

Особенности локального иммунитета у больных орофарингеальным раком

О.И. Кит¹, М.Н. Тилляшайхов², П.В. Светицкий¹, Е.Ю. Златник¹, Г.И. Загора¹, А.А. Ганиев², Г.П. Нистратов¹

¹ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России;
Россия, 344037 Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63;

²Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр онкологии и радиологии Минздрава Республики Узбекистан, 100174 Ташкент, ул. Фаробия, 383

Контакты: Павел Викторович Светицкий svetitskiy.p@gmail.com

Введение. В Российской Федерации орофарингеальный рак по частоте заболеваемости среди опухолей головы и шеи занимает 2-е место. Больные, обратившиеся к онкологу с данной патологией, как правило, уже имеют распространенный опухолевый процесс в объеме III–IV стадий. Смертность таких больных в 1-й год после лечения колеблется от 30 до 40 %. Это обуславливает необходимость совершенствования способов диагностики и лечения данного заболевания с использованием хорошо зарекомендовавших себя клинических методов. Современные лабораторные методы, позволяющие до начала лечения и в процессе его проведения прогнозировать состояние больного, вошли в клиническую практику для успешной коррекции лечения. Немаловажная роль отводится оценке практического опыта смежных лечебных учреждений.

Цель исследования – выработать алгоритм современной диагностики и лечения больных с орофарингеальным раком, используя опыт лечебных учреждений, занимающихся данной патологией: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» (РНИОИ) Минздрава России и Республиканского специализированного научно-практического медицинского центра онкологии и радиологии (РСНПМЦОиР) Минздрава Республики Узбекистан.

Материалы и методы. Объектом исследования были 40 больных орофарингеальным раком, получивших лечение в отделениях опухоли головы и шеи РНИОИ Минздрава России и РСНПМЦОиР Минздрава Узбекистана в период с 2007 по 2014 г.: 25 пациентов с III стадией (T1–3N0–1) заболевания, 7 с IV (T4N0–1) и 8 с распространенным рецидивом. До поступления в стационар на операцию все больные получили неоадьювантную лучевую терапию (40 Гр). Проводимые операции включали радикальное удаление первичного очага, а при наличии шейных метастазов – одномоментную шейную лимфодиссекцию в объеме IB, IIA–B, III и IVA уровней. В процессе операций у больных брали образцы тканей опухоли и перитуморальной зоны. Их гомогенизировали и проводили определение уровней про- и противовоспалительных цитокинов: интерлейкинов 1 β , 6, 8 и 10; рецепторного антагониста интерлейкина 1; интерферонов α и γ ; фактора некроза опухоли α и секреторного иммуноглобулина A.

Результаты. Установлено, что в опухолевой ткани по сравнению с перитуморальной зоной статистически значимо более высокое содержание провоспалительных цитокинов в группе первичных больных без регионарных метастазов. У пациентов с регионарными метастазами наблюдались сходные различия. При рецидивах подобная разница отмечена только по уровню интерлейкина 6. Следует отметить, что при рецидивах в тканевых образцах перитуморальной зоны и опухоли утрачиваются различия по интерлейкинам 1 β , 6 и 8, выраженные в 2 других группах. Это говорит о приближении визуально немалигнизированной ткани к опухолевой по иммунологическим характеристикам и может косвенно свидетельствовать об утрате ею свойств, ограничивающих пролиферативный потенциал. В перитуморальной зоне обнаружены различия 2 показателей: уровни фактора некроза опухоли α и интерлейкина 1 β при рецидивах были выше, чем при первичных опухолях без регионарных метастазов. У больных без метастазов и с ними не было различий по тканевому удельному содержанию секреторного иммуноглобулина A между опухолью и перитуморальной областью, тогда как у больных с рецидивами наблюдались более высокие уровни в опухолевой ткани по сравнению с перитуморальной зоной. В тканевых образцах опухоли больных этой же группы количество секреторного иммуноглобулина A оказалось статистически достоверно выше, чем в группе с метастазами, в которой его уровень был минимальным среди всех исследуемых групп, что свидетельствует об угнетении его локального синтеза. В перитуморальных зонах данный показатель был во всех группах статистически одинаковым.

