

**Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ имени И.М. СЕЧЕНОВА
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(Сеченовский Университет)**

На правах рукописи

АБДУЛЛА ИБРАГИМ

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ОЦЕНКА
ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИНТЕРФЕРОНОВОГО СТАТУСА
У БОЛЬНЫХ С БАЗАЛЬНО-КЛЕТОЧНЫМ РАКОМ КОЖИ И ЕГО
КОРРЕКЦИЯ ИНДУКТОРАМИ ИНТЕРФЕРОНА**

14.01.10 – Кожные и венерические болезни

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор Снарская Елена Сергеевна

Москва – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1.Эпидемиология и социальная значимость эпителиальных новообразований кожи.....	13
1.2. Новые аспекты патогенеза базальноклеточной карциномы кожи.....	14
1.3. Роль иммунологических механизмов в развитии и биологического поведения базальноклеточной карциномы.....	17
1.4.Интерфероновый статус пациента с позиции прогностической оценки биологического поведения базальноклеточной карциномы.....	20
1.5 Особенности морфотипов базальноклеточной карциномы.....	23
1.6 Диагностика и дифференциальный диагноз базальноклеточной карциномы.....	26
1.7 Современные подходы к терапии базальноклеточной карциномы...	28
1.8 Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия в исследовании кожи.....	37
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	
2.1. Общая схема исследования.....	40
2.2. Изучение уровня противоопухолевой защиты и напряженности противоопухолевого иммунитета по показателям совокупных параметров интерферонового статуса пациентов	43
2.3 Инвазивные методы исследования.....	44
2.3.1. Патоморфологическое исследование ультраструктурных особенностей основных морфотипов базальноклеточной карциномы.....	44
2.4. Неинвазивные методы исследования.....	45

2.4.1 Исследование изменений эпидермиса и дермы в очагах поражения методом дерматоскопического исследования.....	45
2.4.2 Исследование морфологических изменений эпидермиса и дермы в очагах поражения методом конфокальной лазерной сканирующей in vivo микроскопии.....	45
2.4.3 Система оценки снимков полученных методом КЛСМ	48
2.5 Статистический метод.....	49
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ...	51
3.1. Клиническая характеристика больных, включенных в исследование.....	51
3.2. Ультраструктурные особенности основных морфотипов базальноклеточной карциномы как фактор биологического поведения опухоли.....	60
3.3. Исследование изменений эпидермиса и дермы в очагах БКК методом дерматоскопического исследования	72
3.4. Исследование изменений эпидермиса и дермы в очагах поражения методом конфокальной лазерной сканирующей in vivo микроскопии	75
3.5. Интерпретация данных, полученных при проведении дерматоскопии и КЛСМ участков кожи с БКК	82
3.6. Исследование динамики показателей интерферонового статуса пациентов с различными вариантами БКК	84
3.7. Интерпретация полученных данных исследования показателей интерферонового статуса пациентов	86
3.8. Протокол интратуморальной цитокинотерапии препаратами рекомбинантного человеческого интерферона альфа 2 _b (рч ИФН-α _{2b})	90
3.9. Оценка эффективности и переносимости проведенного лечения....	93
3.10. Клинические примеры.....	96

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	105
ВЫВОДЫ.....	119
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	121
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	122
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	123

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Базально-клеточная карцинома кожи (БКК) входит в группу немеланомных новообразований кожи и является самой распространенной неоплазией у человека. В реестре Международной гистологической классификации опухолей Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) базальноклеточную карциному относят к местно-деструирующим эпителиальным опухолям с высокой потенциальной склонностью к рецидивированию. По данным московского онкологического регистра, за период с 2000-2008 г., доля БКК составила 91,5% от всех немеланомных злокачественных новообразований кожи [27]. Базальноклеточная карцинома представляет собой медленно растущую злокачественную эпителиальную опухоль, отличающуюся многообразием клинических форм, гистологических типов, с преимущественной локализацией в косметически значимых зонах – коже лица (80%) и участках подвергающихся хронической экспозиции ультрафиолетового излучения [11], метастазируя в довольно редких случаях, БКК отличается местнодеструирующим ростом и может в значительной степени разрушать ткани, включая хрящи и костные структуры в зоне локализации. При длительном существовании имеет высокую склонность к рецидивам, а также усилению степени агрессивности с высокими рисками трансформации в метатипический или плоскоклеточный рак кожи [71]. Большинство первичных очагов БКК размером менее 1 см, соответствующие характеристике T1N0M0 (по Международной системе оценки опухолей TNM) обычно расцениваются как опухоли с низким потенциалом рецидивирования и озлокачествления и на ранних стадиях развития могут быть успешно вылечены [3].

Опухоли БКК, размером более 2 см с характеристикой T2N0M0 (по системе TNM), особенно располагающиеся в центре лица, в зоне высокого риска рецидивирования (так называемая Н-зона лица) и имеющие агрессивный гистологический тип строения, принято расценивать, как опухоли с высоким

риском рецидивирования и озлокачествления, к которым необходимо применять методы не допускающие и /или профилактирующие развитие рецидивов [81]. Рутинный цитологический метод диагностики БКК малоинформативен и часто ошибочен, только гистологические и иммуногистохимические методы позволяют достоверно выявить различный потенциал опухоли и определить степень прогностического риска БКК [54]. При своевременной и правильной постановке диагноза, большинство опухолей может быть вылечено. Существующие традиционные схемы лечения базальноклеточной карциномы носят агрессивный разрушающий опухоль характер и не включают средства, направленные на раннюю профилактику рецидивирования опухоли. Агрессивные варианты немеланомного базальноклеточного рака кожи, протекающие с глубокой инфильтрацией окружающих тканей, многократно рецидивирующие и имеющие сложные и морфеальные морфотипы, являются терапевтически сложными, потому что они требуют значительной потери ткани при проведении радикального хирургического иссечения. В этих сложных случаях именно интерфероны могут обеспечить нехирургический подход к лечению этих опухолей. Помимо патогенетической значимости цитокинов, в развитии базальноклеточной карциномы, обеспечивающих взаимодействие между наследственным и адаптивным звеньями иммунитета, они могут быть использованы в иммунодиагностике с целью оценки степени агрессивности опухоли, дифференциальной диагностики БКК, а также для иммунотерапии. Проблема эффективной профилактики и лечения базальноклеточной карциномы имеет большое медико-социальное значение, в связи с широкой распространенностью, отсутствием методов лечения сложных опухолей неоперабельных локализаций и рецидивных форм заболевания, которые приводят к формированию уродующих косметических дефектов на косметически значимых и открытых участках кожного покрова, приводящих к потере функции органов, резкому снижению качества жизни, формированию психосоматических расстройств и значительной социальной дезадаптации пациентов. Злокачественные новообразования кожи являются одной из

важнейших медико-социальных проблем современного общества, а снижение заболеваемости и смертности с обеспечением полноценной реабилитации больных опухолями кожи после проведенной терапии представляют собой важнейшие задачи здравоохранения.

Все вышеперечисленное определило цель и задачи настоящего исследования:

Цель: совершенствование методов патогенетической терапии базальноклеточной карциномы на основании изучения уровня противопухолевого иммунитета по показателям защиты и напряженности противоопухолевого иммунитета по показателям совокупных параметров интерферонового статуса и морфотипа опухоли у пациентов с БКК.

В соответствии с целью исследования нами были поставлены следующие **задачи:**

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 γ *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 БКК с учетом индивидуального уровня нарушений регуляции синтеза интерферонов и морфотипа карциномы

Научная новизна и практическая значимость

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 наблюдаемых больных, при этом у половины больных выявлена 3 степень дефицита интерферонов, а у остальных больных обнаружена депрессивная реакция, так называемая анергия индукции интерферонов, соответствующая 4 степени его дефицита. Впервые обнаружен феномен совокупного дефицита 2 интерферонов: ИФН- α , - γ , имеющих важное значение в механизмах канцерогенеза и противоопухолевого иммунитета.

Показано, что кроме традиционной клинической оценки опухоли, важна структура ее морфотипа, которая является основным прогностическим фактором и позволяет достоверно прогнозировать направление развития патологического процесса, его исход, риски развития рецидива и возможные объемы и результаты лечения.

Сопоставлены диагностические критерии БКК, изученные неинвазивными методами – конфокальной лазерной сканирующей микроскопией и дерматоскопии. Показана возможность неинвазивной диагностики методом КЛСМ, особенно в местах, где проведение диагностической биопсии затруднительно.

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.

Внедрение в практику результатов исследования

Работа выполнена на кафедре кожных и венерических болезней им В.А. Рахманова ФГАОУ ВО Первый МГМУ им И.М. Сеченова МЗ РФ, кафедре кожных и венерических болезней института постдипломного образования ФГАОУ ВО Первый МГМУ им И.М. Сеченова МЗ РФ на клинической базе отделения дерматоонкологии и дерматовенерологии МОНИКИ им. М.Ф.Владимирского. Полученные в ходе исследования результаты внедрены в научно-исследовательскую, практическую и педагогическую деятельность данных образовательных учреждений и диспансерных служб дерматовенерологического профиля, институт новых медицинских технологий, кожно-венерологического отделения ГБУЗ "Раменская ЦРБ", Московская область, г. Раменское.

Практические рекомендации

- Определение уровня противоопухолевой защиты и иммунитета по показателям интерферонового статуса позволяют оценить резервные возможности организма и 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 (рч ИФН - α_{2b}).
- Определение противоопухолевой активности ИФН 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.

Основные 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 протокол 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.

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 Министерства здравоохранения Российской Федерации (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 совместной клинической конференции кафедры и клиники кожных и венерических болезней лечебного факультета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) 19 июня 2018 г.

Личный вклад автора

Автором самостоятельно проведен набор 75 пациентов с базальноклеточными карциномами кожи и разработан метод лечения на основании исследований интерферонового статуса пациентов, выполнены процедуры введения препарата, проведен анализ и обобщение результатов. Автором выполнено тщательное клинико-морфологическое фенотипирование 75 пациентов, самостоятельно проведены все неинвазивные и инвазивные инструментальные исследования: процедуры взятия биоптатов кожи, дерматоскопия, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия. Проведен мониторинг полученных результатов лабораторных исследований, статистическая обработка данных, сформулированы выводы и даны практические рекомендации.

