

УДК 616-006.6-091

### МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ РЕГИОНАРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ КОМБИНИРОВАНИИ ХИМИОТЕРАПИИ С ИММУНОТЕРАПИЕЙ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ПРИ РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ

*Е.В. Бабаянц, А.П. Кулиджанян, А.Е. Козяков,  
С.Э. Красильников, А.В. Иванова, И.В. Майбородин*

Методом световой микроскопии изучали структурную организацию общих подвздошных лимфатических узлов больных при раке шейки матки без метастазов после включения в схему химиотерапии иммуномодулятора. Химиотерапия при раке шейки матки приводит к склеротической трансформации коркового и мозгового вещества подвздошных лимфатических узлов. Динамика их клеточного состава отражает гибель активных иммунокомпетентных клеток под действием цитостатиков, а также инактивацию и элиминацию тканевого детрита при некрозе и распаде опухоли в регионе лимфосбора и развитие склеротических процессов после химиотерапии. Иммунотерапия способствует восстановлению митотической активности клеток после химиотерапии, но не влияет на процессы их гибели от действия цитостатиков и выраженность склероза.

*Ключевые слова:* рак шейки матки; лимфатические узлы; химиотерапия; иммунотерапия.

### ЖАТЫНДЫН МОЮНЧАСЫНЫН РАГЫН ИММУНДУК ТЕРАПИЯ МЕНЕН ХИМИЯ ТЕРАПИЯНЫ АЙКАЛЫШТЫРЫП ДАРЫЛООДО АЙМАКТЫК ЛИМФА ТҮЙҮНДӨРҮНҮН МОРФОЛОГИЯЛЫК ӨЗГӨРҮҮЛӨРҮ

Метастазсыз жатын моюнчасынын рагы менен ооруган бейтаптарды дарылоодо химиялык терапия схемасына иммундук модуляторду кошкондон кийин оорулуунун жамбаштагы лимфа түйүндөрүнүн түзүмү жарык микроскопиясы методунун жардамы менен изилденди. Жатын моюнчасынын рагында химиялык терапия жамбаш лимфа түйүндөрүнүн кабык жана мээ заттарын склероздук өзгөрүүгө алып келет. Алардын клеткалык курамынын динамикасы цитостатиктердин таасири менен активдүү иммундук компетенттүү клеткалардын жок болуусун, ошондой эле некрозду жана лимфа чогултуучу аймакта шишиктин таркалып жок болуусунда теринин детритинин активдүүлүгүнүн жоголушун жана элиминациясын, химиялык дарылоодон кийинки склероздук процесстердин өнүгүшүн чагылдырат. Иммундук дарылоо химиялык дарылоодон кийинки клеткалардын активдүүлүгүн калыбына келтирүүгө түрткү берет, бирок цитостатиктердин таасири менен алардын жок болуу процессине жана склерозго таасирин тийгизе албайт.

*Түйүндүү сөздөр:* жатын моюнчасынын рагы; лимфа түйүндөрү; химиялык терапия; иммундук терапия.

### THE MORPHOLOGICAL CHANGES OF REGIONAL LYMPH NODES AFTER COMBINATION OF THE CHEMOTHERAPY WITH THE IMMUNOTHERAPY IN TREATMENT OF CERVICAL CANCER PATIENTS

*E. V. Babayants, A. P. Kulidzhanyan, A. E. Kozjakov, S. E. Krasilnikov, A. V. Ivanova, I. V. Maiborodin*

By the method of a light microscopy it was studied the structural organization of the common iliac lymph nodes (ILN) among patients suffered from cervical cancer (CC) without metastasises after inclusion of immunomodulator in the chemotherapy. The chemotherapy at CC leads to sclerosis transformation of cortical and medullary zones of ILN. Dynamics of their cellular structure reflects as death of the active immunocompetent cells under the influence of cytostatic and also an inactivation and an elimination of a tissue debris at a necrosis and destruction of a tumor in the region of a lymph collection and development of sclerosis processes after a chemotherapy. The immunotherapy promotes restitution of mitotic activity of cells after chemotherapy, but does not reduce their death from effect of cytostatic and expressiveness of a sclerosis.

*Keywords:* cervical cancer; lymph nodes; chemotherapy; immunotherapy.

