

Л. Я. БЛЯХЕР и В. Н. ДОБРОХОТОВ

ЗОНАЛЬНОСТЬ И ОЧАГОВОСТЬ РАСПОЛОЖЕНИЯ МИТОЗОВ В МЫШИНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЕ

(Представлено академиком А. И. Абрикосовым 22 III 1951)

В злокачественных опухолях характерные признаки исходного органа или ткани могут сохраняться в различной степени. В частности, в мышинной аденокарциноме Эрлиха основную массу опухоли занимают большие клеточные территории без заметной структурной гетерогенности в смысле упорядоченного расположения паренхимных клеток. Такого рода обширные неупорядоченные скопления раковых клеток особенно интересны как пример наиболее далеко зашедшей малигнизации с потерей органотипической и гистотипической дифференцировки. В поисках какой-либо топографической закономерности в расположении структурных компонентов таких опухолей следует прежде всего принять во внимание распределение делящихся клеток.

Предпринятое исследование ставило целью выяснить, существует ли закономерность в распределении митозов в злокачественной опухоли, расположение клеток которой лишено пространственной упорядоченности. В качестве основного объекта использована асцитная форма аденокарциномы Эрлиха. Через 4—5 дней после прививки мыши вскрывались, и раковые узлы из брюшной полости фиксировались жидкостью Буэна; парафиновые срезы толщиной в 8 μ окрашивались кислым гематоксилином Эрлиха или железным гематоксилином. Всего исследовано 25 узлов карциномы и, для сравнения, 2 узла крысиной саркомы М-1. Препарат передвигался на столике микроскопа, и посредством окуляра с квадратной диафрагмой и иммерсионного объектива определялось число митозов в следующих друг за другом полях зрения. Результаты подсчетов наносились на клетчатую сантиметровую бумагу, на которой каждый квадратик сетки соответствовал одному полю зрения. После использования всей намеченной для исследования поверхности среза на клетчатой бумаге получалась проекция контура среза с картой распределения митозов. Чтобы составить суждение о наличии или отсутствии закономерного зонального их распределения, циркулем с графитной ножкой и с расстоянием ножек в 1 см намечались концентрические зоны, начиная с поверхности узла, подсчитывалось число митозов m в каждой зоне и взвешиванием на крутильных весах их проекций на бумаге определялись площади зон в квадратных сантиметрах. Специальным подсчетом определялось среднее количество клеток c в квадратном поле зрения, что давало возможность путем умножения на площадь зоны q установить число клеток в зоне cq и митотический коэффициент $1000\ m/cq\%$. В каждом узле исследовалось от 6 до 12 срезов. Для выяснения реальности различия средних митотических коэффициентов в двух сравниваемых зонах по всем срезам сопоставлялось значение t_1 (отношение разности средних митотических коэффициентов в сравниваемых зонах к стандартному отклонению), т. е. определялась вероятность P того, что полученное различие средних случайно. Если значение P не больше 0,05, то разница между сравниваемыми средними может считать-

ся реальной. Полученные данные по пяти зонам приведены в табл. 1. Во всех случаях, кроме одного, величина *P* не больше 0,009 (с колебаниями от 0,009 до 0,001) или даже меньше 0,0001.

Таблица 1

Митотические коэффициенты (‰) по зонам									
I	II	III	IV	V	I	II	III	IV	V
Мышиная карцинома					9,2	12,8	13,3	10,6	—
					9,4	13,9	15,5	10,1	—
6,8	11,2	9,6	7,3	11,8	11,5	15,5	16,3	18,9	20,2
6,7	14,6	15,2	13,3	15,0	9,2	12,6	12,7	12,9	11,9
5,7	8,8	10,2	9,6	9,8	15,9	18,7	17,6	16,6	16,7
4,8	9,0	7,3	—	—	7,0	15,4	17,1	12,7	—
5,1	7,2	7,4	7,6	7,2	19,3	24,6	19,8	—	—
8,1	14,6	13,7	16,5	15,9	14,6	20,5	26,3	29,0	—
7,6	12,5	13,0	—	—	4,0	8,7	13,8	13,0	15,5
6,5	11,9	9,7	—	—	7,7	15,0	14,5	12,4	12,3
6,3	9,3	6,9	7,5	6,4	9,7	12,8	11,1	10,3	11,8
11,5	17,9	20,8	20,4	21,5	Крысиная саркома				
11,1	15,3	17,8	17,2	13,8					
9,3	14,8	16,4	—	—					
8,9	12,3	10,2	9,6	—	5,3	10,2	10,0	—	—
6,9	9,3	10,2	9,0	9,0	5,1	13,1	11,5	—	—

