

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАКА ГОРТАНИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РЕКОМБИНАНТНОГО ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 ЧЕЛОВЕКА

[И.Д. Шаталов, А.П. Надеев, А.Б. Киселев](#)

*ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет»
Минздравсоцразвития России (г. Новосибирск)*

В статье представлены результаты патоморфологического исследования рака гортани T₁₋₄N₀M₀ от 67-ми больных при применении рекомбинантного интерлейкина-2 человека. У большинства больных преобладали ороговевающий плоскоклеточный рак (47,7 %) и неороговевающий плоскоклеточный рак (44,6 %), также наблюдали рак из папилломы (4,4 %), преинвазивный рак (3,3 %). Применение рекомбинантного интерлейкина-2 человека показало, что при раке гортани T₁₋₃N₀M₀ цитокиноterapia способствует усилению местного противоопухолевого иммунитета, что морфологически выражается в повышении интенсивности клеточной перитуморозной реакции опухоли и повышении количества лимфоцитов в составе клеточного инфильтрата.

Ключевые слова: рак гортани, морфология, местный иммунный ответ, интерлейкин-2.

Шаталов Илья Дмитриевич — аспирант кафедры оториноларингологии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», контактный телефон: 8 (383) 226-63-52

Киселев Алексей Борисович — доктор медицинских наук, профессор кафедры оториноларингологии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», контактный телефон: 8 (383) 226-63-52

Надеев Александр Петрович — доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», телефон рабочий: 8 (383) 225-07-37, e-mail: nadeevngma@mail.ru

Введение. Согласно концепции развития здравоохранения России, злокачественные заболевания относятся к группе наиболее социально значимых болезней, в значительной степени определяющих качество трудового потенциала общества [1, 4]. В Российской Федерации рак гортани в структуре онкологической патологии по частоте встречаемости занимает пятое место и относится к распространенным злокачественным новообразованиям [7]. Более 65 % больных раком гортани — лица трудоспособного

возраста [4, 7]. Среди поражения верхних дыхательных путей рак гортани занимает 1-е место — на его долю приходится от 40 до 70 % [5, 7]. В структуре заболеваемости мужского населения России рак гортани занимает 11-е место (3,1 %) [7]. Уточнение клинической значимости ряда патоморфологических признаков рака гортани дает возможность использовать их при выборе метода лечения и прогноза заболевания. Установлено, что степень дифференцировки, гистологический тип, парабластоматозная диссеминация и лимфоплазмочитарная инфильтрация стромы опухоли являются объективными критериями злокачественности, определяющими наряду с такими клинко-анатомическими факторами как локализация и стадия процесса результаты лечения и прогноз заболевания [4]. Доказано благоприятное прогностическое значение лимфоплазмочитарной инфильтрации стромы рака гортани, описаны наблюдения дистрофических изменений опухолевых комплексов в зоне контакта с лимфоплазмочитарным инфильтратом [9]. Согласно современным представлениям, накопление в строме опухоли Т- и В-лимфоцитов, плазматических клеток, макрофагов, обусловленное специфическими антигенами, является местным морфологическим выражением противоопухолевого иммунитета [3]. В настоящее время селективная активация Т-клеточного противоопухолевого иммунитета рассматривается как наиболее перспективный подход в лечении онкобольных [2]. В этой связи представляется актуальным изучить возможности усиления лимфоцитарной инфильтрации стромы раковой опухоли гортани рекомбинантным ИЛ-2 человека. Известно, что ИЛ-2 направленно влияет на рост, дифференцировку и активацию Т- и В-лимфоцитов [10]. Показано успешное использование в онкологии препаратов рекомбинантного ИЛ-2 человека в качестве компонента цитокино-, химиоиммунотерапии и адаптивной иммунотерапии при раке почки, мочевого пузыря, меланоме и других формах злокачественных опухолей [3, 10].

Цель исследования: изучить патоморфологические проявления влияния ИЛ-2 на клеточную реакцию стромы при местнораспространенном раке гортани.

Материал и методы исследования: проведен патоморфологический анализ образцов опухолей от 65-ти мужчин с местнораспространенными формами рака гортани ($T_{1-4}N_0M_0$): 1-я группа — 37 больных (56,9 %), которым в предоперационном периоде был проведен курс терапии рекомбинантным ИЛ-2 человека; 28 больных (43,1 %) составили 2-ю группу контроля. Каждая группа была разделена на три подгруппы в зависимости от степени инвазии опухоли: $T_{1-2}N_0M_0$, $T_3N_0M_0$, $T_4N_0M_0$. Данные по возрасту исследованных групп представлены в табл. 1. Пациенты 1-й группы исследования до оперативного вмешательства получили курс терапии рекомбинантным интерлейкином-2 человека (Ронколейкин[®]) по схеме: до оперативного лечения по 0,25 мг, а также через один день после операции 0,25 мг. Больные 2-й группы контроля иммунотерапии не получали.

