

На правах рукописи

ИБРАГИМ АБДУЛЛА

Клинико - лабораторная оценка интерферонового статуса у больных с базально-клеточным раком и его коррекция индукторами интерферона

14.01.10 – Кожные и венерические болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва - 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Снарская Елена Сергеевна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор **Мордовцева Вероника Владимировна**
федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования "Московский государственный университет пищевых производств" Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, кафедра кожных и венерических болезней с курсом косметологии, профессор кафедры

доктор медицинских наук

Бельшева Татьяна Сергеевна

федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина" Министерства здравоохранения Российской Федерации, отделение научно-консультативного научно-исследовательского института детской онкологии и гематологии, ведущий научный сотрудник

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение дополнительного профессионального образования «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2019 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.072.10 на базе ФГБОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, Москва, ул. Островитянова, д.1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте <http://rsmu.ru> ФГБОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Минздрава России по адресу: 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1.

Автореферат разослан «___» _____ 2019 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Шарова Наталья Михайловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Проблема злокачественных эпителиальных новообразований кожи является одной из актуальных в современной клинической дерматологии. В России по сравнению с западными странами крайне низок процент больных, у которых заболевание выявлено на ранних стадиях (I-II) – 48%. (Каприн А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2015 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, 2017. 250 с.) В ближайшие годы предполагается дальнейшее увеличение заболеваемости УФО-индуцированными опухолями кожи, в связи с изменениями в экологической ситуации, с увеличением продолжительности жизни, посещения экваториальных стран, популяризации использования соляриев (Van der Leun J.C. Climate change and human skin cancer//PhotochemPhotobiol Sci. 2008. №7. P. 730-733) Накопленный в последние годы опыт в области диагностики и лечения опухолей кожи свидетельствует о возрастании частоты базальноклеточной карциномы (БКК), так по данным Московского онкологического регистра за период с 2000-2015 г., доля БКК составила 91,5% от всех немеланомных злокачественных новообразований кожи (Малишевская Н.П. Эпидемиологические и клинкоморфологические особенности базально-клеточного рака кожи нетипичной локализации//Российский журнал кожных и венерических болезней. 2000. №1. P. 7-9.) По сравнению с 2000 г., в целом по стране, произошел значительный рост показателей заболеваемости эпителиальными новообразованиями кожи в 1,1 раза. (Молочков В.А. Базалиома: клиника, диагностика, лечение, профилактика//Consilium Medicum. Дерматология. 2013. №4. С.40-44.) Базальноклеточная карцинома кожи обладает неконтролируемым инфильтративным и деструктивным характером развития с распространением на подлежащие ткани и выраженной склонностью к рецидивированию, кроме того отличается многообразием клинических форм и гистологических типов, с преимущественной локализацией в косметически значимых зонах кожи лица (80%) и участках, подвергающихся хронической экспозиции ультрафиолетового

излучения (Писклакова Т.П. Особенности течения базально-клеточного рака кожи на Южном Урале//Российский журнал кожных и венерических болезней. 1998. №5. С.9-10.) Также базальноклеточная карцинома имеет высокую склонность к рецидивам, усилению степени агрессивности при длительном существовании, с высокими рисками трансформации в метатипический или плоскоклеточный рак кожи (Снарская Е.С. Матриксные металлопротеиназы и их тканевые ингибиторы при базально-клеточном и метатипическом раке кожи//Архив патологии. 2005. №3. С.14-18.) Можно предположить, что особенности течения деструктивных и рецидивирующих вариантов БКК обусловлены, как морфотипологическими особенностями опухолевых комплексов, включая типы строения, глубину поражения и особенности стромы опухоли, так и состоянием противоопухолевого звена иммунитета макроорганизма. Для базальноклеточной карциномы, характерным является вторичный иммунодефицит с преимущественным поражением клеточного звена, причем выраженность иммунологических сдвигов у таких пациентов может заметно различаться по глубине и спектру (Волгин В.Н. Базально-клеточный рак кожи: диагностика, лечение//Вестник дерматологии и венерологии. 2013. №7. С. 17-19.) Гипотезы патогенеза, прогрессирования и метастазирования различных клинических форм БКК, в том числе, рецидивирующих, свидетельствуют в пользу многостадийной модели заболевания, учитывающей интерференцию целого ряда патофизиологических и иммунологических механизмов (Гамаюнов С.В. Базально-клеточный рак кожи – обзор современного состояния проблемы//Практическая онкология.2012. № 13. С.92-106.) Иммунологические исследования при БКК малочисленны, носят разрозненный характер, включают небольшое количество наблюдений, проводившихся суммарно при различных формах БКК и ограниченном спектре иммунологических параметров, от чего полученные данные часто противоречивы. (Ahn I. Basal-Cell Carcinoma//Engl J Med. 2005. № 353.P. 751-61.) С позиции противоопухолевых эффектов большой интерес представляют собой интерфероны. (Хлебникова А.Н. Новые подходы к лечению базальноклеточного рака кожи//Клиническая дерматология и венерология. 2007. №5. С.49-54.)

