

УДК 616.31-006.6-02:616.98:612.017.1(470.61)

ТЕЧЕНИЕ РАКА ОРГАНОВ ПОЛОСТИ РТА С УЧЕТОМ АССОЦИИРОВАННОСТИ С ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА-БАРР, ПАПИЛЛОМЫ ЧЕЛОВЕКА И УРОВНЯ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ

Светицкий П.В., Златник Е.Ю., Зыкова Т.А., Нистратов Г.П., Аединова И.В.,
Волкова В.Л., Баужадзе М.В., Богомолова О.А., Загора Г.И.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России,
Ростов-на-Дону, e-mail: svetitskiy.p @ gmail.com

Проведенные исследования больных раком органов полости рта с регионарными метастазами и без них, показали 2–3 кратное преобладание IL-1, IL-6, IL-8, в ткани опухоли по сравнению с перитуморальной зоной ($p < 0,05$), которое может быть связано как с продукцией их опухолевыми клетками, так и наличием в ткани опухоли вирусов Эпштейна-Барр и папилломы человека. Достоверных различий между локальными уровнями цитокинов (IL-2, IL-8, IL-6, IL-10, IL-1 β , IL1RA, IFN- α , IFN- γ , TNF- α) в группах больных с метастазами и без метастазов не было выявлено, это можно объяснить наличием неспецифической реакции на вирусы. У больных раком органов полости рта без метастазов было отмечено преобладание в тканях опухоли вируса папилломы человека (73,3%) по сравнению с больными, имеющими регионарные метастазы, где преобладал вирус Эпштейна-Барр (70%). Полученные лабораторные и клинические данные, позволили сделать вывод о благоприятном течении и прогнозе заболевания у ВПЧ-позитивных больных, по сравнению с ВЭБ-позитивными больными.

Ключевые слова: рак органов полости рта, регионарные метастазы, вирус папилломы человека, вирус Эпштейна-Барр, цитокины

FOR CANCER OF THE MOUTH WITH REGARD ASSOCIATION WITH THE EPSTEIN-BARR VIRUS, HUMAN PAPILLOMAVIRUS AND THE LEVELS OF CERTAIN CYTOKINES

Svetitskiy P.V., Zlatnik E.Y., Zyкова T.A., Nistratov G.P., Aedinova I.V.,
Volkova V.L., Bauzhadze M.V., Bogomolova O.A., Zakora G.I.

Rostov Research Oncologic Institute of Ministry of Health the Russian Federation,
Rostov-on-Don, e-mail: svetitskiy.p @ gmail.com

Studies of patients with cancer of the oral cavity with regional metastases and without them showed a 2–3 fold predominance of IL-1, IL-6, IL-8, in the tumor tissue compared to peritumoral area ($p < 0,05$) which can be connected with their production by tumor cells and the presence in the tumor tissue virus, Epstein-Barr virus and human papillomavirus. No significant differences between the local levels of the cytokine (IL-2, IL-8, IL-6, IL-10, IL-1 β , IL1RA, IFN- α , IFN- γ , TNF- α) in groups of patients with metastases, and without metastases was not detected, this can be attributed to nonspecific reactions viruses. In patients with cancer of the oral cavity without metastases was observed in the prevalence of tumor tissues of human papillomavirus (73.3%) compared with patients who have regional metastases, which dominated the Epstein-Barr virus (70%). Received laboratory and clinical data led to the conclusion of a favorable disease course and prognosis in HPV-positive patients in comparison with EBV-positive patients.

Keywords: cancer of the oral cavity, regional metastases, human papilloma virus, Epstein-Barr virus, cytokines

В Российской Федерации в структуре заболеваемости опухолей головы и шеи рак органов полости рта и глотки занимает второе место после рака гортани [7]. Среднегодовой темп прироста данной патологии составляет 1,51% [4]. При первичном обращении до 70–80% больных уже имеют распространенный рак полости рта и языка и метастазы в регионарные лимфатические узлы шеи [5]. Пятилетняя выживаемость, с учетом всех стадий, за последние десять лет не превышает 50%. При этом, после лечения у 30–55% развивается местный рецидив [9], а у 30–52% появляются регионарные метастазы [1].

В Ростовской области (РО) в 2010 г. заболеваемость (на 100000 нас.) составила 7,9, что выдвинуло область на 4 место по данной патологии среди 84 регионов России [6].

Наибольшие сложности в плане диагностики и лечения представляют большие раком органов полости рта (РОПР). Остается проблематичным выяснение причин его возникновения, раннего выявления, изучения закономерностей течения заболевания, прогнозирования продолженного роста, рецидивирования и метастазирования.

В настоящее время, помимо общепризнанных факторов риска возникновения РОПР (алкоголь, курение и т.д.), большое внимание стало уделяться вирус-ассоциированному онкогенезу [10]. Установлено, что такие злокачественные новообразования как назофарингеальная карцинома, лейомиосаркома, лимфома Беркитта, назальная Т/НК-клеточная лимфома и др., могут быть ассоциированы с вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ) [8]. Имеются сообщения, посвя-

ценные роли вируса папилломы человека (ВПЧ) в развитии и течении РОПР [3].