Выводы. 1. Клинические данные в сочетании с иммунологическими показателями следует использовать для дополнения объективной оценки статуса больных орофарингеальным раком. 2. Формирующийся высокий уровень провоспалительных цитокинов в ткани опухоли способствует прогрессии и диссеминации, что может быть следствием как их продукции опухолевыми клетками, так и локального воспалительного процесса; уровни цитокинов в ткани опухоли превышают их содержание в перитуморальной зоне. 3. Уровень секреторного иммуноглобулина A минимален в ткани метастазирующей опухоли и максимален в ткани рецидивной опухоли. При этом статистически значимых различий не отмечено.

Ключевые слова: орофарингеальный рак, опухоль, метастазы, рецидивы, иммунологический фактор, цитокины, перитуморальная зона, антигены

Features of local immunity in patients with oropharyngeal cancer

O.I. Keith¹, M.N. Tilliashaihov², P.V. Svetitsky¹, E. Yu. Zlatnik¹, G.I. Zakora¹,
A.A. Ganiev², G.P. Nistratov¹

¹Rostov Research Institute of Oncology, Ministry of Health of Russia; 63 14th Line St., Rostov-on-Don 344037, Russia;

²Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Oncology and Radiology, Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan; 383 Farobiy St., Tashkent 100126, Republic of Uzbekistan

Background. Oropharyngeal cancer is the second most frequent cancer among patients with head and neck tumors in the Russian Federation. Patients usually seek medical assistance in the late stages of the disease (stages III–IV). The mortality rate in such patients during the first year after treatment varies from 30 % to 40 %. This makes it necessary to improve the methods of its diagnosis and treatment. Modern laboratory techniques allow predicting patient's condition before and during the course of treatment; they were implemented into clinical practice for successful treatment correction. An important role is given to assessing the practical experience of related medical institutions.

Objective: to develop an algorithm for the diagnosis and treatment of patients with oropharyngeal cancer using the experience of medical institutions dealing with these patients. We explored the experience of the Rostov Research Institute of Oncology and the Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Oncology and Radiology of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan.

Materials and methods. The study included 40 patients with oropharyngeal cancer who received treatment in the departments of head and neck tumors of the Rostov and Uzbek Oncology Institutes between 2007 and 2014. Twenty-five patients had stage III (T1–3N0–1) oropharyngeal cancer, seven patients were diagnosed with stage IV (T4N0–1) cancer, and eight patients had a widespread relapse. Before admission to the hospital for surgery, all patients received neoadjuvant radiation therapy (40 Gy). The surgeries included radical removal of the primary tumor; patients with cervical metastases underwent simultaneous cervical lymph node dissection (levels IB, IIA–B, III, and VA). Samples of tumor tissues and peritumoral tissues were collected during the surgery. They were homogenized and used for the assessment of the levels of pro- and antiinflammatory cytokines: interleukins (IL) 1 β , 6, 8, 10; IL-1 receptor antagonist; interferons (IF) α , and γ ; tumor necrosis factor (TNF) α , and secretory immunoglobulin A.

Results. Among newly diagnosed patients without regional metastases, the level of proinflammatory cytokines was significantly higher in the tumor tissue compared the peritumoral tissue. Patients with regional metastases had similar differences. In patients with relapses, such difference was observed only for interleukin-6. It should be mentioned that patients with relapses (unlike the participants from the two remaining groups) usually have no difference in the levels of IL-1 β , IL-6, and IL-8 between tumor and peritumoral tissues. This may indicate the transformation of visually non-malignant tissue into the malignant one in terms of its immunological characteristics, which is likely to reflect the loss of ability to limit the proliferative potential. In the peritumoral tissue, the levels of tumor necrosis factor α and interleukin 1 β were higher in patients with relapses than in newly diagnosed patients without regional metastases. No difference in the level of secretory immunoglobulin A between the tumor and peritumoral tissue was observed among patients with or without metastases, whereas patients with relapses were found to have higher levels of secretory immunoglobulin A in the tumor tissue compared to the peritumoral tissue. In these patients, the level of secretory immunoglobulin A in the tumor tissue was significantly higher than that in patients with metastases who demonstrated its minimal concentrations, which probably indicates the inhibition of its local synthesis. In the peritumoral tissue, this parameter did not vary across the groups.