**Введение.** Изменения лимфатических узлов (ЛУ) при развитии рака стереотипны и проявляются в виде паракортикальной гиперплазии, фолликулярной реакции с появлением герминативных центров и синусного гистиоцитоза. Прогностическое значение паракортикальной гиперплазии ни у кого не вызывает сомнения. Большинство авторов оценивают ее как благоприятный признак, поскольку она отражает пролиферацию основных противоопухолевых элементов – Т-лимфоцитов. Относительно других иммуноморфологических реакций, особенно фолликулярной гиперплазии, единого мнения не существует [1, 2].

В литературе содержатся результаты изучения ЛУ онкологических больных до и после возникновения метастазов. Также имеются литературные данные, посвященные влиянию химиотерапии и отдельных химических соединений, в частности препаратов платины, на структуры разных лимфоидных органов и клетки опухолей. Однако явно недостаточно отражено действие иммуномодуляторов, в том числе и индукторов интерферона, на измененные вследствие химиотерапии ЛУ пациентов при раке шейки матки (РШМ). В связи с вышеизложенным была поставлена **цель исследования** – изучить патоморфологические изменения общих подвздошных ЛУ (ПЛУ) больных при РШМ после химиотерапии в комбинации с иммунотерапией.

**Материал и методика.** Под наблюдением находились 170 больных с диагнозом “РШМ I, II или III стадии”, по классификации “TNM” все пациенты соответствовали T1N0-1M0 или T2N0-1M0. Лечение и все манипуляции с больными проводили с их письменного согласия и протоколировали в соответствии с законодательством Российской Федерации.

В зависимости от метода неоадьювантной химио- и иммунотерапии женщины составляли четыре группы:

1-я группа – 21 больная после радикальной абдоминальной трахелэктомии без неоадьювантной химиотерапии.

2-я группа – 17 пациенток после расширенной экстирпации матки по Вертгейму без неоадьювантной химиотерапии.

3-я группа – 75 пациенток после расширенной экстирпации матки по Вертгейму после неоадьювантной монокимиотерапии препаратами платины.

4-я группа – 57 больных после расширенной экстирпации матки по Вертгейму после неоадьювантной монокимиотерапии препаратами платины и включения в курс лечения иммунотерапии препаратом Панавир® (вагинальные суппозитории).

Общие ПЛУ, удаленные во время радикальной операции у больных вышеуказанных групп

при РШМ, фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, обезживляли в градиенте этанола возрастающей концентрации, просветляли в ксилоле и заключали в парафин. Срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и по Ван Гизону, изучали в световом микроскопе Axio Imager M1 (Zeiss, Германия).

Для исследования структурной организации общих ПЛУ и цитогаммы их клеточных элементов в отдельных зонах проводили измерения изображений, полученных при помощи цифровой видеокамеры микроскопа, на экране компьютера с использованием программного обеспечения морфологического модуля AxioVision (Zeiss, Германия). Статистическую обработку результатов проводили с помощью прикладной статистической программы MS Excel (Microsoft, USA), определяли среднее арифметическое и стандартное отклонение. Различия между средними считали достоверными при  $p \leq 0,05$ .

**Результаты исследования и их обсуждение.** При РШМ без неоадьювантной терапии в **структурной организации** ПЛУ было найдено большое число широких лимфоидных узелков как с центрами размножения, так и без центров, и часто была расширена паракортикальная зона, т. е. имелись характерные для узлов онкологических больных без метастазов явления паракортикальной и фолликулярной гиперплазии [2]. Кроме того, в корковом и мозговом веществе этих органов у больных без предварительной химиотерапии содержались тонкие прослойки соединительной ткани, видимо, обусловленные длительным воспалительным процессом в регионе лимфосбора [3] до возникновения опухоли и при ее инфильтративном росте.

У больных РШМ после экстирпации матки по Вертгейму с транспозицией яичников после неоадьювантной химиотерапии и ее сочетания с иммунотерапией в корковом веществе ПЛУ площадь соединительной ткани на срезе была увеличена в 4,1 и 4,4 раза, соответственно, по сравнению с пациентами после трахелэктомии без неоадьювантной терапии ( $1,47 \pm 0,516$  % площади среза ПЛУ). После экстирпации матки по Вертгейму после химиотерапии и ее комбинирования с иммуномодулятором значения этого показателя были также выше в 3,8 и 4,2 раза, соответственно, относительно пациенток после экстирпации матки без предварительного введения цитостатиков ( $1,56 \pm 0,507$  %).