Публикации

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

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует шифру научной специальности: 14.01.10 – кожные и венерические болезни (кожные и венерические болезни – область медицинской науки, изучающая кожный покров и видимые слизистые оболочки в норме и патологии), 3 и 4 пунктам формулы специальности (совершенствование диагностики дерматозов с использованием клинических, лабораторных, функциональных и других методов исследования; совершенствование лечения кожных и венерических заболеваний на основе последних исследований по их этиологии и патогенезу; новые методы и схемы лечения дерматозов современными медикаментозными средствами).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 137 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 128 источников, в том числе 52 отечественных и 76 иностранных авторов. Работа иллюстрирована 11 таблицами, 46 рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Эпидемиология и социальная значимость эпителиальных новообразований кожи

Базальноклеточная карцинома кожи (син. : базалиома, базальноклеточный рак кожи, базальноклеточная эпителиома) — распространенная злокачественная эпителиальная опухоль кожи, состоящая из базалоидных клеток, характеризующаяся местно-деструирующим ростом и чрезвычайно редким метастазированием [1, 2, 3, 5, 6, 9, 12]. По сравнению с 2000 г. в целом по стране произошел рост показателей заболеваемости в 1,1 раза, в Дальневосточном Федеральном округе (ФО) - 1, 2 раза, Северо-Западном, Приволжском, Уральском, Сибирском ФО - в 1,1 раза, незначительный рост прослеживался в Центральном и Южном ФО. Среднероссийский уровень заболеваемости превышен в Центральном - 357,3 (на 100 тыс. населения) и Северо-Западном - 347,1 (на 100 тыс. населения) ФО. Следует отметить, что практически на всех территориях Центрального ФО, кроме Владимирской, Московской и Смоленской областей, уровень заболеваемости злокачественными новообразованиями превысил среднероссийский показатель. Наиболее высокая заболеваемость наблюдалась в Ивановской области (418,5 на 100 тыс. населения). Повышение среднероссийских показателей отмечено также в целом ряде других областей [11]. По Международной гистологической классификации опухолей ВОЗ (1980, 1996) [12] базальноклеточную карциному относят к истинному раку, поскольку она обладает неудержимым ростом с инфильтрацией и деструкцией подлежащих тканей и выраженной склонностью к рецидивированию, однако крайне редкое метастазирование позволяет отнести ее к местно-злокачественным или местно-деструирующим эпителиальным опухолям [5, 6, 9, 28]. По данным разных авторов, в 80–85 % случаев БКК является солитарной и только в 10–20 % случаев множественной опухолью [9, 11, 14, 19, 29], однако в единичных сообщениях, сообщается о более высоком проценте встречаемости множественного характера

опухолей при БКК, которые могут составлять более 31, 2 % случаев [31]. Множественные очаги опухолевого роста БКК формируются, как за счет метакронного (последовательного), так и одновременного появления. Опухолевые очаги чаще располагаются диссеминированно, реже наблюдается их локализованное или линейное расположение [27]. Синхронное развитие нескольких опухолей БКК, так называемый первично-множественный рак, по данным разных авторов, наблюдается от 2 до 19 % случаев [11,14,19,23,25,72]. Так, Т.П. Писклакова и соавт. [36] сообщают о 211 случаях (21,4%) множественного БКК, который развивался в результате метакронного и синхронного появления опухолей. Ю.В. Сергеев и соавт. [37] обнаружили первично-множественный рак в 17 % случаев БКК, Т.Е. Сухова [47] — в 12,9 % случаев БКК, при этом количество опухолевых очагов варьировало от 2 до 38, в среднем 3,7).

1.2. Новые аспекты патогенеза базальноклеточной карциномы кожи

Развитию БКК способствует целый ряд экзогенных факторов из которых наиболее очевидными являются необратимые последствия кумулятивного воздействия ультрафиолетового излучения (УФ) на кожу человека, проявляющиеся в виде прогрессирующего процесса дерматогелиоза (фотостарения), который приводит к развитию эпителиальных новообразований кожи [32, 33, 57, 64, 73, 91]. Особенно уязвимыми являются пациенты с меланодефицитным фототипом кожи (I, II фототипом по Фицпатрику), у которых генотипически синтезируется нестабильная форма меланина — феомеланин, защитные свойства которого слабы и кратковременны, так как он легко окисляется под воздействием УФ-лучей по свободнорадикальному механизму, в результате которого не может выполнять свои защитные функции, даже в условиях обычного УФ облучения [8, 33]. Ультрафиолетовое облучение может

приводить к нескольким типам повреждения и мутаций генов [57], включая образование пиримидиновых димеров (фотодимеров) [64], обрывов цепочки ДНК и др. [73]. УФ-индуцированные пиримидиновые димерные мутации обнаруживают в онкогене p-53, что ведет к расстройству регуляции клеточного цикла и не контролируемой пролиферативной активности клеток [91,92]. Лучи спектра В оказывают прямое повреждающее влияние на ДНК клеток, вызывая ее структурные повреждения, в то время как не прямое связано с действием продуктов оксидативного стресса, развивающегося в ответ на воздействие как УФА, так и УФВ [5, 33, 75, 103]. Генерация активных форм кислорода (супероксидазы, гидроксильных радикалов, перекиси водорода (H_2O_2) и синглетного кислорода), обусловленная оксидативным стрессом, является иницирующим звеном, запускающим каскад сигнальных путей, приводящих к деградации коллагена экстрацеллюлярного матрикса и снижению синтеза нового коллагена, нарушению внутри- и внеклеточного гомеостаза, активации перекисного окисления липидов, накопление которых способно разрушать основные структуры эпидермального барьера кожи, а также обуславливает формирование пиримидиновых димеров в структуре ДНК с последующим повреждением нуклеотида гуанин [9, 31, 64, 101, 114, 128]. Результатом данных процессов является укорочение теломеров, а также накопление мутаций ДНК с запуском процессов канцерогенеза [32]. Также под влиянием активных форм кислорода происходит активация ядерного фактора каппа-В (NF- κ B), индуцирующего экспрессию провоспалительных цитокинов и факторов роста, таких как эпидермальный фактора роста, фактор некроза опухолей альфа (TNF- α), интерлейкина-1 (IL-1) [57, 60, 67, 87, 116]. Немаловажным фактором в развитии БКК является влияние химических канцерогенов и ионизирующего излучения [19, 23, 25], латентный период после воздействия которых может составлять 20–30 лет [45]. С этих позиций можно объяснить высокую частоту БКК в южных районах России и экологически неблагоприятных промышленных зонах, например на Южном Урале [36]. Определенная роль в развитии БКК отводится наследственным и иммунологическим факторам [81, 82, 86]. Возникновение,

темпы роста опухоли и ее прогрессия обусловлены изменениями структурных компонентов генома клетки, которые могут быть генотипическими абберациями, закрепленными в геноме, т. е. наследуемыми в поколениях, либо появляться *de novo* в клетке и стимулировать развитие опухолевого процесса [40]. Так, ген РТСН, расположенный в хромосоме 9q 22.3, кодирует трансмембранный белок, являющийся регулятором дифференцировки и роста клеток. Известен целый ряд мутаций, приводящих к развитию опухолей различного генеза и локализации, большинство из которых вызывает остановку молекулярных процессов трансляции или сдвиг рамки считывания и поэтому полностью разрушает функциональность белка РТСН [104]. Анализ РТСН, включая нейросетевой, позволил выявить ряд молекулярных механизмов, приводящих к развитию базалиом. Наиболее вероятной причиной этих мутаций признано влияние ультрафиолетового облучения [110]. Изменения генома клетки ведут к активации ключевых процессов канцерогнеза, активации онкогенов или инактивации генов-супрессоров. Процесс транслокации может совместить онкоген (в норме неактивный) и промотор, в результате чего происходит активация онкогена, которая в случае БКК доказана лишь в единичных исследованиях [126]. К структурам клетки, вовлеченным в канцерогенез, относят протоонкогены, в случае изменения структуры или уровня экспрессии которых нарушается контроль клеточного роста и дифференцировки клеток (активированные протоонкогены именуют онкогенами); антионкогены — гены-супрессоры, контролирующие пролиферацию клеток, инактивация их функции ведет к возникновению и прогрессии опухоли; гены-модуляторы, способствующие распространению опухоли в организме, но не отвечающие за ее злокачественную трансформацию [82]. Все канцерогенные факторы: химические, физические, наследственные и др. — в конечном счете приводят к повреждению онкогенных генетических детерминант (протоонкогенов, генов-супрессоров) и их функций [71]. В индукции и развитии неоплазий одного типа могут участвовать различные опухолевые гены, но при этом должны существовать определенные гены, нарушения которых обязательны для данной формы рака [82]. Особое значение

имеет в патогенезе опухолевого поражения кожи и индуцированный вирусами канцерогенез. Большой интерес представляет вирус папилломы человека (ВПЧ), который инфицирует базальные эпителиальные клетки, причем разные типы вируса отличаются тропностью к разным видам тканей. Трансформирующим и канцерогенным потенциалом обладают продукты генов ВПЧ –Е6 и Е7. Их продукты взаимодействуют с генами-супрессорами опухолевого роста p53 и Rb, а это приводит к инаktivации и неконтролируемому росту инфицированных клеток с накоплением в них геномных мутаций. Были выявлены ДНК ВПЧ в доброкачественных эпителиальных опухолях и БКК [9]. Также в эксперименте продемонстрировано, что УФВ индуцирует активацию Hedgehog сигнального пути с последующей активацией митоген-активированного киназного пути (МАРК) пути и воспалительного ответа, что играет важную роль в индукции преждевременного старения. Кроме того, Hedgehog инициирует канцерогенез с последующим формированием злокачественных опухолей кожи [29].

1.3. Роль иммунологических механизмов в развитии и биологическом поведении базальноклеточной карциномы

Иммунная система в норме, супрессирует развитие и рост эпителиальных образований кожи, в частности БКК, хотя ее роль в его развитии еще изучена не полностью [1]. Ранее показано, что у лиц с иммунодепрессией БКК развивается чаще и проявляет себя более агрессивно [65]. УФ излучение может индуцировать иммуносупрессивный статус, что промотирует опухолевый процесс, в частности, кумулятивный эффект УФ излучения депрессирует клетки Лангерганса (эпидермоциты) в эпидермисе, которые ответственны за инициацию «иммунного каскада» в коже. Изучению ассоциативной связи системы HLA с развитием БКК посвящен ряд работ. В Московской и Челябинской областях РФ были обследованы на антигены HLA 86 больных, у 65 из которых диагностированы множественные базалиомы, у 21 — синдром Горлина—Гольтца [13], при этом

верифицированы 19 антигенов локуса А, 31 антиген локуса В, 11 антигенов локуса DR, 3 антигена локуса DQ. У больных множественными базалиомами чаще встречался антиген В-14, частота выявления антигенов А-19, В-7, В-13, В-18 была снижена, а антигены В-37, DR-8 вообще отсутствовали (выявленные изменения статистически достоверны, $p < 0,01$; наиболее сильная ассоциативная связь отмечена с антигеном В-14). По данным других авторов, множественные базалиомы ассоциируются с антигенами HLA DR-1, DR-2, гаплотипами А-1 — В-8; А-2 — В-12 и [14]. БКК более агрессивно протекает при генетически или приобретенно детерминированной иммуносупрессии [7]. Частота опухолей кожи значительно возрастает при назначении иммуносупрессивной терапии, у больных лейкозами [6], СПИДом, реципиентов трансплантатов внутренних органов [35].