Conclusions. 1. Both clinical data and immunological parameters should be evaluated to supplement the objective assessment of the status of patients with oropharyngeal cancer. 2. The increasing level of pro-inflammatory cytokines in the tumor tissue promotes its progression and dissemination, which may be caused either by their production by tumor cells or by the local inflammatory process; the levels of cytokines in the tumor tissue exceed their levels in the peritumoral tissue. 3. The level of secretory immunoglobulin A is minimal in the tissue of the metastatic tumor and maximal in the tissue of the recurrent tumor. However, the differences failed to reach statistical significance.

Key words: oropharyngeal cancer, tumor, metastases, relapses, immunological factor, cytokines, peritumoral zone, antigens

Введение

Рак органов полости рта и ротоглотки в клинической практике рассматривается как единая онкопатология, трактуемая как орофарингеальный рак (ОФР). Данная патология по частоте заболеваемости среди опухолей головы и шеи в Российской Федерации занимает 2-е место [1]. Заболеваемость ОФР в Российской Федерации неодинакова: в промышленных районах, к которым относится Ростовская область, она высока, что ввело область в первую десятку регионов с высокой заболеваемостью данной патологией.

Больные, обратившиеся к онкологу по поводу ОФР, как правило, уже имеют распространенный (в объеме

III–IV степени) опухолевый процесс [2]. Смертность таких больных в 1-й год после лечения колеблется от 30 до 40 % [3]. Это обуславливает необходимость выяснения первопричин возникновения данной патологии, совершенствования методов ее диагностики и лечения с использованием хорошо зарекомендовавших себя клинических методов [4]. В то же время современные лабораторные методы, позволяющие до начала лечения и в процессе его проведения прогнозировать состояние больного, применяются в практике в целях успешной коррекции лечения. Немаловажная роль отводится оценке практического опыта смежных онкологических центров, занимающихся данными проблемами. Так,

в Республике Узбекистан наиболее высокая заболеваемость ОФР также выявляется на территориях с промышленно-развитым производством: в г. Ташкенте и Бухарско-Навоийском регионе [5].

Все это послужило основанием к совместному изучению опыта лечения ОФР в 2 онкологических учреждениях: ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» (РНИОИ) Минздрава России и Республиканском специализированном научно-практическом медицинском центре онкологии и радиологии (РСНПМЦОиР) Минздрава Республики Узбекистан.

Цель исследования – провести сравнительную оценку некоторых факторов локального иммунитета в тканевых образцах опухоли и перитуморальной зоны у больных ОФР с различной распространенностью процесса.

Задачи: 1) оценить возможности использования иммунологических методов у больных ОФР; 2) определить уровни цитокинов в ткани опухоли и перитуморальной зоне у больных с распространенным ОФР без метастазов, с метастазами и при рецидивах; 3) оценить различия в содержании секреторного иммуноглобулина А в тканях опухоли и перитуморальной зоне данной категории больных.

Материалы и методы

Объектом исследования были 40 больных ОФР (32 мужчины, 8 женщин) в возрасте от 40 до 74 лет, получивших лечение в отделениях опухоли головы и шеи РНИОИ Минздрава России и в Ташкентском област-

ном филиале РСНПМЦОиР Минздрава Узбекистана в период с 2007 по 2014 г. [6, 7]. С III стадией (T1–3N0–1) было 25 пациентов, с IV ст. (T4N0–1) – 7, с распространенным рецидивом – 8. До поступления в стационар на операцию все больные получили неoadъювантную лучевую терапию (40 Гр). Проводимые операции (38 из них в РНИОИ Минздрава России, а 12 – в Ташкентском областном филиале РСНПМЦОиР Минздрава Узбекистана) включали радикальное удаление первичного очага, а при наличии шейных метастазов – одномоментную шейную лимфодиссекцию в объеме IV, IIА–В, III и VA уровней. Мы не будем останавливаться на детализации проводимых операций и результатах лечения, так как они будут представлены в следующих публикациях, а остановимся на теме представленной статьи – некоторых иммунологических факторах у больных ОФР.