Система ИФН является одной из основных систем противоопухолевой защиты организма. Направленность основного влияния ИФН во многом зависит от индивидуальных особенностей организма, дозы и кратности его введения, что усложняет разработку тактики использования ИФН, препараты которых должны рассматриваться как препараты, влияющие на процессы дифференцировки, рекрутирования, а также функциональную активность эффекторных клеток иммунной системы, прежде всего Т-лимфоцитов и моноцитов (Ершов Ф.И. Интерфероновый статус в норме//Иммунология. 2005. №3. С. 25-27.). Данные об эффективности рекомбинантных человеческих интерферонов (рч ИФН) при опухолях значительно варьируют, что связано с различными дозами, методами их использования (Снарская Е.С. Современный менеджмент и терапевтическая стратегия базальноклеточного рака кожи//Вопросы онкологии. 2013. №4. С. 23-25.) В отечественной литературе нет работ, отражающих анализ состояния уровня противоопухолевой защиты и напряженности противоопухолевого иммунитета по показателям совокупных параметров интерферонового статуса пациентов с рецидивирующими и агрессивными формами базальноклеточной карциномы. Проблема разработки антирецидивной патогенетической терапии базальноклеточной карциномы основанной на исследовании показателей напряженности противоопухолевого иммунитета, имеет медико-социальное значение, в связи с широкой распространенностью рецидивирующих форм БКК, формированию уродующих косметических дефектов с потерей функции органов, приводящих к резкому снижению качества жизни, формированию психосоматических расстройств и значительной социальной дезадаптации пациентов.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Совершенствование методов патогенетической терапии рецидивирующих и агрессивных форм базальноклеточной карциномы на основании изучения уровня противоопухолевой защиты и напряженности противоопухолевого иммунитета по показателям совокупных параметров интерферонового статуса пациентов. Для достижения поставленной цели в работе решалось несколько задач.

Задачи исследования

1. Провести клинико-диагностическое фенотипирование 75 пациентов с диагнозом базальноклеточная карцинома, согласно Международной классификации опухолей.
2. Определить интерферон продуцирующую активность клеток крови (лейкоцитов) по показателям циркулирующего интерферона и интерферон-продуцирующую активность клеток организма с определением спонтанной и стимулированной продукции ИФН α , β и уровня иммунного ответа при индукции ИФН g in vitro у пациентов с базальноклеточной карциномой.
3. Установить структуру основных морфотипов у пациентов с БКК и оценить прогноз биологической агрессивности опухоли, используя гистологическое, дерматоскопическое исследование и конфокальную лазерную микроскопию.
4. Разработать патогенетически обоснованный метод лечения агрессивных и рецидивирующих местнораспространяющихся форм базальноклеточной карциномы с учетом индивидуального уровня нарушений регуляции синтеза интерферонов и морфотипа карциномы.

Научная новизна работы

Научная значимость работы определяется новизной полученных данных и актуальностью темы исследования. Впервые проведено комплексное изучение уровня противоопухолевой защиты и напряженности противоопухолевого иммунитета по показателям совокупных параметров интерферонового статуса пациентов с рецидивирующими и агрессивными формами базальноклеточной карциномы, что позволило уточнить патогенетическое и прогностическое значение этих показателей. Впервые установлен факт наличия дефицита параметров интерферонового статуса у всех 75 больных с установленным диагнозом базальноклеточная карцинома, то есть в 100% случаев. Полученные данные свидетельствуют о роли уровня противоопухолевой защиты и напряженности противоопухолевого иммунитета в патогенезе эпителиального канцерогенеза и могут явиться перспективными потенциальными субстратами для таргетной противоопухолевой терапии. Впервые показано, что

недостаточная реакция выработки интерферонов (3 степень дефицита интерферонов) выявлена в 45,3% случаев, *депрессивная реакция* – анергия индукции интерферонов (4 степень дефицита) выявлена в 54,6% случаев. Впервые обнаружен феномен совокупного дефицита 2^x интерферонов : - α , - γ , имеющих важное значение в механизмах канцерогенеза и противоопухолевого иммунитета. Результаты проведенных исследований конкретизируют и развивают существующие представления о патоморфологических и патофизиологических процессах изменениях в коже с различными вариантами базальноклеточной карциномы. Доказано, что кроме традиционной клинической оценки опухоли и ее морфотипа, исследования показателей интерферонового статуса являются основным прогностическим фактором и позволяют достаточно уверенно прогнозировать направление развития патологического процесса, его исход, риски развития рецидива и возможные объемы и результаты лечения. Разработан эффективный антирецидивный патогенетический метод лечения первичных и рецидивных форм базальноклеточных карцином у пациентов, на основании индивидуальных показателей интерферонового статуса пациента (ИФН- α , - β , - γ) и степени дефицита индукции интерферонов, как прогностических факторов безрецидивных результатов лечения. Установленные в работе научные факты могут использоваться в лекционных курсах на кафедрах дерматологии и патофизиологии, а также в соответствующих пособиях и руководствах.

Практическая значимость работы

Использование предлагаемых показателей уровня противоопухолевой защиты и напряженности противоопухолевого иммунитета по показателям совокупных параметров интерферонового статуса в комплексе с другими методами обследования существенно расширяют возможности клинициста, позволяя оценить резервные возможности организма и определять риски развития рецидива. На основании полученных показателей совокупных параметров интерферонового статуса, был разработан патогенетический способ лечения базальноклеточной карциномы с применением многокурсовой компенсаторной

интратуморальной коррекции препаратами рекомбинантного человеческого интерферона альфа 2_b (рч ИФН- α_{2b}). Исследования показателей интерферонового статуса являются основным доступным прогностическим фактором и позволяют достаточно уверенно прогнозировать направление развития патологического процесса и возможные объемы и результаты лечения. Определение противоопухолевой активности ИФН-ов сыворотки крови рекомендуется использовать в динамике для контроля эффективности лечения больных БКК. Точный прогноз гистологического морфотипа БКК может обеспечить возможность подбора лечения для оптимизации результатов лечения. Использование методов дермоскопии и конфокальной лазерной микроскопии обеспечивает высокую диагностическую и прогностическую точность диагностики любого морфотипа БКК.