Площадь соединительно-тканых прослоек в мозговом веществе ПЛУ у больных после экстирпации матки по Вертгейму с транспозицией яичников после неоадьювантной химиотерапии и ее сочетания с иммунотерапией была больше

в 12,4 и 12,9 раза, соответственно, чем у пациенток после трахелэктомии без неоадьювантной терапии ( $0,933 \pm 0,884 \%$ ). При этом после экстирпации матки по Вертгейму после химиотерапии и ее комбинирования с иммуномодулятором значения этого показателя были также выше в 5,9 и 6,1 раза, соответственно, относительно пациенток с экстирпацией матки без предварительного введения цитостатиков ( $1,96 \pm 0,676 \%$ ).

Скорее всего, увеличение объема соединительной ткани в корковом и мозговом веществе ПЛУ больных РШМ после химиотерапии обусловлено гибелью большого числа митотически активных клеток под действием цитостатиков [4] и склерозом таких участков паренхимы.

В группе больных после химиотерапии во многих наблюдениях ПЛУ не были найдены лимфоидные узелки без герминативных центров. В других группах пациентов, в том числе и после сочетания химиотерапии с введением иммуномодулятора, подобные фолликулы присутствовали во всех наблюдениях. Именно в лимфоидных узелках без герминативных центров содержится множество митотически активных клеток, особенно в условиях постоянной стимуляции антигенами из опухоли и сопутствующего воспалительного очага [5]. Цитостатики, ингибируя делящиеся клетки, приводят к исчезновению таких фолликулов.

Иммуномодуляторы, добавленные в схему химиотерапии, стимулируют оставшиеся неповрежденными иммунокомпетентные клетки ПЛУ. Вследствие активирующего действия иммуномодулирующих веществ структура ПЛУ восстанавливается быстрее, на что указывает нормализация количества лимфоидных узелков без герминативных центров.

В **герминативных центрах лимфоидных узелков** ПЛУ больных при РШМ относительное количество иммуно- и плазмобластов после экстирпации матки по Вертгейму с транспозицией яичников после неоадьювантной химиотерапии ( $23,4 \pm 3,36 \%$ ) было достоверно уменьшено на 48,3 и 49,6 %, соответственно, по сравнению с пациентками после трахелэктомии и после экстирпации без неоадьювантной терапии. Цитостатики наиболее сильно воздействуют на активно делящиеся и созревающие клетки [4]. Такие клеточные элементы погибают вследствие активации процессов апоптоза [5].

Процентное содержание ретикулярных клеток у больных после экстирпации матки по Вертгейму после неоадьювантной химиотерапии ( $9,5 \pm 1,1 \%$ ) было увеличено на 41,2 и 48,4 %, соответственно, относительно женщин после трахелэктомии и после экстирпации без неоадьювантной терапии.

Наиболее вероятно, что увеличение численности ретикулярных клеток отражает активность процессов склеротической трансформации.

Процентное содержание макрофагов после экстирпации матки по Вертгейму с транспозицией яичников после неоадьювантной химиотерапии ( $10,3 \pm 1,68 \%$ ) было достоверно увеличено на 98,1 и 93,6 %, соответственно, по сравнению с пациентками после трахелэктомии и после экстирпации без неоадьювантной терапии. При гибели клеток опухоли после химиотерапии в ПЛУ поступает большой объем антигенов и токсических веществ, для утилизации которых возрастает число макрофагов.

Относительное количество фигур митозов у больных после экстирпации матки по Вертгейму после неоадьювантной химиотерапии ( $1,67 \pm 0,485 \%$ ) было меньше в 2,3; 2,3 и 2,1 раза, соответственно, чем у женщин после трахелэктомии и после экстирпации без неоадьювантной терапии, а также после добавления в схему химиотерапии иммуномодулятора. Подавление митотической активности вместе с резким уменьшением численности иммуно- и плазмобластов является одним из побочных действий химиотерапии, но также отражает и ее эффективность. После применения иммуномодулятора на фоне химиотерапии численность делящихся клеток достоверно возросла, по сравнению только с применением цитостатиков, и не отличалась от таковой в группах пациентов без неоадьювантной терапии. По-видимому, в результате стимуляции иммуномодулятором активности оставшихся клеток в центрах размножения сохранялся высокий уровень митотической активности.