В процессе биологического старения также, наблюдается снижение иммунологической реактивности за счет снижения уровня и ослабления активности Т-лимфоцитов и естественной киллерной цитотоксичности, что в сочетании с воздействием экзогенных факторов способствует развитию БКК [110]. При этом при БКК отмечено, что, помимо снижения функциональной активности Т-лимфоцитов, увеличивается количество Т-супрессорных клеток и уменьшается количество натуральных киллеров, что ведет к иммунной толерантности, проявляющейся в несупрессированном опухолевом росте. Доказано уменьшение количества Т-клеток в периферической крови при агрессивном БКК диаметром более 2 см [58, 68]. В 60 % случаев вокруг опухоли наблюдается Т-клеточная (хелперная) инфильтрация кожи различной степени выраженности, что ряд авторов расценивают, как защитную противоопухолевую реакцию при опухолевом росте БКК [102, 115]. При этом воспалительная инфильтрация окружает опухоль по периферии и очень слабо выражена между островками опухолевых клеточных комплексов [97, 108]. Более 50 % Т-хелперной популяции экспрессирует CD45RO-фенотип — маркер активности или памяти Т-клеток [99, 112]. CD45RO-клеточный инфильтрат развивается как ответ на специфическую антигенную стимуляцию [103] и вызывает увеличение количества адгезивных молекул — LFA-3, CD-2 и LFA-1, молекул UCHL-1, CD_w29, PgP-1 и

IFN- γ продукции [120], а также продукции большого количества цитокинов [111, 128]. Неактивные Т-клетки, представляющие CD45RO-фенотип, составляют лишь 8–35 % клеток околоопухолевого инфильтрата [23]. При инкубации Т-лимфоцитов с IL-2 *in vitro* процент CD45RO-позитивных активных лимфоцитов увеличивается [96]. Предполагают, что CD38 позитивные клетки опухолеспецифичны, так как при неопухолевых дерматозах они не встречаются [95], клетки Лангерганса составляют при БКК лишь 4–15 %, моноциты и макрофаги — 16 % [94] воспалительного околоопухолевого инфильтрата; они влияют на опухолевый рост через секрецию факторов роста. При БКК отмечено достоверное уменьшение соотношения CD4/CD8 по сравнению с контролем [38].

Иммуногистохимические, иммуноморфологические, электронно-микроскопические методы исследования позволяют получить более полные характеристики опухоли, ее злокачественный потенциал, характер пролиферативных процессов, апоптоза, тонких структурных нарушений, что в совокупности определяет биологическую активность опухолевого процесса, помогает провести дифференциальную диагностику в затруднительных клинических случаях. Так, показано, что к иммунологическим признакам агрессивного течения БКК относят изменение размеров ядер, уменьшение синтеза амилоида, экспрессии гена Bcl-2 [125], а также нарушение экспрессии p-53, маркеров пролиферации Ki-67, PCNA, непрерывности базальной мембраны [125, 126]; увеличение синтеза металлопротеаз, включая коллагеназу IV типа [126, 127], матрилизина [43], стромелизина-3 [48], которые не выявляются в неагрессивных формах базалиом, а также увеличение уровня фибронектина стромы [51], при этом строма агрессивных форм БКК содержит фибробласты, напоминающие миофибробласты [125]; увеличение экспрессии протоонкогена c-fos [84, 112]; уменьшение адгезии опухолевых клеток [109], что связывают со снижением количества молекул E-кадгерина [111, 109]; увеличение количества радиально расположенных микрофиламентов в опухолевых клетках [109] и синтеза гликозаминогликанов фибробластами стромы [122] и др. Агрессивные формы базалиомы содержат тетраплоидную ДНК [9]. Объективные данные о размерах

опухоли могут быть получены с помощью томоденситометрии, В-скановой сонографии, ультразвукового исследования (УЗИ) и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии [53, 121].

1.4 Интерфероновый статус пациента с позиции прогностической оценки биологического поведения базальноклеточной карциномы

При исследовании уровня ИФН, интерферонзависимой синтетазы у 12 больных БКК V. Elsasser-Beile и соавт. [42] существенных отклонений не отметили. При активно регрессирующих опухолях БКК несколько повышен уровень γ -интерферона, IL-2, TNF β и CD3- λ [73]. Можно предположить, что Т- h вместе с цитокинами, в частности с интерферонами, являются медиаторами регресса опухоли [92]. Для базальноклеточной карциномы (БКК), в частности, характерным является вторичный иммунодефицит с преимущественным поражением клеточного звена, причем, выраженность иммунологических сдвигов у таких пациентов может заметно различаться по глубине и спектру [81]. При прогрессии, опухоль может приобретать инвазивный и выраженный деструктивный характер течения, прорастать в жизненно важные органы и приводить к развитию выраженных косметических дефектов с потерей функций органов. Действительно, гипотезы патогенеза, прогрессирования и метастазирования различных клинических форм БКК, в том числе, рецидивирующих, свидетельствуют в пользу многостадийной модели заболевания, учитывающей интерференцию целого ряда патофизиологических механизмов [3, 4, 5]. Помимо патогенетической значимости цитокинов, в развитии базальноклеточной карциномы, обеспечивающих взаимодействие между наследственным и адаптивным звеньями иммунитета, они могут быть использованы в иммунодиагностике с целью оценки степени агрессивности опухоли, дифференциальной диагностики БКК, а также для иммунотерапии [10].

Использование цитокинов в терапии новообразований кожи является одним из перспективных направлений в современной дерматоонкологии, прежде всего за счет патогенетического пути реализации лечебного эффекта и простоты применения даже в условиях амбулаторной практики. С позиции противоопухолевых эффектов большой интерес представляют собой интерфероны (ИФН). Настоящий всплеск интереса к иммунотерапии опухолей произошел после открытия противоопухолевого действия ИФН α . [4, 5, 6] Система ИФН служит для распознавания чужеродных нуклеиновых кислот и их элиминации, играет контрольно-регуляторную роль в сохранении гомеостаза и является одной из основных систем противoinфекционной и противоопухолевой защиты организма [6, 7]. В настоящее время идентифицировано несколько типов белков, имеющих как структурные, так и функциональные особенности. Сегодня известно более двух десятков белков, которые разделены на 3 класса в зависимости от их функциональных особенностей: α , β , γ [7]. ИФН α в основном продуцируют макрофаги и β -лимфоциты, он снижает активность репликации вирусов, усиливает экспрессию мембранных белков клетки, стимулирует образование В-клетками IgG, IgM, иммунный ответ хелперного типа, секрецию IL-1 моноцитами, который активирует Т-лимфоциты [7, 8]. ИФН β в основном продуцируют клетки фибробластного и эпителиального типов в ответ на воздействие индукторов, он обладает сходными с ИФН- α свойствами. ИФН- γ продуцируют активированные Т-лимфоциты, он усиливает экспрессию антигенов клеточных мембран, увеличивает продукцию ИФН- α и β . Лейкоциты ввиду их функциональной гетерогенности являются продуцентами всех трех типов ИФН. На уровень продукции интерферона в организме оказывают влияние различные факторы: возрастной, у детей до 3 лет и у людей старше 50 лет относительно чаще выявляется недостаточность системы интерферонов; генетический фактор, так же определяет уровень врожденных показателей иммунитета и в том числе продукции ИФН [8]. Отмечено также, что лица с группой крови A/II почти в 40 % случаев отличаются низкой способностью продуцировать ИФН в ответ на агрессию, что может быть обусловлено их предрасположением к инфекционным

и онкологическим заболеваниям [6]. Заметно снижают выработку ИФН стрессы (параллельно со снижением активности естественных киллеров), нарушения питания, охлаждения, лучевое воздействие, иммунодепрессанты, кортикостероиды и целый ряд других факторов [5]. 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 [8]. Данные об эффективности рекомбинантных человеческих интерферонов (рч ИФН) при опухолях значительно варьируют, что связано с различными дозами, методами их использования [8,9,10,11]. Индукторы интерферона добавляют в организм «порцию» интерферонов и стимулируют прирост собственных защитных белков организма. Определение интерферонового статуса - иммунологическое исследование, направленное на выявление уровня интерферона в сыворотке крови пациента и определение способности лейкоцитов периферической крови продуцировать различные типы интерферонов в ответ на активирующий сигнал (вирусные частицы или иммуномодуляторы). Целью определения интерферонового статуса является: исследование готовности иммунной системы к развитию адекватных иммунологических реакций, выявление уровня продукции интерферона на фоне заболевания и подбор иммуномодулирующего препарата. В крови здоровых людей обычно определяется низкий базовый уровень интерферонов (нет антигенной стимуляции и иммунная система находится в неактивном состоянии), а выделенные из крови лейкоциты после стимуляции антигеном дают высокую продукцию интерферона-альфа (ИФН- α) и интерферона-гамма (ИФН- γ). Определение интерферонового статуса показано при тяжело протекающих острых инфекциях, при хронических, рецидивирующих или затяжных вирусных инфекциях (таких как герпес, гепатит и др.), иммунодефицитах, опухолевых процессах. Если при определении интерферонового статуса, были выявлены дефекты синтеза интерферона, то это

является показанием к назначению препаратов интерферона или индукторов эндогенного интерферона. Нормализация показателей уровня интерферона, является критерием эффективности терапии, и, как правило, совпадает с улучшением течения и прогноза основного заболевания.

1.5. Особенности морфотипов базальноклеточной карциномы

Согласно Международной гистологической классификации опухолей ВОЗ [29] выделяют следующие гистологические типы БКК: поверхностный мультицентрический, нодулярный (солидный, аденокистозный), инфильтрирующий (несклерозирующий и склерозирующий — морфеа), фиброэпителиальный, БКК с придатковой дифференцировкой (фолликулярной, эккринной, аденоидной), базосквамозный, кератотический, пигментный микронодулярный и базальноклеточный невоидный синдром. Гистологический тип может соответствовать клинической форме БКК, например поверхностный, склерозирующий (морфеа), фиброэпителиальный, но чаще этого соответствия не наблюдается [18, 112], в связи с чем при одной и той же клинической форме опухоли можно выявить различные гистологические особенности.

В зарубежной классификации базалиом [53] выделяются три основные группы базалиом в зависимости от их клеточной дифференцировки и характера клеточных комплексов: дифференцированные, недифференцированные и особые формы. Хотя отмечается, что четкой грани между дифференцированным и недифференцированным БКК провести во многих случаях нельзя, все же эта классификация получила наибольшее признание. К дифференцированным формам отнесены базалиомы кистозные, аденоидные, кератотические, гранулярные и адамантиномоподобные (сходные с адамантиномой — одонтогенной опухолью), к недифференцированным — базалиомы солидные, морфеа, пигментные, поверхностные. Фиброэпителиальные, базосквамозные (син.