В процессе операций у больных брали образцы тканей опухоли и перитуморальной зоны. Их гомогенизировали и проводили определение уровней про- и противовоспалительных цитокинов: интерлейкинов (IL) 1 β , IL-6, IL-8, IL-10; рецепторного антагониста интерлейкина IL-1 (IL-1RA), интерферона (IFN) α и γ ; фактора некроза опухоли α (TNF- α) и секреторного иммуноглобулина А (SIgA) методом иммуноферментного анализа (ИФА) с тест-системами производства «Вектор-Бест» (Россия, Новосибирск).

Из характеристики удельных (в пересчет на 1 г белка) уровней цитокинов в тканях опухоли и перитуморальной зоны (табл. 1) видно, что в опухолевой ткани по сравнению с перитуморальной зоной отмече-

Таблица 1. Удельное содержание цитокинов в тканях опухоли и перитуморальной зоны больных орофарингеальным раком, пг/г белка

Table 1. Relative levels of cytokines in the tumor tissue and peritumoral tissue in patients with oropharyngeal cancer, pg/g of protein

Цитокин Cytokine	Опухоль Tumor tissue	Перитуморальная зона Peritumoral tissue	Опухоль Tumor tissue	Перитуморальная зона Peritumoral tissue	Опухоль Tumor tissue	Перитуморальная зона Peritumoral tissue
	без регионарных метастазов without regional metastases		с регионарными метастазами with regional metastases		с рецидивами with relapses	
TNF- α	2,32 \pm 2,16	1,47 \pm 0,24***	2,83 \pm 0,91	3,10 \pm 0,96	2,82 \pm 0,78	2,320 \pm 0,357*.**
IL-8	16,3 \pm 3,5*	5,50 \pm 2,33	26,7 \pm 7,2*	7,30 \pm 2,78	17,0 \pm 7,4	12,7 \pm 7,2
IL-6	7,1 \pm 3,2*	0,71 \pm 0,158	5,90 \pm 22,03*	1,23 \pm 0,49	13,0 \pm 7,33	1,40 \pm 0,56
IL-10	2,50 \pm 0,33	2,42 \pm 0,33	2,92 \pm 1,10	3,64 \pm 1,69	1,23 \pm 0,40	1,84 \pm 0,50
IL-1 β	14,4 \pm 3,8*	4,70 \pm 0,71***	19,0 \pm 4,2*	6,7 \pm 2,1	17,5 \pm 8,2	26,5 \pm 10,7**
IFN- α	0,576 \pm 0,100	0,548 \pm 0,090	0,442 \pm 0,110	0,47 \pm 0,08	–	–
IFN- γ	1,3 \pm 0,2	1,576 \pm 0,190	1,26 \pm 0,17	2,35 \pm 0,76	–	–

Примечание. В табл. 1 и 2: *статистически достоверные отличия от показателей перитуморальной зоны; **статистически достоверные отличия от группы больных без метастазов; ***статистически достоверные отличия от группы больных с рецидивами ($p < 0,05$).

Note. Here and in the Table 2: *statistically significant difference compared to peritumoral tissue; **statistically significant difference compared to patients without metastases; ***statistically significant difference compared to patients with relapses ($p < 0.05$).