Таблица 1

Общие сведения о группах исследования и контроля

Группы	Подгруппы					
	$T_{1-2}N_0M_0$, n = 24		$T_3N_0M_0$, n = 25		$T_4N_0M_0$, n = 16	
	Количество больных	Средний возраст	Количество больных	Средний возраст	Количество больных	Средний возраст
Исследование	12	54,58 ± 3,51	15	63,0 ± 3,96	10	62,0 ± 4,83
Контроль	12	55,42 ±	10	61,0 ±	6	65,17 ±

		4,23		3,69		2,71
--	--	------	--	------	--	------

Образцы опухоли фиксировали в 10 % нейтральном формалине, обезживали в спиртах возрастающей концентрации, заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином по Браше [6]. Определяли гистологический тип рака гортани, варианты строения. Оценивали клеточный состав перитуморозного воспалительного инфильтрата, на основании которого определяли инфильтраты с преобладанием лимфоцитов, плазмочитов или смешанный вариант — лимфоцитарно-плазмочитарный; определяли выраженность воспалительного инфильтрата (1–3 степень).

Результаты исследования. У большинства больных 1-й группы преобладал ороговевающий плоскоклеточный рак — 31 (47,7 %), неороговевающий плоскоклеточный рак — 29 (44,6 %), также наблюдали рак из папилломы — 3 (4,4 %), преинвазивный рак — 2 (3,3 %). Ороговевающий плоскоклеточный рак характеризовался разрастанием эпителиальных клеток с ороговением или неполной эпидермизацией. Ороговение наблюдалось в группах клеток или отдельных клетках, митозы были редки, характерны полиморфизм и гиперхромия ядер. У больных с картиной умеренно дифференцированного рака паренхима опухоли представлена округлыми или полигональными клетками с умеренно гиперхромными ядрами, нечеткими межклеточными границами, стратификация выражена слабее, ороговения не было обнаружено, митозы по 2–3 в поле зрения. Преобладающий гистологический вариант опухоли — альвеолярный (66,7 % — в 1-й группе исследования и 75 % — во 2-й группе контроля). Инфильтрация была локализована преимущественно в перитуморозной ткани, реже — в строме самой опухоли. При выявлении клеточной реакции стромы в одних случаях инфильтрат был преимущественно лимфоцитарным, в других — из ярко пиронинофильных плазматических клеток, в третьих — смешанным (лимфо-плазмогистиоцитарным). Иногда в окружении опухоли отмечалось формирование лимфатических фолликулов.

Клеточная реакция стромы в виде инфильтрации лимфоцитами, плазматическими клетками выявлена у 91,7 % больных 2-й группы подгруппы $T_{1-2}N_0M_0$. Во 2-й контрольной группе лимфоцитарная перитуморозная инфильтрация определена в 33,3 % случаев, плазмочитарная — 16,6 %, смешанная лимфоплазмочитарная — 33,3 %, отсутствие клеточной реакции стромы было определено в 16,6 % наблюдений. Интенсивность клеточной реакции стромы у больных 2-й контрольной группы оценена как сильная у 25 % больных, умеренная — у 25 %, слабая — 33,3 % больных. В 1-й группе исследования подгруппы $T_{1-2}N_0M_0$ лимфоцитарная инфильтрация определена в 50 % наблюдений, плазмочитарная — 25 %, смешанная лимфоплазмочитарная — 25 %. Случаи с отсутствием клеточной реакции стромы не были выявлены. В 1-й группе исследования выявлено только сильная и умеренная интенсивность клеточной реакции стромы (50%/50%).

Таким образом, при раке гортани $T_{1-2}N_0M_0$ после цитокинотерапии наблюдали более интенсивную клеточную реакцию в строме опухоли, которая носила преимущественно лимфоцитарный характер. Накопление в перитуморозной ткани и строме опухоли лимфоцитов, плазмочитов морфологически демонстрирует усиление местного противоопухолевого иммунитета.