Положения, выносимые на защиту

1. При проведении клинико-морфологического фенотипирования были установлены изменения морфотипов основных форм БКК в сторону усиления агрессивных гистологических признаков при наличии типичной клинической картины.
2. У всех больных БКК выявлен глубокий дефицит (3 и 4 степени) интерферонового звена противоопухолевого иммунитета и феномен совокупного дефицита двух интерферонов, имеющих прогностическое значение в механизмах канцерогенеза.
3. Глубокий дефицит совокупных параметров интерферонового статуса пациентов является прогностическим признаком высоких рисков рецидивирования опухоли и усиления агрессивных свойств опухоли, что требует компенсаторной иммунокоррекции препаратами интерферона.
4. Разработанный патогенетический комплексный метод лечения первичных и рецидивных форм базальноклеточной карциномы с применением курсового интратуморального введения рекомбинантного человеческого ИФН- α_{2b} приводит к саморегрессу опухоли на фоне нормализации процессов регуляции синтеза

интерферонов, что обеспечивает безрецидивные результаты лечения базальноклеточной карциномы.

Внедрение результатов исследования

Работа выполнена на кафедре кожных и венерических им В.А. Рахманова ФГАОУ ВО Первый МГМУ им И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет). Полученные в ходе исследования результаты внедрены в научно-исследовательскую, практическую и педагогическую деятельность образовательных учреждений и диспансерных служб дермато-венерологического профиля, кожно-венерологического отделения ГБУЗ "Раменская ЦРБ", Московская область, г. Раменское.

Апробация работы

Материалы диссертации доложены и обсуждены на: научно-практической конференции кафедры и клиники кожных и венерических болезней лечебного факультета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, июнь 2017 г., XXXIV Научно-практической конференции с международным участием «Рахмановские чтения: «Наследие наших учителей в современной отечественной дерматологии», Москва, 27 января 2017 г.

Апробация работы состоялась на научной конференции кафедры кожных и венерических болезней им В.А. Рахманова лечебного факультета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) 23 октября 2018 г.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 3 печатные работы в изданиях утвержденных перечнем ВАК РФ.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания методик исследования, собственных исследований, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 137 страницах компьютерного текста,

иллюстрирована 11 таблицами, 46 рисунками. Список литературы включает 128 источников, в том числе 52 отечественных и 76 иностранных авторов.

Материалы и методы исследования

Проведено комплексное клиническое, иммунологическое и морфологическое исследования у 75 больных с различными клиническими вариантами БКК, находившихся на лечении и диспансерном наблюдении в отделении дерматовенерологии и дерматоонкологии Московского областного научно-исследовательского клинического института им. М.Ф. Владимирского, КДО Первого МГМУ им И.М. Сеченова (Сеченовский университет), а так же в Московском областном кожно-венерологическом диспансере (МОКВД). Оценка интерферонового статуса проводилась по результатам определения концентрации в периферической крови интерферонов (ИФН- α , - β , ИФН- γ), с применением коммерческих ИФА-наборов отечественного (НПО "Протеиновый контур", г. Санкт-Петербург) и зарубежного ("Research Diagnostic System", Англия, "Biomar Diagnostic Systems", Германия) производства. Материалом для исследования являлась гепаринизированная кровь пациентов. Уровень интерферона оценивался биологическим методом по задержке деструкции монослоя диплоидной культуры фибробластов после внесения тест-вируса (вирус везикулярного стоматита или вирус энцефаломиокардита мышей). Для оценки индуцированного синтеза интерферонов *in vitro* в качестве индуктора синтеза альфа-интерферона применяется вирус болезни Ньюкасла, в качестве индуктора синтеза гамма-интерферона – фитогемагглютинин. Определяется общий уровень всех интерферонов (ИФН- α , - β и ИФН- γ), ИФН- β не продуцируется лимфоцитами, поэтому его отдельно не исследуют.

Комплекс иммунологических исследований показателей интерферонового статуса. Забор биологического материала (кровь) для проведения исследования интерферонового статуса проводился у 75 пациентов с установленным диагнозом БКК, до и в процессе этапов лечения (в качестве контроля использовалась кровь здоровых доноров). В качестве критериев динамики показателей использовались стандартные референсные значения

показателей интерферонового статуса. *Референсные значения интерферонового статуса* :сывороточный интерферон: < 8 Ед/мл; спонтанный интерферон: < 2 Ед/мл; индуцированный альфа-интерферон: взрослые – 640 - 1280 Ед/мл (норма) индуцированный гамма-интерферон: взрослые - 128 - 256 Ед/мл (норма).

Комплекс дифференциально-диагностических морфологических исследований проведен у 75 пациентов. Процедура биопсирования ткани проводилась под местной анестезией р-ом новокаина, полученный материал (кусочек кожи размером 0,5x0,5см) фиксировали в 10%-ном растворе формалина, забуференном по Лилли при рН-7,4, затем заливали в парафиновые блоки по обычной методике. Из блоков готовили многосерийные многоступенчатые срезы ткани толщиной 3-5 мкм, депарафинировали по стандартной схеме, затем окрашивали гематоксилином и эозином с последующей фиксацией на предметных стеклах. Гистологические препараты анализировали с помощью микроскопа 'Vision' с различным увеличением. Особенности патоморфологической структуры базальноклеточной карциномы, характеристики опухоли и частота различных вариантов сочетания патоморфологических признаков были изучены на основании анализа 223 биоптатов кожи взятых из очагов БКК.