метатипические) и смешанные базалиомы — опухоли, в пределах которых обнаруживают клеточные комплексы базалиом и плоскоклеточного рака — включены в группу особых форм БКК. В наиболее признанной отечественной классификации БКК А.Л. Апатенко [1], близкой по своей структуре к классификации W.F. Lever, выделены следующие группы базалиом: недифференцированные (или малодифференцированные — к ним относятся следующие варианты: недифференцированная солидная, пигментная и поверхностная мультицентрическая базалиомы); дифференцированные (с железистой, пилоидной, сальной, плоскоэпителиальной дифференцировкой и сложного строения с различными видами дифференцировки), а также особые формы, включающие склеродермоподобную базалиому, фиброэпителиому Пинкуса и базалиому стенки эпидермальной кисты. Условность подразделения БКК на четкие, так называемые чистые морфологические типы, которые на практике достаточно редки, что подтверждают работы отечественных авторов [7, 10]. Большое разнообразие форм БКК показано T.R. Wade и A.B. Askerman [54], которые выделили 26 гистологических вариантов базалиом: солидная, поверхностная, пигментная, морфеоподобная, аденокистозная, адамантиномоподобная, базосквамозная, фиброэпителиальная, базалиомы с фолликулярной, аденоидной, сальной, эккринной дифференцировкой, которые выделялись и в классификации других авторов. К ним был добавлен и ряд новых вариантов: келоидный, бовеноидный, кальцифицированный, оссифицированный, муцинозный, цилиндромоподобный, сириномоподобный, трихофолликулярный, трихоэпителиоматозный, а также варианты с депозитами амилоида, с образованием роговых кист, с фокусами некроза, с полиморфизмом ядер, развитием опухоли из волосяного фолликула [91]. Кроме того, была [56] предложена классификация [72] БКК на основе учета характера, формы, размеров опухолевых комплексов, их клеточного состава и особенностей стромы. Они выделили 4 гистологических подтипа опухоли: поверхностный, нодулярный, микронодулярный, агрессивно растущий — и 14 гистологических вариантов БКК: адамантиномоподобный, аденоидный, базосквамозный, с апокринной, эккринной,

фолликулярной, сальной или нейроэндокринной дифференцировкой, светлоклеточный, гранулярный, пигментный, перстневидно-клеточный, плеоморфный и фиброэпителиома Пинкуса. Для морфологической оценки опухоли предложено также классифицировать БКК по типу роста опухоли [26]. При этом на основании анализа 518 случаев БКК. Некоторые авторы, в частности Н.Г. Дайнова, выделила нодулярно-компактный и инфильтративно-рассеянный типы роста БКК, которые не зависели от гистологического варианта опухоли, однако были тесно связаны с характером клинического течения заболевания. Инфильтративно-рассеянный тип характеризовался наиболее агрессивным течением процесса, при этом опухоль обычно изъязвлялась и инфильтрировала подлежащие ткани [14]. Изучая особенности гистологической характеристики опухоли и частоту различных вариантов на основании анализа биоптатов БКК, А.Н. Хлебникова и И.А. Казанцева [51] обнаружили, что наиболее часто (45,8 %) встречался солидный тип опухоли, несколько реже — поверхностный (9,5 %), морфеа (6,9 %), аденоидный (11,4 %), а также БКК с пилоидной (3,4 %) и сальной (4,3 %) дифференцировкой; среди анализируемых биоптатов в 10,4 % случаев выявлен метатипический рак. Другие исследователи [118] выделили 5 основных гистологических типов БКК: нодулярный (21 % случаев), поверхностный (17 %), микронодулярный (15 %), инфильтративный (7 %), морфеаподобный (1 %); смешанные типы встречались в 38,5 % случаев БКК. Классический тип строения БКК представляет собой поверхностный мультицентрический тип с множественными мелкими солидными очажками опухолевых клеточных комплексов, связанных с эпидермисом, как бы «подвешенных» к нему и располагающихся лишь в сосочковом слое дермы не проникающих и распространяющихся в глубину [71]. В строме часто наблюдается лимфогистиоцитарная инфильтрация дермы, различной степени выраженности. Гистологическое строение опухоли может определять ее биологическое поведение и иметь прогностическое значение [113]. Такие патоморфологические признаки опухоли, как выраженный примитивный ангиогенез,

инфильтрирующий рост и активное стромообразование опухолевых очагов свидетельствуют об усилении агрессивных свойств опухоли.

1.6. Диагностика и дифференциальный диагноз базальноклеточной карциномы

Диагностика БКК основывается на клинических, цитологических, дерматоскопических и гистологических данных. В сомнительных случаях, а также для получения более полной характеристики опухоли используют дополнительные методы исследования (радиологический, иммуноморфологический, иммуногистохимический, электронная микроскопия и др.).

К **основным клиническим** диагностическим параметрам БКР относят следующие признаки:

1. Возраст больных (старше 40 лет).
2. Локализация поражения на открытых участках кожного покрова, доступных инсоляции, особенно на голове.
3. Характерные особенности первичного опухолевого элемента: округлый, плотный, восковидный розоватый узелок размером 2–5 мм в диаметре, с гладкой поверхностью и телеангиэктазиями.
4. Медленное прогрессирующее течение (месяцы, годы).
5. Формирование четырех основных клинических форм с характерными для них разновидностями процесса.
6. Субъективные ощущения выражены слабо или отсутствуют.

Цитологическая диагностика используется практически во всех случаях, хотя она не позволяет уточнить тип БКК и не дает 100%-й гарантии выявления БКК в нетипичных случаях клинического течения. К ее преимуществам относится возможность провести исследование опухоли с локализацией на любом участке кожи, что позволяет выявить базалоидные клетки, подтверждающие диагностику БКК.

Дерматоскопическая диагностика широко используется как в клинической, так и амбулаторной практике с целью диагностики и контроля отсутствия базалоидных клеток. Также для диагностики БКК в перспективе могут использоваться спектрофотометрический интрадермальный анализ (СИАскопия), флюоресцентная биомикроскопия кожи с акридиновым оранжевым и фотосенсибилизатором, ультразвуковое исследование, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия [112].

Гистологическое исследование позволяет не только установить диагноз БКК, но и определить морфотип базалиомы, что в совокупности с особенностями клинических характеристик во многом определяет течение, прогноз и выбор метода лечения. Классическими и самыми характерными гистологическими признаками БКК является наличие базалоидных клеток, составляющих опухолевый комплекс, и признак «частокола» в краевой зоне опухоли, однако целый ряд гистологических морфотипов БКК имеют свои характерологические и прогностические особенности. Иммуногистохимические, иммуноморфологические, электронно-микроскопические методы исследования позволяют получить более полные характеристики опухоли, ее злокачественный потенциал, характер пролиферативных процессов, апоптоза, тонких структурных нарушений, что в совокупности определяет биологическую активность опухолевого процесса, помогает провести дифференциальную диагностику в затруднительных клинических случаях.

Дифференциальный диагноз нодулярных форм БКК проводят с аденомой слюнных желез, лимфоцитомой, спираденомой, эозинофильной гранулемой,

кератоакантомой, их язвенную разновидность дифференцируют от плоскоклеточного (ПКС) и метатипического (МТ) рака кожи, что особенно затруднительно [19], а пигментную разновидность — от меланомы. Поверхностную форму БКС дифференцируют от болезни Боуэна, себорейного кератоза, экзематозного, псориазического или микотического очага поражения, пигментную разновидность - от пигментного невуса, меланомы, преинвазивного меланоза Дюбрея. Склеродермоподобную базалиому дифференцируют от бляшечной склеродермии, склероатрофического лишая, фиброэпителиому Пинкуса - от старческой кератомы, фибромы [29].

1.7. Современные подходы к терапии базальноклеточной карциномы

Терапия БКС должна обеспечивать не только максимальную деструкцию опухоли с уничтожением клона малигнитентных клеток, но и обладать противорецидивным компонентом, а также иметь оптимальный косметический результат. Важно отметить, что единого стандарта или способа лечения БКС, в настоящее время, не существует. Критериями для выбора адекватной терапии, по данным «The Cochrane Collaboration, 2007», разработанными National Comprehensive Cancer Network, служит прежде всего отбор опухолей с факторами высокого риска рецидивирования. Факторы **высокого риска рецидивирования** базальноклеточной карциномы включают следующие клинические и патоморфологические признаки *Клинические признаки*: опухоль более 2 см в диаметре; локализация на коже волосистой части головы, в центральной части лица (Н – зона); зоной гиперемии по периферии очага; рецидивирующие формы; после радиологического однократного лечения; при иммуносупрессии. *Патогистологические признаки*: агрессивные формы гистологической структуры БКС (морфеоподобная, инфильтративная, базосквамозный тип, наличие периневральной инвазии) [35]. Клинические признаки опухоли с **низким риском**

рецидивирования: первичный очаг размером до 2 см в диаметре, расположение на коже туловища, конечностей. Патогистологические признаки: солидная структура [30].

Для выбора адекватной терапевтической стратегии необходимо учитывать целый ряд факторов, которые во многом определяют успешные результаты лечения:

- клинико-морфологические характеристики опухоли;
- первичный или рецидивный случаи;
- количество очагов (единичный или множественные);
- локализация опухоли;
- размеры и глубина инвазии опухоли;
- возраст больных и характер сопутствующей патологии;
- продолжительность заболевания;
- возможные осложнения;
- косметический эффект;
- психологическая комплаентность метода лечения;
- экономическая эффективность и доступность метода.

Сегодня накоплен большой опыт применения агрессивных методов терапии новообразований кожи: криотерапия, кюретаж, электродиссекция, хирургическое и микрохирургическое лечение по Mohs, радиохирургическая терапия. Эти методы можно считать первой линией терапии [44], они широко распространены, однако имеют целый ряд противопоказаний и достаточно высокий процент рецидивирования, в зависимости от метода. В обширном обзоре литературы сообщается, что самый высокий риск возникновения рецидива отмечается в

течение первых 5 лет после лечения этими методами и составляет 1 % при первичном БКК и 5,6 % при лечении рецидивирующего БКК [116]. При использовании методов первой линии в случаях лечения опухолей с низким риском рецидивирования (первичный очаг до 2 см с четкими границами при локализации на шее, туловище, конечностях, с неагрессивными гистологическими особенностями) рецидивы отсутствуют в 95 % случаев [47, 50]. Второй линией терапевтической стратегии БКК до сих пор остается признанной радиационная терапия в ее современных модификациях [44, 52], которая используется только в случаях солитарного БКК до 4 см в диаметре и имеет целый ряд существенных ограничений (множественные очаги, возраст пациентов до 45 лет, наличие тяжелой соматической патологии, рецидив опухоли на рубцово-атрофическом участке кожи, локализация БКК в зоне подлежащей хрящевой ткани, кровоточивость опухоли). Рецидивирование при данном методе составляет 7,5 % при первичном БКК [108] и увеличивается при локализации очагов в анатомически сложных областях до 30 %. При проведении лучевой терапии нередко возникает ряд осложнений (рентгеновский дерматит, перихондрит и др.), требующих длительного периода лечения и реабилитации [61]. Показанием для применения лучевой терапии служат солитарные очаги БКК кожи до 3 см в диаметре. Отмечена резистентность макронодулярной формы БКК солидного, солидно-аденоидного и аденоидного строения к лучевой терапии. Третьей линией терапевтической стратегии БКК, помимо усовершенствованных разрушительных методов, могут быть инновационные патогенетически обоснованные локальные или системные лекарственные воздействия на процесс канцерогенеза [63, 72]. Эти методы нередко комбинируются друг с другом, что обеспечивает хороший терапевтический и косметический эффект, позволяя сократить сроки лечения и реабилитации. К ним относятся: лазеро- и радиоволновая терапия; фотодинамическая терапия (ФДТ); ретиноиды (системно и топически); химиотерапия (системно и топически); цитокины внутриочагово (препараты интерферона- α_2 , интерлейкин). *Криодеструкция* — наиболее распространенный метод лечения БКК в амбулаторной практике, заключающийся в разрушении