но статистически значимо более высокое содержание провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6 и IL-8 в группе первичных больных без регионарных метастазов, у больных с регионарными метастазами наблюдались сходные различия. При рецидивах подобная разница отмечена только по уровню IL-6, однако она была статистически недостоверна вследствие незначительного числа наблюдений и высокой индивидуальной вариабельности показателей. Тканевые уровни интерферонов IL-2 и IL-10 в опухоли и перитуморальной зоне были невысоки и не имели статистически достоверных различий. Следует отметить, что при рецидивах в тканевых образцах перитуморальной зоны и опухоли утрачиваются различия по IL-1 β , IL-6 и IL-8, выраженные в 2 других группах. Это говорит о приближении визуально немалигнизированной ткани к опухоли по иммунологическим характеристикам и может косвенно свидетельствовать об утрате ею свойств, ограничивающих пролиферативный потенциал.

В перитуморальной зоне обнаружены различия двух показателей: уровни TNF- α и IL-1 β при рецидивах были выше, чем при первичных опухолях без регионарных метастазов.

По содержанию SIgA в исследуемых тканях (табл. 2) видно, что у больных без метастазов и с ними не было различий по тканевому удельному содержанию SIgA между опухолью и перитуморальной областью, тогда как у больных с рецидивами наблюдались более высокие уровни в ткани опухоли по сравнению с перитуморальной зоной. В тканевых образцах опухоли больных этой же группы количество SIgA оказалось статисти-

чески достоверно выше, чем в группе с метастазами, в которой его уровень был минимальным среди всех исследуемых групп, что свидетельствует об угнетении его локального синтеза. В перитуморальных зонах данный показатель был во всех группах статистически одинаковым.

Обсуждение

Изучение факторов локального иммунитета у больных с распространенным ОФР выявило неоднозначные показатели в зависимости от наличия или отсутствия регионарных метастазов или рецидива. В ткани опухоли установлена гиперпродукция цитокинов, преимущественно провоспалительных: IL-1 β , IL-6 и IL-8. При этом не выявлена зависимость их уровня от формирования регионарных метастазов. Наблюдаемый высокий уровень TNF- α и IL- β в перитуморальных зонах рецидивных опухолей, по сравнению с перитуморальными зонами у больных без метастазов и с ними, свидетельствует о приближении их по цитокиновым характеристикам к опухолевой ткани рецидивной опухоли. Оба цитокина, по данным литературы, могут проявлять как анти-, так и проонкогенные свойства за счет ангиогенной активности и, по всей вероятности, при высоком содержании могут стимулировать развитие рецидива [8, 9].

Снижение содержания SIgA в ткани опухоли при ее метастатическом распространении, по сравнению с перитуморальной зоной, рецидивными и неметастазирующими опухолями, говорит об угнетении В-клеточного звена локального иммунитета и о возможных функциональных нарушениях в предшествующих ему звеньях иммунной системы (макрофагальном и Т-клеточном).

Выводы

1. Клинические данные в сочетании с иммунологическими показателями следует использовать для дополнения объективной оценки статуса больных орфофарингеальным раком.

2. Формирующийся высокий уровень провоспалительных цитокинов в ткани опухоли способствует прогрессии и диссеминации, что может являться следствием как их продукции опухолевыми клетками, так и локального воспалительного процесса; уровни цитокинов в ткани опухоли превышают их содержание в перитуморальной зоне.

3. Уровень SIgA минимален в ткани метастазирующей опухоли и максимален в ткани рецидивной опухоли. При этом статистически значимых различий не отмечено.

Таблица 2. Удельное содержание секреторного иммуноглобулина в тканях опухоли и перитуморальной группах больных, мг/мл/г белка

Table 2. Relative levels of the secretory immunoglobulin in the tumor tissue and peritumoral tissue in patients studied, mg/mL/g of protein

Образцы тканей Tissue samples	Группы больных Groups of patients		
	без регионарных метастазов without regional metastases	с регионарными метастазами with regional metastases	с рецидивами with relapses
Опухоль Tumor tissue	0,274 \pm 0,09	0,05 \pm 0,01**,**	0,47 \pm 0,08*,**
Перитуморальная зона Peritumoral tissue	0,293 \pm 0,15	0,142 \pm 0,08	0,08 \pm 0,02