Неинвазивные методы исследования включали: дерматоскопический метод исследования, проведен с помощью дерматоскопа модели 'Molescope' (Канада) и конфокальную лазерную сканирующую микроскопию очагов поражения (КЛСМ), которая проведена на аппарате 'VivaScope 1500' (США) у 21 пациента. Сканирование проводилось на длине волны 830 нм с оптической мощностью не более 16 мВт, что дает возможность получить 4 мозаичных снимка (8x8 мм, размер кадра 0.5x0.5 мм) на уровне рогового слоя, зернистого/шиповатого слоев, дермо-эпидермального сочленения и поверхностной дермы. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием критерия Стьюдента.

Результаты исследований

Клинико-морфологический мониторинг и комплекс иммунологических исследований проведен у 75 больных, находившихся на стационарном лечении в клинике кожных и венерических болезней им В.А. Рахманова и амбулаторно-поликлиническом приеме в КДО ФГАОУ ВО Первый МГМУ им И.М. Сеченова МЗ РФ, кафедре кожных и венерических болезней ИПО на клинической базе отделения дерматоонкологии и дерматовенерологии МОНИКИ им М.Ф.Владимирского в период с 2014 по 2017 гг. В группу исследования включены 75 пациентов с клиническим диагнозом базальноклеточная карцинома, у 38 из них была диагностирована первичная базальноклеточная карцинома, у 37 рецидивирующая форма БКК. Возраст пациентов составлял $57,5 \pm 25,5$ лет, из них 68 % женщин и 32% мужчин (рис 1).

Материалы и методы



Рис 1. Материалы и методы

Из сопутствующей патологии у 19 пациентов отмечался хронический гастрит вне обострения, 9-хронический тонзиллит, 24 - ишемическая болезнь сердца, 6 - хронический бронхит, 12- вегетососудистая дистония, 4-мигрень, 1 – пролапс митрального клапана. 2 – язвенная болезнь желудка вне обострения.

Клинико-диагностическое фенотипирование пациентов.

В результате клинико-диагностического фенотипирования 75 пациентов, нами установлено, что поверхностная форма в структуре базальноклеточной

карциномы отмечена у 21 пациента, что составляет **29%**, нодулярная форма, включающая макро и- микро разновидности - у 54 пациентов, что составляет **71%**. (Таблица 1) У 37 пациентов диагностированы *рецидивирующие* формы БКК и у 38 *первичные* поверхностные и нодулярные опухоли БКК. Таким образом клинические варианты БКК с рецидивирующим характером течения составили **49,3%** в общей структуре патологии.

Таблица 1 . Распределение очагов БКК по клиническим формам.

Основные клинические формы БКК	Количество пациентов	
	Абс. (п-75 чел)	% (п-100%)
Нодулярная форма :	54	71%
- нодулярно-язвенная форма	32	
-инфильтративная форма	12	
- кистозная форма	6	
- пигментная форма	4	
Поверхностная форма	21	29 %
- язвенная форма	15	
-пигментная форма	2	
-саморубцующаяся форма	1	
-гигантская форма	3	

Все пациенты, были подразделены на группы в зависимости от характеристик опухоли по системе **TNM** (где Т - размер, N – наличие увеличенных лимфатических узлов, М – наличие метастазов). Кроме того во всех случаях мы оценивали **степень изъязвления опухоли**. Это параметр, введенный нами для характеристики опухоли, который мы считаем существенным. При этом I степень изъязвления соответствует язвенному дефекту размером до 1 мм и глубиной 1—2 мм, II степень характеризуется язвенным дефектом размером от I до 2 мм и глубиной 2—3 мм, III степень — язвенным дефектом более 2 мм и глубиной 3 мм и более.

Опухоли с характеристикой $T_1 N_0 M_0$ (до 2 см) с I, II - ой степенью изъязвления диагностированы у 35 пациентов, из которых было 17 первичных опухолей и 18 рецидивных форм БКК. Опухоли с характеристикой $T_2 N_0 M_0$ (более 2 см) с II и III - ей степенью изъязвления диагностированы у 40 пациентов, из которых было 21 первичная опухоль и 19 рецидивных форм БКК, при этом III степень изъязвления была наибольшей только у 19 пациентов из группы рецидивных форм БКК. (рисунок 2)

Характеристика очагов базальноклеточной карциномы по системе TNM (n -75)



Опухоли $T_1 N_0 M_0$ (до 2 см) с I, II - ой степенью изъязвления наблюдались в **35** случаях из них 17 первичных опухолей (**49%**) и 18 рецидивных форм БКК (**51%**)

Опухоли $T_2 N_0 M_0$ (более 2 см) с II и III - ей степенью изъязвления наблюдались в **40** случаях, из них 21 первичные опухоли (**52%**) и 19 рецидивных форм БКК (**48%**)

Рисунок 2. Характеристика очагов базальноклеточной карциномы по системе TNM (n-75)

При анализе особенностей локализации БКК у 75 пациентов, выявлено, что в 81,9% случаев очаги поражения локализовались на открытых участках кожного покрова, преимущественно на коже лица, шее, зоне декольте и представлены различными вариантами поверхностной, нодулярной, инфильтративной формами опухоли.