опухоли путем ее замораживания жидким азотом. С помощью вариаций экспозиции криовоздействия и количества циклов замораживания–оттаивания обеспечивают наиболее эффективное воздействие на опухоль, приводящее к ее некрозу. Время экспозиции зависит от формы БКК, ее величины, глубины проникновения в ткани и может варьировать от 30 до 180 с [47]. Криодеструкцию проводят с захватом 1–1,5 см окружающей опухоль кожи. Однако все же это «слепой» метод определения возможных границ рассеивания опухолевых клеток. Кроме того, после болезненной процедуры замораживания ткани, развивается эритема с отеком, болезненность, затем образуются пузырь, некроз тканей опухоли и впоследствии формируется рубец. Эффективность криодеструкции, по данным разных авторов, составляет 70–98 % [47, 50]; высокая эффективность наблюдается обычно при небольших поверхностных и микронодулярных (классических) формах заболевания [50]. Из 546 больных БКК, пролеченных методом криодеструкции, по данным Ю.В. Сергеева и соавт. [38], рецидивы отмечены у 2 %, в то же время Т.Е. Сухова [47] сообщает о 7,5 и 22 % рецидивов после криотерапии первичного и рецидивного БКК соответственно. Такой разброс результатов, возможно, объясняется и разными сроками наблюдения за больными, которые не всегда авторы уточняют, так же, как и возможную причину рецидива. *Хирургический метод* заключается в иссечении опухоли в пределах 1,5–2 см окружающей здоровой кожи (при необходимости с последующей кожной пластикой). При хирургическом лечении возможны осложнения в виде нагноения послеоперационной раны, частичного или полного некроза трансплантата, замещающего дефект. По данным разных авторов, рецидивирование опухолей при хирургическом удалении варьирует от 2 до 41 %, что зависит от размеров опухоли, ее локализации, правильного определения границ опухоли и удаления всех опухолевых клеток [65, 71, 84]. Этот недостаток устраняется при *микрографической хирургической технике по F.E. Mohs* [72], заключающейся в послойном удалении опухоли с гистологическим исследованием криостатных срезов каждого слоя опухоли. Однако этот метод трудоемок, хотя гарантирует излечение 96–98 % первичных [53] и 90–94 %

рецидивирующих опухолей БКК [55], поэтому используется при локализации в проблемных анатомических зонах на лице (нос, носогубная складка, веки, околоушные зоны), при больших размерах опухоли (T_2 – T_3), нечеткости ее границ, при рецидивных формах, а также при опухолях, не поддающихся другим видам терапии. Противопоказания к хирургическому лечению БКК: преклонный возраст и тяжелые сопутствующие заболевания, непереносимость обезболивающих средств, невозможность полного удаления опухоли ввиду ее особой локализации (область вокруг глаз, нос, ушная раковина). *Близкофокусная рентгенотерапия* (БФ Ro^{00}) в настоящее время используется редко, в основном в случаях, если опухоль располагается в труднодоступных зонах, у пациентов, в основном зрелого возраста, которым не удалось радикально удалить опухоль другими методами. Противопоказаниями к ее использованию служат молодой возраст больных (до 45 лет), кровоточащие язвенные формы БКК, большие размеры опухоли, склеродермоподобная и множественная (иммунозависимые) формы, тяжелые сопутствующие заболевания пациента, а также престарелый возраст больных. Эффективность БФ Ro^{00} зависит от множества факторов (гистологического и клинического варианта опухоли, ее размеров, глубины проникновения в подлежащие ткани, степени ее радиорезистентности, а также от качества проводимой процедуры — равномерности облучения, централизации пучка и др.) [35, 88]. Частота рецидивов БКК после проведенной БФ Ro^{00} , по данным разных авторов, колеблется от 1,6 до 18 % [4, 7, 10, 29], а при локализации опухоли на лице, особенно в анатомически сложных областях (углы глаз, периорбитальные области, ушные раковины, носогубная складка и др.), частота рецидивов возрастала до 10–30 % [45, 113]. Местные лучевые реакции бывают в виде сухого или влажного эпидермита и достигают максимального развития к концу лучевого лечения или через 7–10 дней после его завершения.

Гамма-терапия — вид лучевой терапии, использующей гамма-излучение радионуклидов. Для лечения злокачественных опухолей кожи применяют внутритканевое (внутриопухолевое) облучение с помощью радионосных игл с радионуклидами (кобальт, радий, иридий) или, реже, аппликационное,

осуществляющееся с помощью аппликатора из пластических масс, повторяющего конфигурацию облучаемого участка кожи.

Лазерная хирургия — разрушение опухоли с помощью лазерного излучения, вызывающего коагуляционный некроз тканей с четкими границами. Источники лазерного излучения — углекислый, неодимовый и аргоновый лазеры. Широкому распространению этого метода способствовали, помимо клинической эффективности, хороший косметический эффект, щадящий характер воздействия, минимальная кровопотеря [20, 24, 48]. Под сухой коагуляционно-некротической корочкой, препятствующей инфицированию очага, процессы регенерации протекают быстрее [39]. При использовании импульсного режима лазеротерапии (неодимовый лазер) эффективность достаточно высокая, рецидивы заболевания наблюдаются в 1,1–3,8 % случаев при первичном БКК и в 4,8–5,6 % — при рецидивном БКК, в то время как при использовании непрерывного режима (углекислый лазер) рецидивы заболевания отмечены в 2,8 и 5,7–6,9 % соответственно [59]. Ряд авторов считают основным показанием для лазеротерапии поверхностный БКК. *Электрокоагуляция и кюретаж* применяется наиболее часто при БКК. Особенностью этой методики является простота выполнения и быстрое получение желаемого результата, однако здесь отсутствует гистологический контроль, что повышает риск возникновения в последующем рецидивов, есть вероятность повреждения нервов, связок, сосудов, формирование рубцов и зон гипопигментации, что приводит к недостаточному косметическому результату. В силу отсутствия гистологического контроля после проведения данной методики лечения возрастает риск возникновения рецидивов (до 40%) [60]. *Химиотерапия*-местное и системное применение цитостатических препаратов. Для местного применения в настоящее время используют 5% фторурациловую, 5—10% фторафуровую, 30—50% проспидиновую, 0,5—10% омаиновую (колхаминовую), 30% глицифоновую мази. Мази должны наноситься на участок БКК с захватом 0,5 см здорового участка, а вокруг мази создается защитная повязка вместе с цинковой пастой. Курс такого лечения зависит от формы БКК, но в среднем составляет 14-21 день [45]. Стоит отметить, что

эффективность метода довольно низкая. Применяется он редко и только при поверхностных базалиомах. За рубежом в целях химиотерапии применяют системные цитостатики блеомицин и цисплатин с целью уменьшить очаг опухоли для дальнейшего хирургического иссечения опухоли, уменьшившейся в размере [48]. Однако эффективность метода довольно низкая (60—78%), а степень рецидива высокая [28]. *Фотодинамическая терапия* –это эффективный и неинвазивный метод лечения, сущность которого заключается в фотодинамическом повреждении опухолевых клеток. Фотосенсибилизаторы, обладающие избирательной чувствительностью к опухолевым клеткам, накапливаются в них, а под действием кислорода и источника лазерного излучения, происходит фотохимическая реакция с последующим некрозом и резорбцией опухоли. Основным недостатком метода является выраженная болезненность при проведении процедур, возможность развития токсических реакций и общая фоточувствительность, которая продолжается от 3—5 дней до 4—8 нед [48]. Например, сообщалось, что у пациентов после проведения ФДТ отмечалось сильное, нестерпимое жжение в области облучения, местный отек, зуд и эрозия. Поэтому, выбирая наиболее подходящее вмешательство, следует учитывать баланс между количеством негативных реакций и более высокой эффективностью [49]. *Иммуномодулирующая терапия*, как инновационный метод цитокинотерапии, характеризуется местным и системным применением иммуномодулирующих препаратов. Современные и актуальные методы лечения БКК, включают длительное применение топических вариантов иммуномодулирующих препаратов, таких как 5-фторурацил (FU) и имихвимод (ИМ) крем [21]. Механизм противоопухолевого действия 5-фторурацила реализуется через функцию повреждения клеток путем ингибирования синтеза ДНК, из-за его способности конкурировать с тимидилатсинтетазой и встраиваться в РНК и ДНК опухолевых клеток [20]. Что касается имихвимода, то препарат является модификатором клеточного иммунного ответа [21].

Имихвимод имеет более высокий успех лечения, чем процедура фотодинамической терапии (ФДТ) с фотосенсибилизатором аминолевулином,

однако в исследовании показано, что у пациентов, старше 60 лет, с поверхностной формой БКК на нижних конечностях, лечение методом ФДТ с аминолевулином эффективнее, чем применение имихимода у этой категории пациентов [21]. Имихвимод превосходит фотодинамическую терапию при лечении поверхностных форм базальноклеточной карциномы [21]. Современные методы лечения, включающие применение препарата имихимод и ФДТ (фотодинамическая терапия) были тщательно исследованы и являются хорошей альтернативой для хирургических методов лечения, однако только при поверхностной форме базально-клеточного рака кожи, отличающейся длительным, условно доброкачественным характером течения [48]. Показан более выраженный результат лечения имихвимодом у женщин, по сравнению с мужчинами, который может быть объяснен с позиции модификации иммунного ответа. Так, показано, что женские эстрогены имеют положительные гормональные эффекты на цитокины в иммунном ответе. Эстроген стимулирует секрецию нескольких цитокинов, что потенцирует и усиливает эффект имихимода для иммунного ответа [47]. В России уже имеется опыт успешного применения препаратов рекомбинантного интерферона $\alpha 2$ в виде внутритканевой терапии, который может быть успешно использован в качестве самостоятельного метода или в составе комплексной терапии при некоторых клинических разновидностях БКК. Один из методов, разработанный Е.С. Снарской и М.Челюкановой включал в себя применение интелейкина (ИЛ-2) (ронколейкин) для лечения больных поверхностной формой БКК. Другая методика лечения поверхностных первичных форм БКК заключалась в использовании двух препаратов рекомбинантного интерферона 2а (реаферона) в виде внутритканевых обкалываний опухоли в однократной дозе 1,5—2 млн МЕ через день (на курс 15—20 млн МЕ) в сочетании с вифероном в свечах (per rectum) в дозе 1 млн МЕ/сут (на курс 10 млн МЕ) и геля Виферон местно [50]. После проведения интерферонотерапии отмечается саморегресс большинства опухолей. К компенсаторным иммунокорректорам относятся препараты интерферона: ИФН- α_{2b} (интрон, инрек, виферон); ИФН- α_{2c} (берофор); ИФН- β (β -ферон); ИФН- γ (γ -

ферон). К иммуностимуляторам относятся индукторы интерферона : циклоферон, неовир, амиксин, ридостин [55].