Из табл. 1 явствует, что наиболее поверхностная зона опухолевого узла (как карциномы, так и саркомы М-1) характеризуется более низким митотическим коэффициентом, чем глубже лежащие его участки. Это понижение митотического коэффициента может зависеть от ускоренного течения каждого отдельного митоза или от увеличения промежутков времени между делениями. Для решения вопроса, какая из этих воз-

Таблица 2

Митотич. коэффициенты по зонам		
I	II	III
32,6	50,4	44,1
29,1	48,1	46,9
33,3	60,2	60,1

можностей имеет место в данном случае, было предпринято подкожное введение раковым мышам колхицина в дозе 0,002 мг на 1 г веса мыши за 8 час. до фиксации опухоли. Воздействие колхицина, останавливающего митозы в метафазе, должно привести к избыточному накоплению митозов в поверхностной зоне опухоли, если она характеризуется более быстрым течением митозов. Если же в поверхностной зоне темп делений замедлен за счет увеличения длительности интеркинеза, то соотношение митотических коэффициентов в поверхностной и более глубоких зонах при воздействии колхицином должно остаться тем же, что и без этого воздействия. Всего исследовано 3 раковых узла от обработанных колхицином мышей (см. табл. 2). Вероятность случайного различия между поверхностной и остальными зонами здесь не больше 0,003.

После воздействия колхицином относительное количество метафаз увеличивается с 68 до 96% при почти полном отсутствии более поздних фаз митоза как на поверхности, так и в глубине опухоли, что свидетельствует о проникновении колхицина во всю толщу опухолевого узла. При этом количество митозов в поверхностной зоне остается меньшим, чем в глубине, т. е. дело идет не об ускорении течения митозов, а об увеличении длительности интеркинеза в той области опухоли, которая непосредственно соприкасается с полостной жидкостью.

На проекциях срезов через опухолевый узел на бумаге с сантиметровой сеткой видно, что митозы распределены неравномерно: в отдельных участках проекции среза имеется по несколько рядом лежащих квадратов сетки с большим, чем в остальных участках, количеством митозов; встречаются также изолированные, богатые митозами квадратики. Эта

очаговость расположения митозов может получить количественное выражение. На упомянутых проекциях очерчивались изолированные, богатые митозами квадратики («малые скопления») и «гнезда», т. е. совокупности квадратиков, соприкасающихся друг с другом стороной и несущих число митозов большее, чем в остальных участках среза, в дальнейшем называемых «фоном» (см. рис. 1). В 4 из исследованных 24 случаев за уровень фона принято наличие в нем не более 2 митозов на квадратик, в 12 случаях — не более 3 митозов и в 8 случаях — не более 5 митозов. Участки проекции, содержащие гнезда и малые скопления, вырезались и взвешивались на крутильных весах. Затем устанавливался вес оставшейся проекции, т. е. фона, и вычислением определялись площади гнезд, малых скоплений и фона. Далее производился подсчет митозов в гнездах, малых скоплениях и фоне, после чего можно было определить отношение площадей, занимаемых гнездами, малыми скоплениями и фоном, к общей площади, а также отношения числа митозов на этих площадях к общему их числу (см. табл. 3).

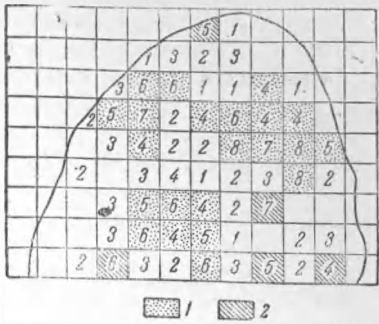


Рис. 1. Пример проекции среза мышцей аденокарциномы, показывающий очаговость в распределении митозов. Цифры — количества митозов в квадратных полях зрения; 1 — гнезда, 2 — малые скопления