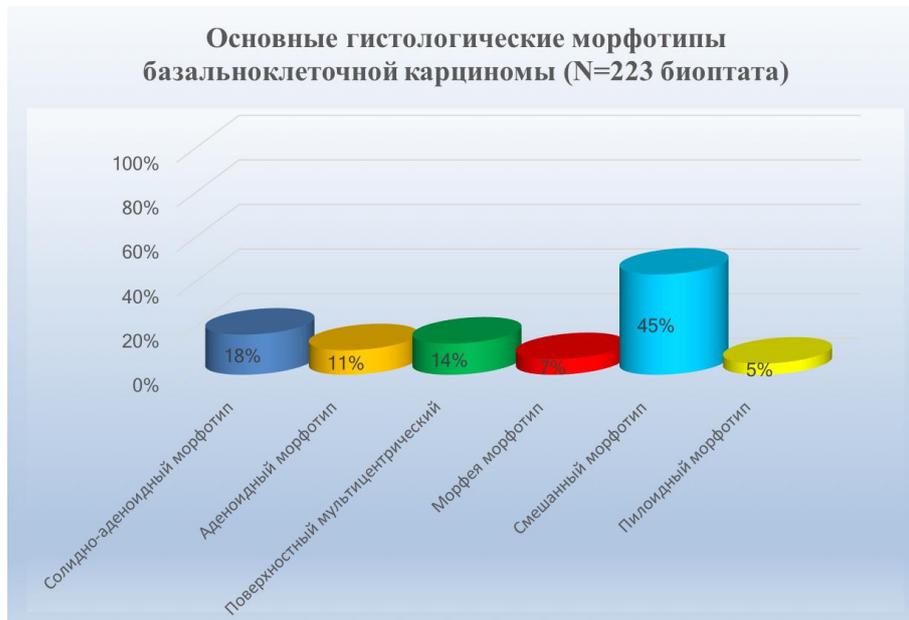
В 18,1% случаев опухоли локализовались на закрытых участках кожного покрова и были представлены в основном поверхностными и нодулярными вариантами БКК. Мы наблюдали первично-множественные очаги у 13,5% больных как нодулярной, так и поверхностной формами БКК. Локализация БКК в области

головой отмечалась в 67,5% случаев, в 14,6% случаев располагались на коже туловища, в 1,3% – на верхних конечностях, в 1,2% – на нижних конечностях. Локализация БКК на коже носа была наиболее частой и составила 23,9%, на щеках – 13,7%, в носогубном треугольнике – 4,5 %, на ушных раковинах – 1,9%, в околоушных областях – 3,3%, на волосистой части головы – 3,2 %, в области угла глаза – 3,8%, в периорбитальной области – 4,5%, на висках – 1,7 %, на коже лба – 7%. Прочая локализация отмечена всего в 1% случаев, как редкие локализации, нами отмечены области аксиллярных складок, подошвы, ладони, ягодицы, анус. Преимущественная локализация первичных и рецидивных БКК полностью совпадает, это обычно кожа головы, носа, щёк, несколько реже периорбитальная зона, виски, лоб и область носогубного треугольника, околоушной зоны, подбородка. Рецидивирующее течение местно-деструктивных вариантов БКК является одним из факторов, способствующих усилению степени агрессивности опухоли даже небольших размеров и формированию метатипического рака кожи, особенно при давности онкологического анамнеза более 5 лет.

Особенности и частота встречаемости морфотипов БКК

Была изучена на основании анализа 223 биоптатов БКК взятых у 75 пациентов. При анализе ультраструктурных особенностей 38 *первичных очагов* базальноклеточной карциномы мы выявили, что по морфотипу 17 первичных опухолей БКК были солидного типа, 11 — солидно-аденоидного, 5 – мультицентрического, 4 — аденоидно-кистозного и в 1 случае отмечен солидно-морфеоподобный тип. При анализе ультраструктурных особенностей 37 *рецидивных очагов* БКК, мы выявили морфотип морфеа в 9 случаях, аденоидный морфотип в 6 случаях, солидно-морфеоподобный в 10 случаях. БКК смешанного морфотипа отличается наличием выраженного инфильтративного роста и стромообразования, свидетельствующие об агрессивном биологическом поведении этих морфотипов опухолей. Таким образом при анализе всех 223 ультраструктур БКК в 45% случаев БКК, нами была установлена структура смешанного морфотипа опухоли, в 14% -мультицентрический поверхностный морфотип, в 7% - морфотип морфеа, в 11% - аденоидный. (Рисунок 3)

Рисунок 3. Морфотипы БКК



Неинвазивные методы диагностики

При *дерматоскопическом исследовании* (ДС) во всех случаях (n=21) нами выявлены типичные диагностические признаки БКК: древовидные сосуды, темные силуэты, светлые опухолевые островки, очаги диффузной пигментации коричневого цвета, структуры по типу “отпечатка пальца”, «изъеденный молью» край, гомогенная пигментация с мономорфными непигментированными «просветлениями». При *конфокальной лазерной сканирующей микроскопии* (КЛСМ) в тех же случаях (n =21) нами установлены диагностические критерии БКК: наличие базалоидных островков в виде “темных силуэтов”, представленных гнездами базалоидных клеток без пигмента и окруженных пучками коллагеновых волокон, или светлых островков опухоли из базалоидных, содержащих меланин клеток, окруженных темными участками, расположение клеток параллельно одной оси, наличие дендритических клеток в окружающем эпидермисе, наличие округлых светлых клеток, воспалительного инфильтрата, увеличенный диаметр просвета сосудов, наличие ветвящихся сосудов. При сопоставлении совокупных результатов данных неинвазивных методов исследования нами показано, что наличие признаков крапчатой пигментации и полициклических контуров