Сегодня накоплен значительный опыт применения агрессивных методов терапии новообразований кожи, однако с учетом частоты, вариабельности, локализации на лице и прогрессирующего роста опухоли, приводящего к разрушению жизненно важных органов, ни один из методов не является идеальным для эффективного лечения всех форм БКК, особенно для пациентов пожилого возраста. Для оптимизации выбора терапевтической стратегии в случаях БКК у пожилых пациентов, с труднодоступной локализацией, очагами большого размера, глубокой инвазией и поздними стадиями заболевания, множественными очагами поражения, многократными рецидивами, необходим дифференцированный подход и поиск новых путей лечения, так как стандартные методы терапии мало эффективны. Попытки использования препаратов человеческого лейкоцитарного ИФН в виде ингаляций, лейкинферона, реаферона, интрона А в виде инъекций в комбинации с другими методами подтверждали целесообразность использования ИФН-терапии, однако оценка результативности была противоречивой, что обуславливалось малым количеством наблюдений, разнородностью материала и методик [50,55,74,89,120]. Направленность основного влияния ИФН во многом зависит от дозы и кратности введения, что усложняет разработку тактики его использования. Конкретный тип ИФН статуса определяет уровень реактивности системы ИФН на патологическое воздействие.

Таким образом, анализ литературных данных свидетельствует не только о необходимости расширения профилактических осмотров с целью раннего выявления новообразований кожи, но и проведения исследований значимых параметров противоопухолевого иммунитета для оптимизации полноценного лечения, так как результат успешной противорецидивной терапии зависит, как от стадии опухолевого процесса, так и готовности системы противоопухолевой защиты организма. Использование цитокинов в терапии новообразований кожи

является одним из перспективных направлений в современной дерматоонкологии, прежде всего за счет патогенетического пути реализации лечебного эффекта и простоты применения даже в условиях амбулаторной практики.

1.8. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия в исследовании кожи

Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ) – это аппаратная методика неинвазивного морфологического исследования кожи, позволяющая оценить особенности дермальных структур при различных патологических процессах на клеточном уровне [58]. Впервые возможности конфокальной лазерной сканирующей микроскопии были описаны Marvin Minsky в 1955 году, однако технология не использовалась в медицине до 1990-х, когда Rajadhyaksha et al. продемонстрировали возможности данной технологии в сканировании кожи [76]. Основным принципом конфокальной микроскопии является использование точечного источника света, освещающего маленький участок внутри ткани, с последующим улавливанием отраженного света через оптически соединенную апертуру. Отраженный свет проходит через апертуру, далее находящийся в фокусе свет достигает детектора, а свет вне фокуса отклоняется, вследствие чего определяется единственный план внутри образца, расположенный в фокусе [79, 83]. При использовании конфокального лазерного микроскопа Vivascope 1500, Lucid Inc. лазерное сканирование осуществляется на длине волны 830 нм с оптической мощностью не более 16 мВт, что не вызывает повреждение ткани или поражение глаза. Линза объектива обладает 30-кратным увеличением, при этом боковое и осевое разрешения составляют 1 мкм и 5 мкм соответственно. В микроскопе используется водная иммерсионная линза, что сводит к минимуму сферическую абберацию, вызванную поверхностными эпидермальными слоями клеток при получении изображения дерме. Сканирование производится в плоскостях XY 4×4 мм с размером кадра 0,5×0,5 мм, частотой 9 кадров в секунду

[91]. С помощью данной системы получается изображение до 300 мкм в глубину, что позволяет визуализировать структуры эпидермиса, дермо-эпидермального соединения, сосочковой дермы [93]. Изображение, получаемое с использованием данной методики, представляет собой двухмерную картину бело-серо-черных оттенков. Отражение света возникает в результате различия в коэффициенте преломления для каждой отдельной структуры внутри ткани. Структуры, содержащие меланин и кератин (меланоциты, кератиноциты), сильнее всего отражают свет, поэтому на изображении выглядят ярко-белыми [94]. Структуры же, не имеющие в своем составе данных субстратов, - ядра, плазма, артефакты - воспроизводятся в виде темных и черных изображений [95]. В настоящее время КЛСМ находит все более широкое применение в алгоритмах диагностического поиска в крупнейших медицинских центрах стран Европы и США, но наиболее актуальным является применение в дерматоонкологии, где ранняя постановка диагноза значительным образом отражается на прогнозе заболевания, выборе метода лечения, косметических результатах и качестве жизни пациентов после проведенного лечения [97]. Достаточное количество научных исследований посвящено диагностике меланом и дифференциальной диагностике с доброкачественными меланоцитарными новообразованиями кожи и определению субклинических краев опухоли для выбора адекватных границ резекции с помощью КЛСМ [100]. Данный метод может быть использован и в диагностике злокачественных эпителиальных опухолей кожи, в частности базально-клеточной карциномы. К настоящему времени накоплен внушительный опыт исследований, посвященных использованию КЛСМ в диагностике БКК [101]. Проведенный мета-анализ работ, изучивших 331 элемент базально-клеточного рака, показал суммарные 97% чувствительность и 93% специфичность данной методики в верификации диагноза БКК [102]. Основными диагностическими критериями БКК являются 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, явление

расположения клеток параллельно одной оси, наличие дендритических клеток в окружающем эпидермисе (клетки Лангерганса), наличие округлых светлых клеток, воспалительного инфильтрата, увеличенный диаметр просвета сосудов, наличие ветвящихся сосудов [109]. Кроме того, ряд исследователей разрабатывает критерии соответствия черт КСЛМ различным гистологическим формам БКК (поверхностной, нодулярной, инфильтративной) [112,113]. Неоценимым достоинством метода конфокальной микроскопии является возможность контроля над ходом лечебного процесса БКК, оценки его в динамике, что подтверждают множественные работы, проводящие мониторинг состояния опухоли после криодеструкции, лазерной абляции, лучевой терапии, фотодинамической терапии, а также интраоперационно в ходе операции по Мохс [114]. Однако, по мнению D. J. Kadouch et al., необходимо проведение дополнительных высококачественных проспективных исследований для того, чтобы данная методика, наравне с традиционным гистологическим исследованием, стала методом выбора в диагностике БКК [97]. В доступной нам отечественной и иностранной литературе, мы не нашли исследований, посвященных анализу и системе сопоставления параметров дерматоскопического и КЛСМ методов диагностики различных клинико- морфологических вариантов БКК.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Общая схема исследования

Работа выполнена на базе кафедры и клиники кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и амбулаторно-поликлиническом приеме в КДО 2 УКБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им И.М. Сеченова МЗ РФ, кафедре кожных и венерических болезней института последипломного образования ИПО ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) на клинической базе отделения дерматоонкологии и дерматовенерологии МОНИКИ им М.Ф.Владимирского в период с 2014 по 2017 гг. Работа проводилась с соблюдением этических принципов, предъявляемых Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, 2000 ред.).

Получено разрешение локального этического комитета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России от 10.12.2014 года. Согласно поставленным целям и задачам была сформирована исследуемая группа пациентов в количестве 75 человек.

Критерии включения пациентов в исследование:

- Диагноз «Базальноклеточная карцинома с характеристиками T1-2N0M0»
- Возраст от 30 до 85 лет
- Понимание пациентом сути исследования и подписание информированного согласия.
- Высокая готовность следовать предписаниям врача.
- Пациент не должен использовать другие методы лечения БКК, в том числе самолечение, за исключением предложенных исследователем.

Критерии исключения из исследования:

- Несоответствие критериям включения.
- Нежелание пациента участвовать в исследовании по каким-либо причинам.
- Дерматологическая патология, которая, с точки зрения исследователя, может повлиять на оценку эффекта терапии БКК (розацеа, псориаз, периоральный, простой или аллергический дерматит и др.).
- Наличие сопутствующей соматической патологии у пациентов в стадии обострения, онкологические заболевания, нарушения функции печени, психические расстройства, системные заболевания соединительной ткани, сахарный диабет, абсцессы.
- Острые инфекционные заболевания.
- Наличие в анамнезе инфицирования ВИЧ, вирусом гепатита В или С, туберкулезом.
 - Достоверный анамнез или наличие в настоящее время симптомов хронического инфекционного заболевания, системного расстройства, заболевания органа или другого медицинского состояния, которое, по мнению исследователя, может подвергнуть исследуемого излишнему риску при его включении в исследование.
 - Алкогольная зависимость или наркомания в период 12 месяцев до начала исследования.

В группу исследования включены 75 пациентов с установленным 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. Из сопутствующей патологии у 19 пациентов отмечался хронический гастрит вне обострения, 9 - хронический тонзилит, 24 - ишемическая болезнь сердца, 6- хронический бронхит, 12 – вегетососудистая дистония, 4 –

мигрень, 1 – пролапс митрального клапана, 2 – язвенная болезнь желудка вне обострения.

До лечения всем пациентам проводилось обследование, включающее стандартный протокол лабораторного обследования, (общий анализ крови, биохимический анализ крови, общий анализ мочи), кроме того, проводился комплекс иммунологических исследований, включающий показатели интерферонового статуса пациентов (ИФН- α , - β и ИФН- γ) (первая точка исследования), патоморфологическое исследование, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ), дерматоскопия. В процессе курсового лечения (вторая точка исследования) и после лечения (третья точка исследования) всем пациентам проводился комплекс иммунологических исследований, включающий показатели интерферонового статуса пациентов, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ), дерматоскопия. Общий протокол лечения и исследований представлен на рисунке 1.



Рисунок 1. Общий протокол лечения и исследований

Все пациенты до, по окончании и через 1 месяц после завершения курса лечения проходили процедуру фотографирования. Фото документация осуществлялась с помощью цифровой фотокамеры Nikon D80 с разрешением 10,2 мегапикселей (максимальное разрешение снимка — 3872×2592) и объективом с переменным фокусным расстоянием. В дальнейшем снимки архивировались на персональный компьютер через файлообменник. Для объективизации исследования, всех пациентов фотографировали с использованием равноценного формата и параметров фотографирования. Использовались стандартные проекции положения частей тела пациента относительно фотокамеры и условия фотографирования (угол освещения, фон).

2.2. Изучение уровня противопухоловой защиты и напряженности противоопухолевого иммунитета по показателям совокупных параметров интерферонового статуса пациентов

Оценка уровня противопухоловой защиты и напряженности противоопухолевого иммунитета проводилось по показателям совокупных параметров интерферонового статуса пациентов. Определение концентрации в периферической крови интерферонов (ИФН- α , - β , - γ), проводилось 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 , - γ), ИФН - β не продуцируется лимфоцитами, поэтому его отдельно не исследуют.