Интерес представляет оценка локального уровня некоторых цитокинов, поскольку воспалительный процесс вызывает их гиперпродукцию иммунокомпетентными клетками, и некоторые из них могут быть факторами роста и распространения опухоли [2].

Цель исследования. Определить в тканях опухоли локальный уровень цитокинов (IL-2, IL-8, IL-6, IL-10, IL-1β, IL1RA, IFN-α, IFN-γ, TNF-α), наличие вирусов Эпштейна – Барр и папилломы человека у больных раком органов полости рта, оценить особенности течения РОПР при наличии ВЭБ и ВПЧ.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования были 60 больных РОПР, которые были разделены на 2 группы по 30 человек, первая группа с наличием регионарных метастазов, вторая – без метастазов, проходивших лечение в отделении опухолей головы и шеи ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ в 2012–2013 гг.

Мужчин было 48, женщин – 12. Возраст больных составлял 35–69 лет. По распространенности процесса: со II стадией (T2N0M0) было 12 человек, III – 25 (T2N1M0 – 9, T3N0M0 – 18, T3N1M0 – 8), IV – 23 (T3N2M0 – 5, T4N0M0 – 10, T4N1M0 – 8).

У 50 (83,3%) больных опухолевым процессом был поражен язык, у 10 (16,7%) – слизистая дна полости рта. На языке опухоль располагалась чаще на боковой поверхности (53,3%).

У всех больных был плоскоклеточный рак. Высокая степень дифференцировки (G1) имела место у 22 больных, средняя степень (G2) – 30 и низкая степень (G3) – 8.

Материалом для исследования служили фиксированные в формалине и парафине (FFPE ткани) и интраоперационно взятые образцы ткани опухоли и перитуморальной зоны.

Методом ELISA определяли локальные уровни интерлейкинов (IL-2, IL-8, IL-6, IL-10, IL-1β, IL1RA, IFN-α, IFN-γ, TNF-α) в гомогенатах фрагментов ткани опухоли и пограничной с опухолью, макроскопически неизменной ткани, взятые интраоперационно. Рассчитывали удельное содержание цитокинов (пг/мл на 1 г белка).

Из FFPE ткани экстракцию вирусной ДНК проводили в ручном режиме методом сорбции на колонках с использованием набора реагентов «QIAamp DNA FFPE Tissue Kit» (QIAGEN, Германия).

Из гомогената ткани опухоли, взятой интраоперационно, ДНК вируса выделяли методом сорбции на магнитных частицах в автоматическом режиме на приборе MagNa Pure Compact с использованием набора реагентов MagNa Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit I-Large Volume на приборе MagNa Pure Compact (Roche, Швейцария). Амплификацию с последующей детекцией ДНК осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени на термоциклере RotorGene 6000 (QIAGEN, Германия).

Выявление ДНК вируса ВЭБ, цитомегаловируса (ЦМВ), вируса герпеса человека 6 типа (ВГЧ) и ви-

руса папилломы человека (ВПЧ) проводили методом мультиплексной ПЦР с гибридно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени» на термоциклере Rotor Gene 6000 (QIAGEN, Германия).

Для определения ДНК, генотипа (ВПЧ) и концентрации вируса в образцах использовали наборы реагентов производства ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора.

Результаты исследования и их обсуждение

При изучении локальных уровней цитокинов (IL-2, IL-8, IL-6, IL-10, IL-1β, IL1RA, IFN-α, IFN-γ, TNF-α) были обнаружены достоверные различия по содержанию ряда провоспалительных цитокинов в ткани опухоли и перитуморальной зоне. Так, в ткани опухоли отмечено 2–3-х кратное преобладание IL-1 ($14,4 \pm 3,5$ и $4,7 \pm 0,74$), IL-6 ($5,7 \pm 1,4$ и $1,1 \pm 0,3$), IL-8 ($16,2 \pm 3,6$ и $5,5 \pm 2,1$ пг/г белка), $p < 0,05$, по сравнению с перитуморальной зоной. Содержание TNF-α, IL-2, IL-10, IFN-α, IFN-γ в опухоли и прилежащей ткани не различалось. Достоверных различий между группами больных с метастазами и без метастазов не выявлено.

Превалирование в опухолевой ткани провоспалительных цитокинов может быть связано как с продукцией их опухолевыми клетками, так и иммунокомпетентными клетками, активированными антигенами.

Данные молекулярно-биологических исследований показали, что из 60 больных в тканях опухоли у 25 (41,7%) встречался ВЭБ, у 23 (38,3%) – ВПЧ, в то время, как в перитуморальной зоне содержание данных вирусов было в 2 и более раз меньше, либо они не были выявлены. У 12 больных (20%) исследуемые вирусы отсутствовали в ткани опухоли и перитуморальной зоне.

В группе с метастазами у 14 больных из 30 был обнаружен ВЭБ, а у 2 – ВГЧ 6 типа, у 7 вирусы отсутствовали. В 7 случаях была выявлена микст инфекция: у одного больного ВПЧ, ВЭБ и ВГЧ 6 типа; у 3 – ВЭБ, ВГЧ 6 типа; у 2 – ВЭБ, ЦМВ; у одного – ВЭБ, ЦМВ и ВГЧ 6 типа (рис. 1).