сосочков составляющих более <10%, выявленные методом КЛСМ соответствуют основным дерматоскопическим признакам БКК: древовидным сосудам и темным силуэтам, отмеченным в **8 (38.1%)** случаев; очагам диффузной пигментации коричневого цвета отмеченным в **5 (23.8%)**; структурам по типу «отпечатка пальца» в **2 (9.5%)**. Таким образом, диагностическая ценность неинвазивных методов исследования дерматоскопии и КЛСМ не только сопоставима, но высоко специфична. Выявленные признаки являются ранними маркерами наличия базальноклеточных структур, которые могут быть использованы, как с целью неинвазивной диагностики БКК и эффективности проводимой терапии, так и служить критериями излеченности и отсутствием признаков рецидива. (Таблица 2)

Таблица 2

Сопоставление данных дерматоскопического исследования (ДС) и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (КЛСМ)

Дерматоскопическая картина	Количество (n=21)	КЛСМ			
		Крапчатая пигментация		Полициклические контуры сосочков	
		<10%	>10%	<10%	>10%
Древовидные сосуды темные силуэты	8 (38.1%)	5		2	2
Очаги диффузной пигментации коричневого цвета	5 (23.8%)	4	1		2
Структуры по типу «отпечатка пальца»	2 (9.5%)				2
«Изъеденный молью» край, гомогенная пигментация с мономорфными непигментированными «просветлениями»	6 (28.6%)	2	5		7

Иммунологические исследования

Интерпретация результатов исследования показателей интерферонового статуса - оценка степени дефицита альфа- и гамма-интерферон продуцирующей способности лейкоцитов пациентов проводилась нами на основании полученных результатов первичного исследования уровня продукции интерферонов. (Таблица 3, Рисунок 6).

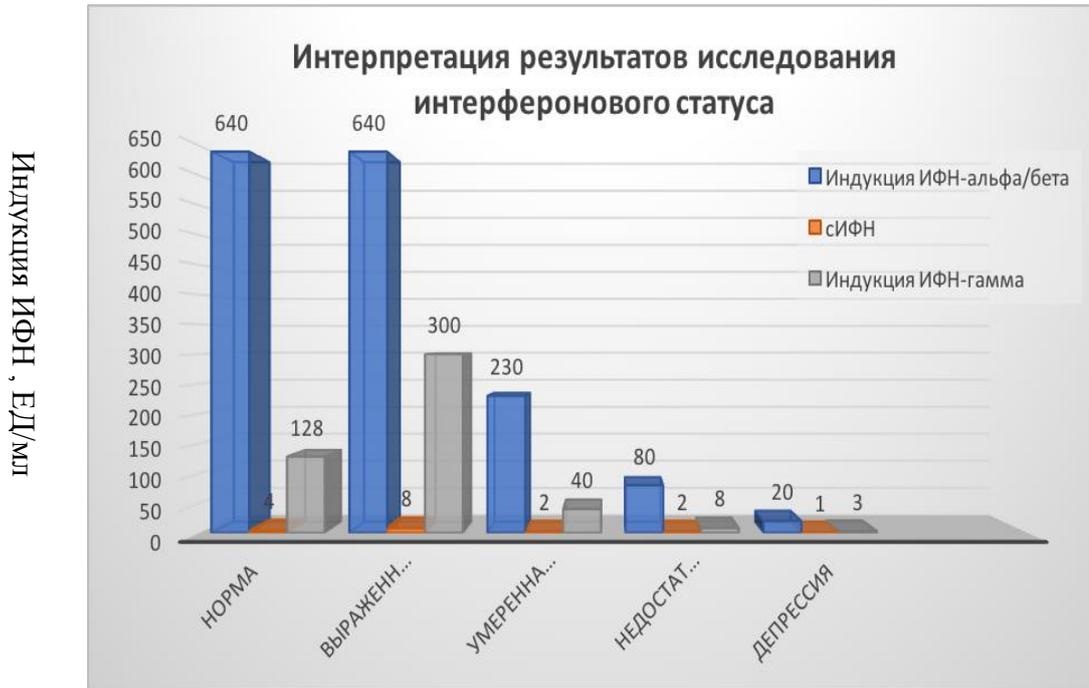
Таблица 3. Показатели исследования индукции интерферонов ИФН- $\alpha/\beta,-\gamma$ у больных с различными вариантами течения базальноклеточной карциномы кожи *in vitro*, полученных до и на этапах лечения.

Рисунок Интерпретация результатов исследования интерферонов статуса

<p>INF альфа/бета</p> <ul style="list-style-type: none"> • до лечения • после 1 курса лечения • после 2 курса лечения • после 3 курса лечения • после 4 курса лечения • после 5 курса лечения 	<p>N – 875,2 ± 12,3</p>	<p>41,3 ± 23,7 ↓*</p> <p>79,6 ± 16,7*</p> <p>197,4 ± 81,3*</p> <ul style="list-style-type: none"> • 850,6 ± 14,7* 	<p>16,3 ± 4,2 ↓*</p> <p>32,8 ± 15,6*</p> <p>107,7 ± 34,6*</p> <ul style="list-style-type: none"> • 357,8 ± 43,5* • 590,7 ± 35,4* • 799,6 ± 11,5*
<p>INF общий сывороточный</p> <ul style="list-style-type: none"> • до лечения • после 1 курса лечения • после 2 курса лечения • после 3 курса лечения • после 4 курса лечения • после 5 курса лечения 	<p>N – 5,2 ± 2,1</p>	<p>2,4 ± 1,2 ↓*</p> <p>4,1 ± 1,0*</p> <p>4,7 ± 2,2*</p> <ul style="list-style-type: none"> • 5,1 ± 1,8* 	<p>1,9 ± 2,3 ↓*</p> <p>3,6 ± 0,3*</p> <p>3,9 ± 1,2*</p> <ul style="list-style-type: none"> • 4,9 ± 1,3* • 5,0 ± 0,2* • 5,2 ± 1,0*
<p>INF гамма</p> <ul style="list-style-type: none"> • до лечения • после 1 курса лечения • после 2 курса лечения • после 3 курса лечения • после 4 курса лечения • после 5 курса лечения 	<p>N- 234,7 ± 14,5</p>	<p>16,3 ± 3,5 ↓*</p> <p>29,8 ± 2,6*</p> <p>41,8 ± 10,7*</p> <ul style="list-style-type: none"> • 118,9 ± 21,1* 	<p>2,3 ± 1,1 ↓*</p> <p>7,1 ± 1,4*</p> <p>17,8 ± 4,8*</p> <ul style="list-style-type: none"> • 69,9 ± 18,9* • 105,6 ± 13,7* • 178,9 ± 23,3*