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 ИФН: <8 Ед/мл;
- спонтанный ИФН: <2 Ед/мл;
- ИФН α -интерферон: взрослые – 640 - 1280 Ед/мл. (норма)
- ИФН γ -интерферон: взрослые - 128 - 256 Ед/мл (норма)

2.3. Инвазивные методы исследования

2.3.1. Патоморфологическое исследование ультраструктурных особенностей основных морфотипов базальноклеточной карциномы

Процедура биопсирования ткани проводилась под местной анестезией 2% р-ом новокаина, полученный материал (кусочек кожи размером 0,5х0,5см) фиксировали в 10%-ном растворе формалина, забуфференном по Лилли при pH-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 у 75 пациентов.

2.4. Неинвазивные методы исследования

2.4.1. Исследование изменений эпидермиса и дермы в очагах поражения методом дерматоскопического исследования

Применение неинвазивных методов обследования является одной из актуальных тенденций современной дерматологии. Эти методы позволяют провести морфофункциональную оценку кожных покровов без нарушения их целостности, а также провести оценку эффективности проводимого лечения (Индилова Н.И., 2012; Vas K., Gaal M. et al., 2014; Ulrich M., Lange-Asschenfeldt S., 2013; Grant-Kels J.M., Pellacani G. et al., 2016).

Дерматоскопический метод исследования очагов БКК, проводился с помощью дерматоскопа модели « Molescope » (Канада) у 21 пациента до и через 1 месяц после проведенного лечения.

2.4.2. Исследование морфологических изменений эпидермиса и дермы в очагах поражения методом конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии

Конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия - метод неинвазивной диагностики, который позволяет оценивать строение структур кожи *in vivo*, т.е. изучать морфологию кожи в режиме реального времени, без нарушения целостности кожных покровов, в четырех измерениях - глубина, ширина, длина и время, а также контролировать процессы заживления и регенерации тканей. КЛСМ позволяет получать изображения эпидермиса и поверхностной части дермы с разрешением близким к традиционной световой микроскопии: можно визуализировать не только придатки кожи, но и различить клетки различных слоев эпидермиса, волокна сосочкового слоя дермы, микроциркуляторное русло дермы. В отдельных случаях можно оценить морфологические особенности некоторых видов клеток [26]. Среди преимуществ

метода следует отметить быстроту получения результата обследования по сравнению с классическим патогистологическим исследованием, неинвазивность метода, безболезненность для пациента, отсутствие рубцов [100, 102]

Для КЛСМ используется диодный лазер с длиной волны 830 нм и силой <22 мВт, что позволяет получить прижизненное изображение кожи на клеточном уровне и распознать наличие признаков воспаления, изменений в стенке фолликула как в визуально еще не измененной коже, так и в патологическом очаге [119]

КЛСМ проводилась на конфокальном лазерном сканирующем *in vivo* микроскопе VivaScope® 1500 (Lucid® Inc., Рочестер, Нью-Йорк, США) (рисунок 2) с длиной волны 830 нм и максимальной выходной мощностью 22 мВт, путем получения дерматоскопического изображения в режиме VivaCam, послойных срезов VivaStack с шагом 3 мкм до максимально возможной глубины и квадратных горизонтальных срезов VivaBlock с полем зрения от 3*3 мм до 8*8 мм. В качестве иммерсионных средств были использованы масло Crodamol STS® и индифферентный гель для ультразвукового исследования.

Пациент располагался в положении лежа на кушетке. Окно с клейким фиксирующим краем прикреплялось к металлическому магнитному кольцу. На внешнюю сторону окна, которая прикладывалась к очагу поражения у пациента, наносилась капля иммерсионного масла и фиксировалась на коже пациента. С помощью камеры VivaCam регистрировалось макроизображение, после чего на очаг наносилось небольшое количество геля для ультразвуковых исследований. К магнитному кольцу фиксировался объектив лазерного сканера VivaScope 1500 Standart, затем проводилось сканирование обследуемого участка и получением послойных электронных изображений.



Рисунок 2. Конфокальный лазерный сканирующий *in vivo* микроскоп VivaScope® 1500 (Lucid® Inc., Rochester, Нью-Йорк, США)

Опорными точками для оценки изображений служило наличие визуальных признаков опухолевого, воспалительного инфильтрата, расширенных кровеносных сосудов и изъязвления. Производилось исследование у 21 пациента с БКК в фиксированных точках на уровне поверхностной дермы на глубине 150-200 мкм до и через 1 месяц после проведенного лечения.

2.4.3. Система оценки снимков, полученных методом КЛСМ

С целью диагностики БКК исследовали следующие параметры снимков, полученных методом КЛСМ: толщина эпидермиса, характер геометрии борозд кожи, наличие атипичной структуры «медовых сот», пестрой пигментации, полициклических контуров сосочков дермы, а также структура дермального слоя кожи, представленные в Таблице 1 [43, 58].

Таблица 1. Система оценки признаков БКК методом КЛСМ

Признак, выявляемый методом КЛСМ	Описание признака	Гистопатологическая корреляция
Атипичная структура «медовых сот»	Визуализируется в виде полигональных кератиноцитов различных формы и размера, границы клеток не всегда определяются в пределах данной структуры. Оценивалась по площади, занимаемой в зоне исследуемой области (0%/<10%/ 10-50%, >50%)	Различная степень дискератоза
Крапчатая пигментация	Наличие кластеров светлых кератиноцитов в составе структуры «медовых сот» Оценивалась по площади, занимаемой в зоне исследуемой области (0%/<10%/ >10%)	Пигментированные кератиноциты в супрабазальных слоях эпидермиса
Полициклические контуры сосочков	Булавовидные проекции и тяжи, иногда анастомозирующие между собой со сложным извитым расположением. Площадь, занимаемая в зоне исследуемой области (0%/<10%/ >10%)	Анастомозирующие между собой эпидермальные гребни
Наличие чешуек	Аморфный материал с различной отражающей способностью (нет/есть)	
Гиперкератоз	Толщина рогового слоя более 15 мкм	Гиперкератоз
Полная дезорганизация кератиноцитов с	Полная утрата нормальной архитектоники шиповатого и	Дисплазия эпидермиса

утратой паттерна “медовых сот”	зернистого слоев эпидермиса (нет/есть)	
Наличие округлых клеток, содержащих ядра, в шиповатом/ зернистом слоях	Резко очерченные светлые клетки небольшого размера, овальной или округлой формы (нет/есть)	Экзоцитоз (воспалительный инфильтрат)
Наличие расширенных сосудов	Сосуды, расположенные параллельно плоскости снимка, в просвете визуализируется движение форменных элементов крови (нет/есть)	Расширение сосудистой сети

Такие признаки, как наличие крапчатой пигментации, полициклических контуров сосочков дермы, оценивался по принципу: отсутствие, наличие менее 10%, наличие более 10%. Признак атипичной структуры «медовых сот» был оценен с использованием следующей градации: отсутствие, наличие менее 10%, от 10 до 50%, более 50%. Для характеристики очагов БКК дополнительно использовались такие признаки, как наличие чешуек, полная утрата структуры «медовых сот», наличие светлых клеток и сосудов, расположенных параллельно снимку, в дерме. В отношении данных параметров оценка проводилась по принципу определения наличия или отсутствия искомого признака.

2.5. Статистический метод

Статистический анализ данных проводился с использованием статистического непараметрического критерия - точного метода Фишера, не зависящего от характера распределения показателя. Этот критерий непосредственно применим для сравнения дискретных переменных, причем точный метод Фишера можно применять даже в тех случаях, когда значение признака встречается очень редко (вплоть до нуля).

Для каждого признака (из числа включенных в анализ) проводилось попарное сравнение заданных групп пациентов (реализаций), выявлялись достоверные различия. Вычислялся также относительный риск каждой градации факторов риска (признаков) с доверительным 95% интервалом. Для формирования графиков, а также для проверки нормальности распределения количественных признаков, получения описательной статистики и проведения сравнения сформированных групп пациентов использованы пакеты программ EXCEL 2010 и STATISTICA 6.0. Различия считали статистически достоверными при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Клиническая характеристика больных, включенных в исследование

Клинико-морфологическое фенотипирование и комплекс иммунологических исследований нами проведен у 75 больных, находившихся на стационарном лечении в клинике кожных и венерических болезней им. В.А. Рахманова ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и амбулаторно-поликлиническом приеме в КДО 2 УКБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ, кафедре кожных и венерических болезней ИПО ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) на клинической базе отделения дерматоонкологии и дерматовенерологии МОНИКИ им М.Ф. Владимирского.

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 варьировал от 32 до 83 лет и в среднем составлял $57,5 \pm 25,5$ лет, из них 51 женщина (68 %) и 24 мужчины (32%) (Рисунок 3).



Рисунок 3. Гендерный состав пациентов

Из сопутствующей соматической патологии в анамнезе пациентов встречались: болезни органов пищеварения (хронический гастрит – у 19 пациентов, язвенная болезнь желудка вне обострения - у 2 пациентов), болезни ЛОР-органов (хронический тонзиллит – у 9 пациентов), заболевания органов дыхания (хронический бронхит у 6 пациентов), заболевания сердечно-сосудистой системы (хроническая ишемическая болезнь сердца – у 24 пациентов, пролапс митрального клапана – у 1 пациента), вегетососудистая дистония – у 12 пациентов, мигрень - у 4 пациентов (Рисунок 4), (Таблица 2).