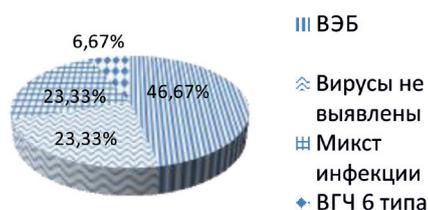


Рис. 1. Группа больных с метастазами

В группе без метастазов у 22 был выявлен ВПЧ. Сочетание вирусов встречалось у 4 больных: ВЭБ и ВПГ 1,2 типа. В 4 случаях вирусы отсутствовали (рис. 2).

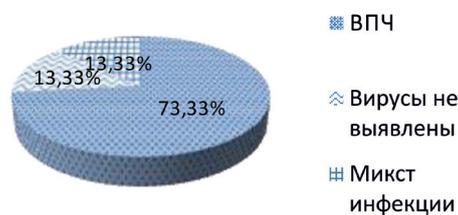


Рис. 2. Группа больных без метастазов

При анализе клинических данных в сопоставлении с полученными лабораторными было установлено, что у больных с регионарными метастазами ВЭБ встречался в 20 случаях (66,7%), в то время как ВПЧ – в одном (3,3%). У больных без метастазов ВЭБ был выявлен в 4 случаях (13,3%) в сочетании с ВПГ 1,2 типа, в то время как ВПЧ – у 22 (73,3%). Таким образом, у ВПЧ – положительных больных, раком органов полости рта, метастазы встречались реже по сравнению с ВЭБ – положительными ($p < 0,05$).

Заключение

1. Отмечено преобладание IL-1, IL-6, IL-8, в ткани опухоли по сравнению с перитуморальной зоной ($p < 0,05$), которое можно объяснить продукцией их опухолевыми клетками или наличием в ткани опухоли вирусов Эпштейна-Барр и папилломы человека, содержание которых в перитуморальной зоне было в 2 и более раз меньше, либо они не были выявлены; отсутствие достоверных различий между локальными уровнями цитокинов (IL-2, IL-8, IL-6, IL-10, IL-1 β , IL1RA, IFN- α , IFN- γ , TNF- α) в группах больных с метастазами и без метастазов объясняется наличием неспецифиче-

ской реакции на вирусы, присутствовавшие в тканях опухолей обеих групп.

2. Превалирование в группе больных РОПР без метастазов вируса папилломы человека (73,3%) указывает на благоприятное течение и прогноз заболевания ВПЧ-положительных больных, по сравнению с группой больных имеющих метастазы, в которой преобладает вирус Эпштейна-Барр (70%).

Список литературы

1. Айдарбекова А.А., Любаев В.Л., Ткачев С.И., Алиева С.Б., Бржезовский В.Ж. Эффективность химиолучевой терапии при регионарных метастазах у больных раком слизистой оболочки полости рта и ротоглотки // Вестник Российского онкологического научного центра имени Н.Н. Блохина РАМН: Ежеквартальный научно-практический журнал. – 2006. – Т.17, № 1. – С. 7–10.
2. Бережная Н.М., Чехун В.М. Иммунология злокачественного роста / Киев: Наукова Думка, 2005. – 791 с.
3. Гутковская Е.А., Смолякова Р.М., Жуковец А.Г., Францкевич Т.В. Папилломовирусы человека и вирус Эпштейна-Барр при раке полости рта, ротоглотки и гортани: генетическая характеристика и частота выявления // Онкологический журнал. – 2012. – Т.6, №1 (21). – С. 71–74.
4. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2012 году (заболеваемость и смертность) / Москва: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздравсоцразвития России, 2014. – С. 11–53.
5. Матякин Е.Г., Неробеев А.Н. Пластика передних отделов дна полости рта и языка кожно-мышечными лоскутами использованием грудино-ключично-сосцевидной и трапециевидной мышцы // Современные принципы восстановительной хирургии лица и шеи. М., 1997. – С. 103–107.
6. Светицкий П.В. К вопросу о раке полости рта // Журн. «Опухоли головы и шеи». Изд. ООО «ИД «АБВ – пресс». – 2012. – № 4. – С. 59–62.
7. Чиссов В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2008 году (заболеваемость и смертность) / Москва: ФГУ «МНИОИ им. П.А. Герцена Росмедтехнологий», 2010. – С. 54–59.
8. Arvin A., Campadelli-Fiume G., Mocarski E., et al. Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis / – Cambridge: Cambridge University Press, 2007. – P. 987–1001.
9. Kruaysawat W., Aekplakorn W., Chapman R.S. Survival time and prognostic factors of oral cancer in Ubon Ratchathani Cancer Center // Journal of the Medical Association Thailand. – 2010. – Vol. 93. – № 3. – P. 278–284.
10. zurHausen H. Viruses in human cancer // European Journal of Cancer. – 1999. – Vol. 35. – P. 1878–1885.