Примечание : *достоверность различий $P < 0,005$

Рисунок 6 . Интерпретация результатов исследования интерферонового статуса



Таким образом, при анализе исходных показателей интерферонов до лечения установлено, что содержание сывороточных интерферонов у больных во всех группах было критически снижено:

Уровень IFN-альфа/бета в сыворотке ЕД /мл до лечения составил $41,3 \pm 23,7 \downarrow$ в группе *первичных* опухолей, и $16,3 \pm 4,2 \downarrow$ в группе *рецидивных* опухолей при норме 640-1280 ЕД/мл.

Уровень IFN- гамма в сыворотке ЕД /мл до лечения составил $16,3 \pm 3,5 \downarrow$ в группе *первичных опухолей* и $2,9 \pm 1,1 \downarrow$ в группе *рецидивных* опухолей при норме (128-256 ЕД/мл).

Обнаружен феномен совокупного дефицита 2^x интерферонов (- α , - γ), имеющих важное значение в механизмах канцерогенеза и противоопухолевого иммунитета.

Таким образом, нами выявлена недостаточная и депрессивная реакция продукции интерферонов, соответствующая дефициту 3 и 4 степени тяжести. Такое состояние иммунной системы указывает на предельный дефицит функциональной активности иммунитета и на

неблагоприятное течение болезни, при котором показана длительная иммунокомпенсаторная иммунокоррекция.

Метод лечения

В соответствии с полученными результатами исследования, мы разработали протокол курсового метода лечения БКК, который включает интратуморальные инъекции и системное введение в формате *per rectum*, препаратов рекомбинантного человеческого интерферона альфа 2_b (рч ИФН-α_{2b}), кратность проведения которого зависит от степени реактивности системы интерферона пациента. Для процедуры интратуморальных инъекций, мы использовали препарат *Интрон А* в формате шприц-ручка с дозатором и тонкой иглой 5 мм. Препарат вводится в опухолевый очаг на глубину не менее 3мм, но не более 5 мм в однократной дозе 2,5 000 000 МЕ, ежедневно до набора общей курсовой дозы 20 – 25 000 000 МЕ. Протокол инъекций предусматривает равномерное распределение и кумуляцию препарата в ткани опухоли, для чего препарат вводится последовательно в разные точки опухоли строго по часовой стрелке. Через несколько часов (не менее 6 ч) после процедуры интратуморальной инъекции, на всю поверхность опухолевого очага равномерно наносится препарат имиквимод (*Вартоцид*) 5% в виде крема, разовая (суточная) доза препарата 10 мг крема на 1 см² поверхности кожи (полоса крема диаметром 2 мм и длиной 0,5 см) в течение 3-6 недель. После завершения курса интратуморальных инъекций, назначался курс *Виферона* в виде свечей (*per rectum*), в дозе 1 млн один раз в сутки (курс 15 дней, курсовая доза 15 000 000 МЕ). Противопоказаний и выраженных осложнений не зафиксировано. Противоопухолевый эффект ИФН-терапии продолжается в течение 8 недель, по окончании которого проводится контрольный осмотр больного и исследование показателей интерферонового статуса. В случае неполного регресса опухоли и неудовлетворительных показателей ИФН статуса, курс лечения повторяется.

Обсуждение и результаты

Комплексную цитокинотерапию в соответствии с разработанным нами протоколом получили 75 пациентов с результатом клинического и цитологического выздоровления. Пациентам с установленным дефицитом 3 степени тяжести, с первичными опухолями и размером не более 2 см ($T_1 N_0 M_0$) с II и III - ей степенью изъязвления (41 чел), потребовалось от 2 до 3 курсов лечения, для полного клинического ответа Пациентам с установленным дефицитом 3 степени тяжести с рецидивными формами БКК с характеристикой опухоли $T_2 N_0 M_0$ (более 2 см) с II степенью изъязвления (17 человек), проведено три курса цитокинотерапии для полного клинического ответа. Средний показатель ИФН- γ у этой группы пациентов до лечения составлял $16,3 \pm 3,5 \downarrow$ ЕД/мл, после 3 курсов лечения $168,9 \pm 21,1$ ЕД/мл. Таким образом, полный клинический ответ после 3 курсов лечения получен в 77,2% случаев (у 58 пациентов). Пациентам с установленным дефицитом 4 степени тяжести, который выявлен только у пациентов с рецидивирующими формами БКК и с характеристикой $T_2 N_0 M_0$ (от 2 до 5 см) с III степенью изъязвления и структурой агрессивного морфотипа, потребовалось 5 курсов лечения, что обусловлено депрессивным (анергичным) состоянием иммунной системы и предельным дефицитом функциональной активности иммунитета, и указывает на высокие риски развития рецидива БКК. Так, средний показатель ИФН- γ в этой группе до лечения составлял $2,3 \pm 1,1 \downarrow$ ЕД/мл, после 3 курсов лечения достигал только $69,9 \pm 18,9$ ЕД/мл и только после 5 курса цитокинотерапии показатель демонстрировал устойчивую тенденцию к нормализации составляя $178,9 \pm 23,3$. ЕД/мл. Таким образом, полный клинический ответ после 5 курсов лечения получен в 22,8 % случаев (17 пациентов) с рецидивирующими формами БКК и с характеристикой $T_2 N_0 M_0$ (от 2 до 5 см) с III степенью изъязвления и структурой агрессивного морфотипа. Таким образом, мы разработали эффективный антирецидивный патогенетический метод лечения первичных и рецидивных форм базальноклеточных карцином у пациентов, на основании индивидуальных