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. Authors declare no conflict of interest.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Пачес А.И. Рак слизистой оболочки полости рта. В кн.: Опухоли головы и шеи. М.: Медицина, 2000. С. 142–155. [Paches A.I. Cancer of the oral mucosa. In: Head and neck tumors. Moscow: Meditsina, 2000. P. 142–155. (In Russ.)].
2. Кит О.И., Дурицкий М.А., Шелякина Т.В., Енгибарян М.А. Особенности выявления онкологических заболеваний органов головы и шеи в условиях онкологического учреждения общелечебной сети. Современные проблемы науки и образования 2015;4. URL: <https://science.education.ru/ru/article/view?id=20931>. [Kit O.I., Duritskiy M.A., Shelyakina T.V., Engibaryan M.A. Diagnosis of head and neck tumors in a cancer center of the general health service. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya* = Modern Problems of Science and Education 2015;4. URL: <https://science.education.ru/ru/article/view?id=20931>. (In Russ.)].
3. Гинзбург Г.А., Гинзбург А.Г., Бузов Д.А., Герасимова Л.Д. Рак слизистой оболочки полости рта – две стороны одной проблемы. Сибирский онкологический журнал 2010;3(39):61–2. [Ginzburg G.A., Ginzburg A.G., Buzov D.A., Gerasimova L.D. Cancer of the oral mucosa: two sides of the same coin. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal* = Siberian Journal of Oncology 2010;3(39):61–2. (In Russ.)].
4. Светицкий П.В. К вопросу о раке полости рта. В кн.: Опухоли головы и шеи 2012;4:59–62. DOI:10.17650/2222-1468-2012-0-4-59-62. [Svetitskiy P.V. On oral cancer. *Head and neck tumors (HNT)* 2012;(4):59–62. (In Russ.) DOI:10.17650/2222-1468-2012-0-4-59-62].
5. Юсупов Б.Ю. Злокачественные опухоли головы и шеи среди разных этнических групп в республике Узбекистан. Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Ташкент, 2007. [Yusupov B.Yu. Malignant tumors of the head and neck among different ethnic groups in the Republic of Uzbekistan. Summary of thesis ... of doctor of medical science. Tashkent, 2007. (In Russ.)].
6. Ганиев А.А. Аутоплазмохимиотерапия в комплексном лечении местно-распространенного рака языка и дна полости рта. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ростов-на-Дону, Ростов-на-Дону, 2011. [Ganiev A.A. Autoplasma chemotherapy in the complex treatment of locally advanced cancer of the tongue and oral floor. Summary of thesis ... candidate of medical science. Rostov-on-Don, 2011. (In Russ.)].
7. Нистратов Г.П. Некоторые клинико-биологические особенности рака языка и дна полости рта. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Ростов-на-Дону, 2015. [Nistratov G.P. Some clinical and biological features of the tongue and oral cancer. Summary of thesis ... candidate of medical science. Rostov-on-Don, 2015. (In Russ.)].
8. Кит О.И., Златник Е.Ю., Никипелова Е.А. и др. Сравнительная характеристика содержания цитокинов в тканях аденоматозных полипов и рака толстой кишки. Цитокины и воспаление 2012;11(3):100–4. [Kit O.I., Zlatnik E.Yu., Nikipelova E.A. et al. Comparative analysis of the cytokines levels in the tissues of adenomatous polyps and colon cancer. *Tsitokiny i vospalenie* = Cytokines and Inflammation 2012;11(3):100–4. (In Russ.)].
9. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Иммунология злокачественного роста. Киев: Наукова Думка, 2005. [Berezhnaya N.M., Chekhun V.F. Immunologic features of malignant growth. Kiev: Naukova Dumka, 2005. (In Russ.)].

Статья поступила: 06.06.2017. Принята в печать: 30.07.2017.

Article received: 06.06.2017. Accepted for publication: 30.07.2017.