз на системе дозиметрического планирования Cadplan.

Цитологический материал брали в начале лечения (СОД 9 Гр), после первого (СОД 30 Гр) и второго (СОД 60 Гр) этапов лечения. Цитологические препараты готовили из смывов или мазков-отпечатков, полученных во время контрольных цитоскопий, с окрашиванием клеток по Паппенгейму. Исследование микропрепаратов проводили на бинокулярном микроскопе Leica DMLS, оборудованном цифровой видеокамерой Sony (увел. 400×). Цифровые микрофотографии подвергали как классическим морфометрическим исследованиям, так и исследованию с помощью специально разработанной компьютерной программы, определяющей макросистемные состояния любых целостных биологических систем. При этом производили расчет автокорреляционных пространственных функций, статистических параметров распределения оптической плотности клеток и строили простейшие модели открытых систем (Фрязинова, 2002). Нами были выбраны типичные цитограммы (микрофотографии) для каждого случая — норма, папиллома, рак, начало, середина и конец лечения. Изучали следующие количественные показатели: размеры площади ядер и цитоплазмы, функциональная активность клеточных структур и уровень неоднородности функциональной напряженности в пространстве клетки (флуктуации).

### Результаты и обсуждение

Обнаружено, что при папилломе мочевого пузыря площадь цитоплазмы и ядра увеличивается (см. рисунок, а). Параллельно с этим падает активность синтеза



Общие результаты морфометрии.

По горизонтали: 1 — нормальный уротелий, 2 — папиллома, 3 — рак, 4 — начало лечения, 5 — «терапевтический гигант», 6 — конец лечения. По вертикали: а — площади ядра и цитоплазмы клеток, мкм<sup>2</sup>; б — активность синтеза белка, отн. ед.; в — флуктуации функционального напряжения клеток, отн. ед.

белка в каждой ее точке: чем больше синтезирующих центров белка, тем меньше функциональная активность (см. рисунок, б). Уровень флуктуаций функциональной активности элементов ядра практически не меняется, а в цитоплазме они резко нарастают (от  $15 \pm 3$  до  $26 \pm 1$ ), т. е. увеличивается функциональная неоднородность (см. рисунок, в). Видимо, причины, вызывающие развитие папилломы, приводят к адаптационной реакции клетки, заключающейся в росте количества центров, способных синтезировать белок, а патологическая реакция определяется потерей устойчивости, сопровождающейся разрушением структур клетки.

Злокачественные клетки уротелия практически не изменяются в размерах по сравнению с нормальными клетками, размер ядра более стабилен, но функциональная активность снижается. Степень этого нарушения у злокачественных клеток значительно больше, чем у клеток папилломы, а активность синтеза в цитоплазме близка к норме. Обнаружено, что уровень флуктуаций в ядре злокачественных клеток ниже, чем в норме, а в цитоплазме он превышает уровень, наблюдаемый у клеток папилломы. Создается впечатление, что в ядре происходит компенсация снижения синтеза белка за счет усиления синхронизации функционирования его элементов, при этом процесс нарушения функционирования в цитоплазме усиливается.

Начало лечения (СОД 9 Гр) приводит к снижению размера ядра и некоторому повышению функциональной активности как ядра, так и цитоплазмы. Количество флуктуаций, т. е. не контролируемых управлением участков, в ядре снижается, а реакция цитоплазмы по данному показателю является индивидуальной и, видимо, зависит от стадии, фазы клеточного цикла.

В ходе лечения (СОД 30 Гр) растет число клеток-«терапевтических гигантов». Размеры их ядер превышают нормальный уротелиальный эпителий в 3.4 раза, а размеры ядер опухолевых клеток до начала лечения — в 1.7 раза. При этом интенсивность синтеза белка чуть ниже, чем до лечения, и в 1.5 раза ниже нормы. Уровень флуктуаций растет в ядрах незначительно, а в цитоплазме резко падает. По характеру статистических показателей можно сказать, что «терапевтический гигант» — это клетка, максимально использовавшая все свои возможности для поддержания гомеостаза.

К концу лечения (СОД 60 Гр) в цитограммах часто наблюдаются разрушенные клетки в виде «голых» ядер, их размеры в 7.3 раза превышают нормальный уротелий и в 3.4 — уротелиальный рак. Наблюдается падение активности синтеза белка в ядре и цитоплазме сохранившихся клеток. Однородность участков цитоплазмы возрастает, а неоднородность функциональной активности ядерных структур достигает максимума, превышая этот показатель в нормальном уротелии в 2.3 и при раке до лечения в 2.6 раза.