Таблица 3

Площади в %			Число митозов в %		
гнезд	малых скоплений	фона	в гнездах	в малых скоплениях	в фоне
30,2	6,3	65,3	55,0	7,6	37,4
30,2	3,8	66,0	50,2	5,5	44,3
24,6	5,1	70,3	46,0	10,8	43,2
18,8	6,0	75,2	45,7	15,2	39,1
20,0	6,0	74,0	43,1	12,1	44,7
20,0	5,2	74,8	41,7	11,6	46,7
1,3	0,6	98,1	41,3	20,7	38,0
19,6	4,8	75,6	40,4	9,0	50,6
16,5	6,8	76,7	34,0	13,6	52,4
14,2	6,5	79,3	31,4	13,9	54,7
14,0	8,0	78,0	30,0	17,8	52,2
13,3	5,5	81,2	29,7	11,8	58,5
12,2	6,3	81,5	29,4	14,3	56,3
10,1	5,2	84,7	27,4	13,0	59,6
12,1	5,1	82,8	27,0	10,0	63,0
13,2	6,2	80,6	26,2	12,2	61,6
11,6	6,6	81,8	24,0	13,1	62,9
10,4	4,4	85,2	23,1	10,1	66,8
10,3	5,6	84,1	23,0	12,7	64,3
9,0	6,3	84,7	22,8	15,0	62,2
9,0	6,0	85,0	21,4	18,1	59,5
4,0	4,0	92,0	12,0	12,0	76,0
3,5	6,3	90,2	9,7	18,7	71,6
1,6	4,7	93,7	4,8	14,0	81,2

женных двух, трех и более клетках. Объективное суждение об этом явлении можно высказать, исходя из следующих расчетов. Число смежных клеток, окружающих на срезе одну раковую клетку в среднем равно 5. Величина митотического коэффициента, деленная на 1000, $Q_m/1000$, обозначает вероятность деления для каждой отдельной

клетки. В случае независимости деления соседних друг с другом клеток по теореме умножения вероятностей появление митозов в двух соседних клетках следует ожидать с вероятностью $(Q_m/1000)^2$, а появление митозов в трех соседних клетках — с вероятностью $(Q_m/1000)^3$. Общее число разных троек клеток в той же совокупности n клеток приблизительно равно $6,7 n$. Следовательно, среди $2,5 n$ пар клеток должно быть $2,5 n (Q_m/1000)^2$ пар клеток в состоянии деления и среди $6,7 n$ троек клеток должно оказаться не более $6,7 n (Q_m/1000)^3$ троек смежных митозов. В табл. 4

Таблица 4

Митотич. коэффициент	Обнаруженное число пар митозов	Коэффициент превышения ожидания	Обнаруженное число троек митозов	Коэффициент превышения ожидания
12,5	139	1,5	8	2,5
12,2	106	2,4	3	2,1
11,0	72	2,0	—	—
9,1	40	2,2	—	—
7,3	30	1,7	—	—
18,9	266	1,6	6	0,7
14,9	160	1,8	6	1,7
13,8	63	1,9	1	0,8
10,2	20	1,0	1	1,8
9,1	39	1,5	2	3,3
11,2	43	1,5	—	—
12,1	56	2,0	4	4,4
16,3	293	1,8	34	4,7
11,8	114	1,9	8	4,1
17,2	150	1,9	13	3,5
12,5	57	1,7	6	5,3
Средн. 13,1	Всего 1648	Средн. 1,8	Всего 92	Средн. 2,9

сведены полученные данные о количестве пар и троек одновременно делящихся смежных клеток, а также числа, показывающие, во сколько раз действительное появление митозов в двух и трех смежных клетках превышает то их количество, которого следовало бы ожидать при независимом наступлении делений (эти числа названы коэффициентом превышения ожидания). Для проверки статистической достоверности обнаруженного превышения числа митозов в двух соседних клетках над ожидаемым сопоставлены два ряда: 1) вероятности независимого появления митозов в двух смежных клетках $(Q_m/1000)^2$ и 2) отношения обнаруженного числа пар митозов к числу пар клеток $(2,5 n)$. Средние арифметические этих рядов, соответственно, равны $165 \cdot 10^{-3}$ и $292 \cdot 10^{-3}$. Вероятность случайного различия средних равна 0,01. В аналогичных рядах, составленных для троек смежных клеток — ряд $(Q_m/1000)^3$ и ряд $\left(\frac{\text{обнаруженное число троек митозов}}{6,7 n} \right)$ — средние, соответственно, равны $276 \cdot 10^{-5}$ и $736 \cdot 10^{-6}$, а вероятность случайного различия средних равна 0,02. Следовательно, в обоих случаях различия средних достоверны.

Смежное расположение митозов в узлах асцитной аденокарциномы свидетельствует о том, что в отдельных точках клеточного скопления, образующего раковый узел, возникают условия, благоприятствующие наступлению клеточных делений. Для анализа этих условий представляет интерес тот факт, что митозы в соседних клетках, как правило, начинаются неодновременно. Из числа 1406 митозов в двух смежных клетках асинхронных оказалось 1173, т. е. 83 %, причем асинхрония в пределах одной фазы митоза наблюдалась в 873 парах; все 78 митозов в трех смежных клетках были асинхронными.

Для выяснения природы условий, от которых зависит гнездное и смежное расположение митозов в раковой опухоли, необходимы дальнейшие исследования.