Во 2-й контрольной группе при раке гортани подгруппы $T_3N_0M_0$ лимфоцитарная инфильтрация определена в 30 % наблюдений, плазмочитарная — 30 %, смешанная лимфоплазмочитарная — 40 %, отсутствие клеточной реакции стромы было отмечено в 20 % наблюдения рака гортани. Интенсивность клеточной реакции стромы при раке

гортани 2-й контрольной группы подгруппы $T_3N_0M_0$ (при наличии клеточной инфильтрации) была оценена как сильная в 20 % случаев, умеренная — 40 %, слабая — 20 %. В 1-й группе исследования подгруппы $T_3N_0M_0$ лимфоцитарная инфильтрация была обнаружена в 53,3 % опухолей, плазмоцитарная — 26,7 %, смешанная лимфоплазмоцитарная — в 20 % опухолей. Интенсивность клеточной перитуморозной реакции в 1-й группе исследования подгруппы $T_3N_0M_0$ была оценена как сильная у 46,6 % больных, как умеренная — 40 %, слабая — 13,4 %.

Морфологическое исследование образцов опухоли подгруппы $T_4N_0M_0$ выявило высокодифференцированный рак гортани во всех исследованных группах, кроме одного (умеренная степень дифференцировки). Гистологические варианты рака гортани $T_4N_0M_0$ были представлены альвеолярным, акантотическим и трабекулярным типами. Клеточная перитуморозная реакция была выявлена во всех исследованных группах при раке гортани подгруппы $T_4N_0M_0$. Во всех случаях, кроме одного, инфильтрат носил нейтрофильно-лимфоцитарно-плазмоцитарный характер. На четвертой стадии опухолевого процесса выявлены только случаи высокой и умеренной интенсивности перитуморозной клеточной реакции. Явного влияния цитокинотерапии на клеточную перитуморозную реакцию не было выявлено.

Результаты исследования показали, что рекомбинантный ИЛ-2 оказывает влияние на местный противоопухолевый иммунный ответ: при раке гортани ранних стадий происходило усиление лимфоцитарной активности под прямым иммуностимулирующим воздействием. Однако проследить достоверность связи возникающих иммунных изменений с проведенной цитокинотерапией оказалось возможным только на ранних стадиях рака гортани ($T_{1-2}N_0M_0$). На стадиях $T_{3-4}N_0M_0$ выявлена только местная активация неспецифического звена иммунитета, что резко ограничило возможность выделить лимфоцитарную активацию только под воздействием цитокина ИЛ-2. Но при раке гортани $T_3N_0M_0$ ранее не было выявлено ярких изменений в системном лимфоцитарном ответе на цитокиностимуляцию [8], однако реакция местного противоопухолевого иммунитета подтвердилась при данном морфологическом исследовании. Таким образом, можно говорить о том, что цитокинотерапия рекомбинантным ИЛ-2 человека способствовала усилению местного противоопухолевого иммунитета у больных раком гортани $T_3N_0M_0$, однако степень этого влияния зависит от многих факторов.

Заключение. Результаты патоморфологического исследования рака гортани после цитокинотерапии демонстрируют, что при раке гортани $T_{1-3}N_0M_0$ цитокинотерапия способствовала усилению местного противоопухолевого иммунного ответа, которое проявилось в повышении интенсивности клеточной перитуморозной реакции и повышении количества лимфоцитов в составе воспалительного инфильтрата.

Список литературы

1. Антонив В. Ф. Состояние и перспективы развития ЛОР онкологии / В.Ф. Антонив, Н. А. Дайхес, Х. М. Давудов // Рос. оториноларингология. — 2002. — № 1. — С. 21–26.
2. Модуляция цитотоксического противоопухолевого ответа в культуре мононуклеарных клеток с помощью дендритных клеток / В. В. Курилин [и др.] // Сиб. онкол. журн. — 2010. — № 1 (Прил.). — С. 64.
3. Сопряженность параметров иммунного статуса с эффективностью неоадьювантной терапии рака молочной железы / Я. В. Кухарев [и др.] // Сиб. онкол. журн. — 2010. — № 1 (Прил.). — С. 65.
4. Ольшанский В. О. Рак гортани / В. О. Ольшанский // В кн. : Оториноларингология : национальное руководство / Под ред. В. Т. Пальчуна. — М., 2008. — С. 801–811.