Таким образом, при наблюдении за активностью синтеза белка в клетках уротелия мочевого пузыря было установлено, что нормальная клетка имеет несколько более активную внутреннюю фрактальную структуру, которая поддерживает функциональный потенциал клетки.

Ядро клетки неоднородно по сравнению с цитоплазмой и более чувствительно к внешним воздействиям, оно выполняет управляющую функцию, а цитоплазма — функцию буфера. Перерождение клетки характеризуется снижением уровня флуктуаций и ростом регуляторных процессов, напряжение которых в цитоплазме происходит более активно, чем в ядре. Этот процесс характеризуется снижением доминирующей роли ядра и усилением защитных реакций в цитоплазме.

Повреждающее воздействие лучевой терапии приводит к некоторому снижению потенциала ядра и мощным перестройкам структуры цитоплазмы. Второй этап лечения характеризуется тем, что активность ядра падает, но увеличивается его размер, сохраняется потенциал, а структура цитоплазмы начинает разрушаться. Последний этап — общий рост флуктуаций, т. е. разрушения клеток.

Суммируя изложенное, следует отметить, что прием макросистемных подходов к развитию и лечению уротелиального рака позволяет более унифицированно подходить к анализу устойчивости клеток, получить целый ряд новых количественных характеристик их состояния в дополнение к наиболее распространенным методам цитологической диагностики, а главное, расширяет дифференциально-диагностические возможности цитоморфологического исследования.

#### Список литературы

- Ангельский О. В., Ушенко А. Г., Архелюк А. Д., Ермоленко С. В., Бурковец Д. Н. 1999. О структуре матриц преобразования лазерного излучения биофракталами. Квантовая электроника. 29 (3) : 235—238.
- Деденков А. Н., Пелевина И. И., Саенко А. С. 1987. Прогнозирование реакции опухолей на лучевую и лекарственную терапию. М.: Медицина. 147 с.
- Ермолаева А. Г., Азамова К. А. 1996. Ошибки цитологической диагностики рака основных локализаций и пути их предупреждения. В кн.: Труды съезда онкологов стран СНГ. М. 119—120.
- Кершенгольц Б. М., Бровкина Т. В., Небрат В. В., Рабинович В. В., Хлебный Е. С., Шейн А. А., Шенгольц Е. Б. 2004. Действие водно-спиртовых систем на диссипативные состояния человека. Гипотетическая модель биогенности и наркогенности спиртосодержащих продуктов. Наркология. 8 : 64—76.
- Куперин Ю. А. 2001. Теория сложных систем как основа междисциплинарных исследований. В кн.: Тез. Всерос. научно-методической конф. «Междисциплинарность в науке и образовании». 25.
- Курдюмов С. П. (Ред.). 2000. Самоорганизация и синергетика: идеи, подходы и перспективы: материалы семинара. М.: МГУ. 366 с.
- Огнерубов Н. А., Ермилова В. Д., Люкова Ю. П. 1998. Патоморфоз рака молочной железы после сочетанной химиолучевой терапии. Новости клинич. цитол. России. 2 (2) : 82.
- Фрязинова Т. С. 2002. Количественная патофизиология или физические меры макросистемных состояний многоклеточных организмов и их подсистем. Алма-Ата: Бико. 330 с.
- Cross S. S., Cotton D. W. K., Underwood J. C. E. 1994. Measuring fractal dimension. Sensitivity to edge-processing functions. Anal. Quant. Cytol. Histol. 16 : 375—379.

---

MACROSYSTEMIC APPROACH IN OBSERVATION OF DEVELOPMENT  
AND TREATMENT OF URINARY BLADDER CANCER ACCORDING TO MORPHOMETRIC EVIDENCE

*M. T. Abenova,<sup>1</sup> T. S. Fryazinova,<sup>2</sup> N. V. Zharkov<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Kazakh Research Institute of Oncology and Radiology, and  
<sup>2</sup> Research Institute of Experimental  
and Theoretical Physics affiliated at the Al-Farabi KazNU, Almaty, Kazakhstan

The work is devoted to studying a possibility to use, for cytological diagnostics of urogenital neoplasms, of macrosystemic approaches, aimed to estimate cell systemic reactions during blasttransformation and treatment (exemplified by 95 urinary bladder cancer patients). Changes in size of nuclear and cytoplasmic areas were studied, in addition to the average activity of synthetic processes or functional activity of cell structures, and to the level of heterogeneity of functional tension in the cell space.

Key words: urothelium, bladder, cancer, morphometry, cell, nucleus, cytoplasm.

---