Процентное содержание клеток с признаками деструктивных изменений после экстирпации матки по Вертгейму с транспозицией яичников после неоадьювантной химиотерапии ( $5 \pm 0,767 \%$ ) было больше в 2,8 раза, по сравнению с пациентками после трахелэктомии и после экстирпации без неоадьювантной терапии. Повышение численности нежизнеспособных клеток в светлых центрах фолликулов, несомненно, связано с действием цитостатиков. Химиотерапия запускает процессы апоптоза в активированных иммунокомпетентных клетках [5], которых очень много в данной зоне ПЛУ. При сочетании химиотерапии с иммунотерапией численность клеток с явлениями деструкции остается высокой, т. е. иммуномодулятор не влияет на процессы гибели клеток, индуцированные цитостатиками.

В просвете **мозговых синусов** процентное содержание ретикулярных клеток после экстирпации матки по Вертгейму после неоадьювантной химиотерапии ( $20,6 \pm 0,984 \%$ ) было больше

на 71,7 и 66,1 %, соответственно, относительно женщин после трахелэктомии и после экстирпации без неоадьювантной терапии. При этом после экстирпации матки по Вертгейму с транспозицией яичников после сочетания неоадьювантной химиотерапии с введением иммуномодулятора значения ( $21,5 \pm 2,12$  %) данного показателя были также выше на 79,2 и 73,4 %, соответственно, чем у пациентов после трахелэктомии и после экстирпации без неоадьювантной терапии. В просвет синусной системы после химиотерапии поступает множество антигенов и токсинов из разрушающейся опухоли. При невозможности обезвредить и элиминировать эти вещества из ПЛУ детрит инкапсулируется и постепенно замещается соединительной тканью.

После экстирпации матки по Вертгейму с транспозицией яичников после неоадьювантной химиотерапии относительное число макрофагов ( $20,4 \pm 1,33$  %) было достоверно больше на 22,2 %, чем у пациентов после трахелэктомии и после экстирпации без неоадьювантной терапии. Как уже было отмечено выше, химиотерапия приводит к некрозам в опухоли и поступлению большого объема детрита в синусную систему ПЛУ. Вероятно, что численность макрофагов там возрастает для элиминации этого детрита.

**Заключение.** Неоадьювантная химиотерапия при РШМ приводит к склеротической трансформации коркового и мозгового вещества общих ПЛУ. Динамика их клеточного состава отражает как гибель активных иммунокомпетентных клеток под действием цитостатиков, а также инактивацию

и элиминацию тканевого детрита при некрозе и распаде опухоли в регионе лимфосбора и развитие склеротических процессов после химиотерапии. Иммунотерапия способствует восстановлению митотической активности клеток после химиотерапии, но не снижает их гибель от действия цитостатиков и выраженность склероза.

#### Литература

1. *Алексеев Н.А.* Вторичные лимфоидные органы (селезенки и лимфатические узлы). Онтогенез, в норме и патологии / Н.А. Алексеев. СПб.: Эко-Вектор, 2014. 848 с.
2. *Tsyplakov D.E.* Lymph node reaction to cancer. (immunohistochemical and ultrastructural study) / D.E. Tsyplakov, S.V. Petrov, R.N. Kulagin // *Pathol. Oncol. Res.* 1997. № 3 (2). P. 121–125.
3. The human lymph node microenvironment unilaterally regulates T-cell activation and differentiation / K. Knoblich, S. Cruz Migoni, S. M. Siew et al. // *PLoS Biol.* 2018. Sep 4. 16 (9):e2005046. doi:10.1371/journal.pbio.2005046.
4. Interlaboratory assessment of mitotic index by flow cytometry confirms superior reproducibility relative to microscopic scoring / D.J. Roberts, R.A. Spellman, K. Sanok et al. // *Environ Mol Mutagen.* 2012. № 3 (4). P. 297–303. doi: 10.1002/em.21684.
5. Impact of green tea catechin ecg and its synthesized fluorinated analogue on prostate cancer cells and stimulated immunocompetent cells / S. Stadlbauer, C. Steinborn, A. Klemd et al. // *Planta Med.* 2018. № 84 (11). P. 813–819. doi: 1055/s-0044-102099.