5. Пачес А. И. Опухоли головы и шеи / А. И. Пачес. — М., 2000. — 480 с.
6. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. — М. : Медицина, 1996. — 544 с.
7. Чиссов В. И. Злокачественные новообразования в России : статистика, научные достижения, проблемы / В. И. Чиссов // Казан. мед. журн. — 2000. — № 8. — С. 241–248.
8. Шаталов И. Д. Особенности иммунологической реактивности у больных местнораспространёнными формами рака гортани (T1-3N0M0) / И. Д. Шаталов, А. Б. Киселев, Л. А. Андриенко // Рос. оториноларингология. — 2010. — № 3. — С. 418–421.
9. Guilloux Y. Defective lymphokine production by most CD3+ and CD4+ tumor-specific T-cell clones derived from human melanoma infiltrating lymphocyte in response to autologous tumor cells / Y. Guilloux, C. Viret, N. Gervois, Le E. Drean // Eur. J. Immunol. — 1994. — Vol. 24, N 9. — P. 1966–1973.
10. Thiounn N. IL-2 is a survival prognostic factor in renal cell carcinoma / N. Thiounn, S. Pages, T. Flam // Immunol. lett. — 1997. — Vol. 58. — P. 121–124.

PATHOMORPHOLOGIC CHARACTERISTICS OF LARYNGEAL CANCER AT USING HUMAN RECOMBINANT INTERLEUKINE-2

I.D. Shatalov, A.P. Nadeev, A.B. Kiselev

SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment» (Novosibirsk c.)

Results of pathomorphologic research of laryngeal cancer T1-4N0M0 of 67 patients at application of human recombinant interleukine-2 are presented in article. Majority of patients had keratinous epidermoid carcinoma (47,7 %) and unkeratinous epidermoid carcinoma (44,6 %), also there was observed cancer from papilloma (4,4 %), carcinoma in situ (3,3 %). Application of human recombinant interleukine-2 showed that at laryngeal cancer T1-3N0M0 cytocinematotherapy promotes intensification of local antitumoral immunity that is morphologically expressed in rising of intensity of cellular peritofreezer reaction of tumor and rising of lymphocytes quantity as part of cellular infiltrate.

Keywords: laryngeal cancer, morphology, local immune answer, interleukine-2.

About authors:

Shatalov Ilya Dmitrievich — graduate student of otorhinolaryngology chair at SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment», contact phone: 8 (383) 226-63-52

Kiselev Alexey Borisovich — doctor of medical sciences, professor of otorhinolaryngology chair at SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment», contact phone: 8 (383) 226-63-52

Nadeev Alexander Petrovich — doctor of medical sciences, professor of pathological anatomy chair at SEI HPE «Novosibirsk State Medical University Minhealthsocdevelopment», work phone: 8 (383) 225-07-37, e-mail: nadeevngma@mail.ru

List of the Literature:

1. Antoniv V. F. State and prospects of development of otorhinolaryngologic oncology / V. F. Antoniv, N. A. Daykhes, H. M. Davudov // Rus. otorhinolaryngology. — 2002. — № 1. — P. 21-26.
2. Modulation of cytotoxic antitumoral answer in culture of mononuclear cells by means of dendritic cells / V. V. Kurilin [etc.] // Sib. oncol. jour. — 2010. — № 1 (Enc.). — P. 64.
3. Associativity of parameters of immune status with efficiency of neoadjuvative therapy of breast cancellation / Y. V. Kukharev [etc.] // Sib. oncol. jour. — 2010. — № 1 (Ad.). — P. 65.
4. Olshansky V. O. Laryngeal cancer / V. O. Olshansky // In book: Otorhinolaryngology: national guidance / Under the editorship of V. T. Palchun. — M, 2008. — P. 801-811.
5. Paches A. I. Head and neck tumors / A. I. Paches. — M, 2000. — 480 P.
6. Sarkisov D. S. Microscopical Equipment / D. S. Sarkisov, Yu. L. Perov. — M: Medicine, 1996. — 544 P.
7. Chissov V. I. Malignant neoplasms in Russia: statistics, scientific achievements, problem / V. I. Chissov // Kazan. medical jour. — 2000. — № 8. — P. 241-248.
8. Shatalov I. D. Features of immunologic reactivity at patients with local and widespread forms of laryngeal cancer (T1-3N0M0) / I. D. Shatalov, A. B. Kiselyov, L. A. Andrienko // Rus. otorhinolaryngology. — 2010. — № 3. — P. 418-421.
9. Guilloux Y. Defective lymphokine production by most CD3+ and CD4+ tumor-specific T-cell clones derived from human melanoma infiltrating lymphocyte in response to autologous tumor cells / Y. Guilloux, C. Viret, N. Gervois, Le E. Drean // Eur. J. Immunol. — 1994. — Vol. 24, N 9. — P. 1966-1973.
10. Thiounn N. IL-2 is a survival prognostic factor in renal cell carcinoma / N. Thiounn, S. Pages, T. Flam // Immunol. lett. — 1997. — Vol. 58. — P. 121-124.