показателей интерферонового статуса пациента (ИФН- α , $-\beta$, $-\gamma$) и уровня степени дефицита индукции интерферонов, как прогностических факторов долгосрочных результатов лечения, а также установили взаимосвязь рисков рецидива БКК от уровня интерферонового статуса. Наблюдение за больными в сроки от 1 до 2 -х лет не выявило рецидива заболевания, в связи с чем мы считаем, что препараты рекомбинантного человеческого интерферона $\alpha 2$ в виде предложенного нами протокола курсовой интратуморальной терапии являются патогенетически обоснованными и могут быть успешно использованы в моно – или комплексной терапии БКК.

Выводы:

1. В результате клинико-диагностического фенотипирования 75 пациентов, нами установлено, что поверхностная форма в структуре базальноклеточной карциномы составила 29%, нодулярная форма - 71%, рецидивирующие клинические варианты – 49,3% в общей структуре исследуемой патологии. Опухоли размером T1 N0M0 наблюдались в 35 случаях, из них первичные 49%, а рецидивные формы составили 51%. Опухоли размером T2 N0M0 наблюдались в 40 случаях, из них первичные опухоли составляли 52%, а рецидивные формы БКК составляли 48% случаев.

2. Установлен дефицит содержания сывороточных интерферонов у всех пациентов до лечения. Обнаружен феномен совокупного дефицита 2х интерферонов (- α , - γ), имеющий важное прогностическое значение в механизмах канцерогенеза. Недостаточная реакция продукции интерферонов (дефицит 3 степени тяжести), выявлена у 58 больных. Депрессивная (анергичная) реакция продукции интерферонов, (дефицит 4 степени тяжести) отмечена у 17 пациентов с рецидивирующими формами БКК, имеющих агрессивный морфотип, что указывает на предельный дефицит функциональной активности иммунитета и на высокие риски рецидивирования опухоли.

3. Анализ ультраструктуры 223 биоптатов кожи с БКК продемонстрировал усиление агрессивных свойств опухолей. В 45% случаев они имели агрессивный смешанный морфотип, мультицентрический поверхностный морфотип составлял

14 %, морфотип морфеа – 7%, аденоидный тип – 11%, варианты с пилоидной и сальной дифференцировкой встречались в 5%, в 120 0,3% случаев выявлена структура базосквамозной карциномы (метатипического рака).

4. Разработан патогенетический метод лечения местнораспространяющейся базальноклеточной карциномы на основании индивидуального уровня нарушений регуляции синтеза интерферонов. Полный клинический ответ после 3 курсов лечения получен в 77, 2 % случаев и после 5 курсов в 22,8 % случаев на фоне нормализации показателей интерферонового статуса.

Практические рекомендации

Метод лечения рецидивных и местнодеструктивных агрессивных форм базальноклеточной карциномы с применением курсовой компенсаторной цитокинотерапии препаратами рекомбинантного человеческого интерферона альфа 2_b (рч ИФН- α_{2b}) является высоко эффективным и может использоваться в амбулаторной практике. Метод может быть использован при любой локализации и размерах опухоли, не имеет противопоказаний, не травматичен и легко переносится больными. Кроме традиционной клинической оценки опухоли и ее морфотипа, исследования показателей интерферонового статуса пациента, позволяют достаточно уверенно прогнозировать направление развития патологического процесса, его исход, возможность развития рецидива и возможные объемы и результаты лечения.

Список публикаций аспиранта, в которых отражены основные научные результаты диссертации:

1. Абдулла Ибрагим Поверхностная форма базально-клеточной карциномы кожи: биологическое поведение, морфологические и клинические варианты / Е.С. Снарская, Абдулла Ибрагим // **Российский журнал кожных и венерических болезней.** – 2017. – № 6 (20). – С. 332–341.
2. Абдулла Ибрагим Ультраструктурные особенности основ клинических вариантов базально-клеточной карциномы, как фактор, определяющий биологическое поведение опухоли / Е.С. Снарская, Абдулла Ибрагим // **Российский журнал кожных и венерических болезней.** – 2018. – № 1 (21). – С. 10–15.
3. Абдулла Ибрагим Противорецидивная цитокилотерапия базально-клеточной карциномы у пожилых / Е.С. Снарская, Абдулла Ибрагим // **Врач.** – 2018. – № 6 (29). – С. 7–12.

Список сокращений

БКК- базальноклеточная карцинома

ИФН- интерферон

сИФН – спонтанный интерферон

ИФН- γ - интерферон гамма

ИФН- α - интерферон альфа

ИФН- β - интерферон бета

рч ИФН- α_{2b} - рекомбинантный человеческий интерферон альфа 2_b

КЛСМ - конфокальная лазерная сканирующая микроскопия

ДС - дерматоскопическое исследование