Наиболее часто встречающаяся сопутствующая патология среди пациентов, включенных в исследование

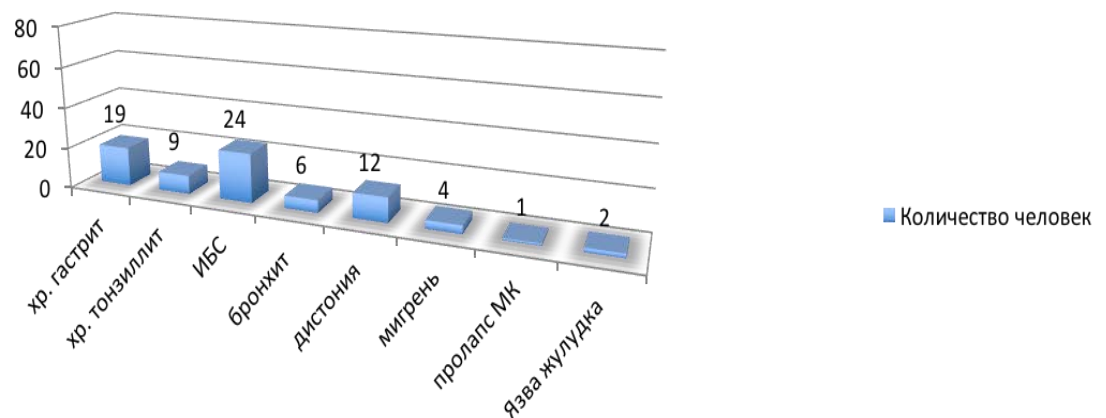


Рисунок 4. Сопутствующая соматическая патология у пациентов

Таблица 2. Сопутствующая соматическая патология у пациентов, включенных в исследование

Сопутствующие заболевания		Количество пациентов (n = 75)	% от общего количества пациентов (n = 100 %)
Заболевания органов пищеварения	Хронический гастрит	19	25,3 %
	Язвенная болезнь желудка (вне обострения)	2	2,4 %
Заболевания сердечно-сосудистой системы	Пролапс митрального клапана	1	1,3 %
	Ишемическая болезнь сердца	24	32%
Заболевания ЛОР-органов	Хронический тонзиллит	9	12 %
Заболевания органов дыхания	Хронический бронхит	6	8 %
Вегетососудистая дистония		12	16 %
Мигрень		4	5, 3%

В результате клинико-диагностического фенотипирования 75 пациентов, нами установлено, что в структуре базальноклеточной карциномы поверхностная форма, включающая *язвенную, пигментную, саморубцующую, гигантскую* разновидности, диагностирована у 21 пациента, что составило 29 % в структуре исследуемой патологии. Нодулярная форма БКК, включающая *нодулярно-язвенную, инфильтративную, кистозную, пигментную* разновидности, диагностирована у 54 пациентов, что составило 71%. (Таблица 3)

Таблица 3. Распределение очагов БКК по клиническим формам

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

Среди анализируемой группы пациентов (п -75), у 37 диагностированы рецидивирующие поверхностные и нодулярные опухоли формы БКК и у 38 первичные поверхностные и нодулярные опухоли БКК. Таким образом клинические варианты БКК с рецидивирующим характером течения составили 49, 3% (37 пациентов) в общей структуре патологии (Таблица 4).

Основные Клинические формы БКК	Количество пациентов	
	Количество пациентов Абс. (п- 75)	Количество пациентов % (п-100%)
Первичный очаг БКК	38	50, 7%
Рецидивный очаг БКК	37	49, 3%

Таблица 4. Распределение очагов БКК по характеру течения

В дальнейшем все пациенты, были разделены на группы, в зависимости от основных характеристик опухоли по системе **TNM** (где Т - размер, N – наличие увеличенных лимфатических узлов, М – наличие метастазов). Кроме того, во всех случаях мы оценивали параметр - **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 $T_1 N_0 M_0$ (размером до 2 см) с I, II - ой степенью изъязвления диагностированы у 35 пациентов, из которых было 17

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

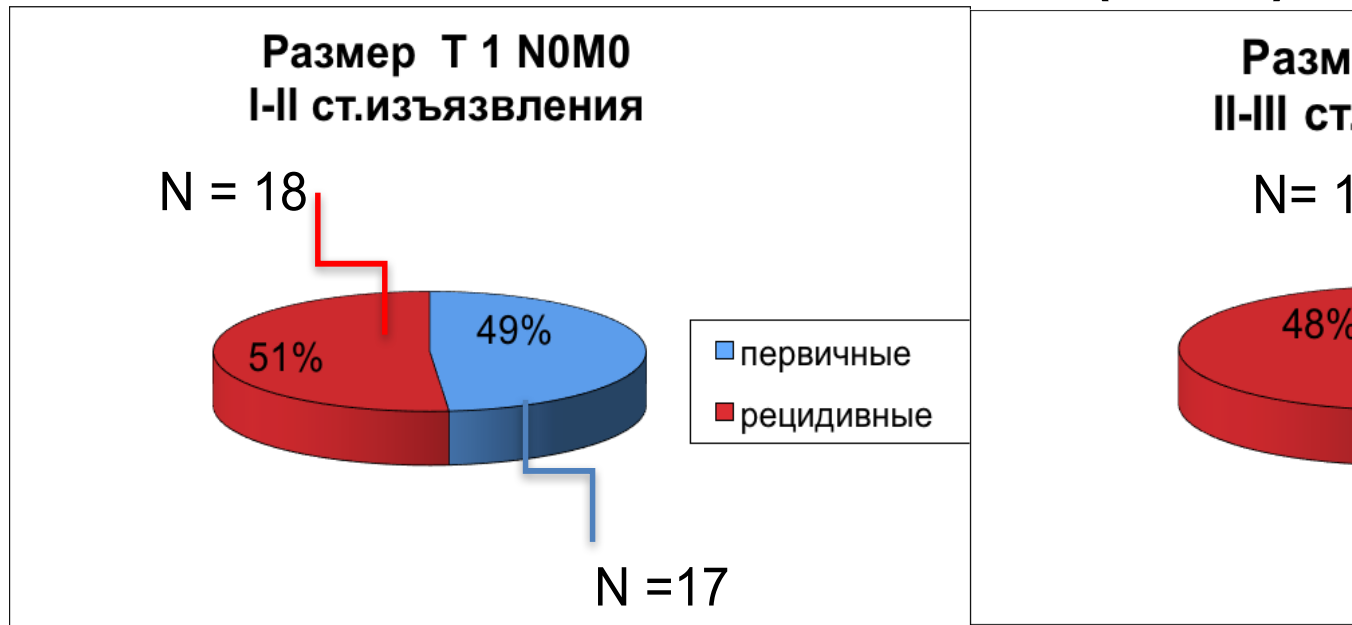


Рисунок 5. Характеристика 2-ой группы базальноклеточной карциномы $T_1 N_0 M_0$ (до 2 см) с I-II степенью изъязвления. Наблюдались в 35 N – наличии степени изъязвления. В 17 случаях из них 17-первичных опухолей (49%) и 18 рецидивных форм БКК (51%)

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. Такое детальное подразделение опухолей в пределах групп $T_{1-2} N_0 M_0$ оказалось важным для дальнейшей оценки эффекта и терапевтических рекомендаций (Рисунок 6).

Ов базальноклеточной карциномы системе TNM (n -75)

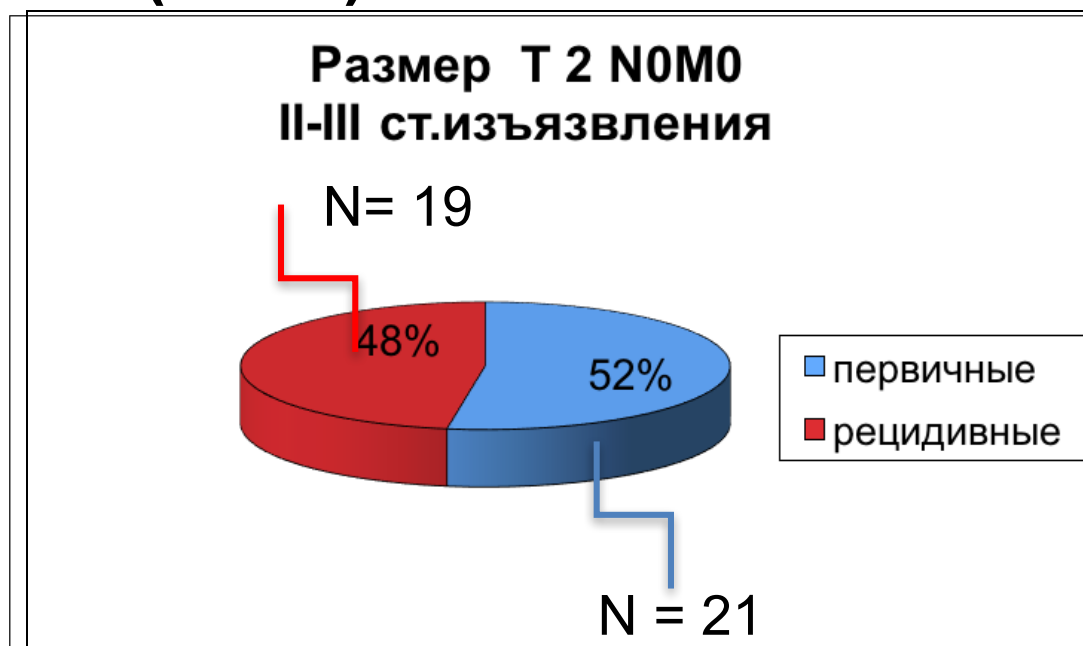


Рисунок 6. Характеристика очагов базальноклеточной карциномы T₂ N₀ M₀ Опухоли T₂ N₀ M₀ (более 2 см) с II и III - ей (более 2 см) по системе TNM (где Т - размер, N – наличие увеличенных лимфатических узлов, М – наличие метастазов) наблюдались в 40 случаях, из них 21 первичные опухоли (52 %) и 19 рецидивных форм БКК (48 %)

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, нодулярно-инфильтративной формами опухоли. В 18,1 % случаев опухоли локализовались на закрытых участках кожного покрова и были представлены в основном поверхностными вариантами БКК. Мы наблюдали первично-множественные очаги у 18 больных (24%), как с нодулярной, так и поверхностной формами БКК. Локализация БКК в области головы отмечалась в 67, 5 % случаев, в 4,5 % 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 %, в области декольте – 4,5 %, в области шеи – 4,5 %, в области груди – 4,5 %, в области живота – 4,5 %, в области бедра – 4,5 %, в области голени – 4,5 %, в области стопы – 4,5 %.

на висках – 1,7 %, на коже лба – 7 % (Таблица 5). Прочие локализации отмечены всего в 0, 1 % случаев, как очень редкие атипичные и не учитывались в исследовании.

Таблица 5. Особенности анатомической локализации очагов БКК

Анатомическая локализация очагов БКК	Количество пациентов	
	Абс. (п-75)	% (п-100%)
Лоб	8	7%
Носо-губной треугольник	5	4,6 %
Нос	21	23,9 %
Щека	12	13,7 %
Угол глаза	5	3,8 %
Височная область	2	1,7 %
Волосистая часть головы	4	3, 2%
Туловище	4	4, 5 %
Нижние конечности	1	1,2 %
Верхние конечности	1	1,3 %
Уши	3	1 , 9%
Околоушная область	4	3, 3 %
Периорбитальная зона	5	4,5 %

Итого:	75	100 %
---------------	-----------	--------------

При анализе особенностей локализации первичных и рецидивных вариантов БКК мы установили, что локализация первичных и рецидивных форм БКК полностью совпадает, это преимущественно кожа головы. Так, по нашим данным, на коже носа частота локализации первичных опухолей БКК составляет 24,8%, а рецидивных – 25% соответственно; в зоне носогубно треугольника – 5,5 и 6,2 % соответственно; коже щёк 17,5 -17,1 % соответственно; в периорбитальной зоне 8,7 – 6,7 % соответственно, в височной области 10,0 – 8,1% соответственно; на коже лба 8,5 – 6,2 %; ушной зоны 2,3 - 3,2% соответственно; коже подбородка 1,8 – 2,7 % соответственно (Рисунок 7).

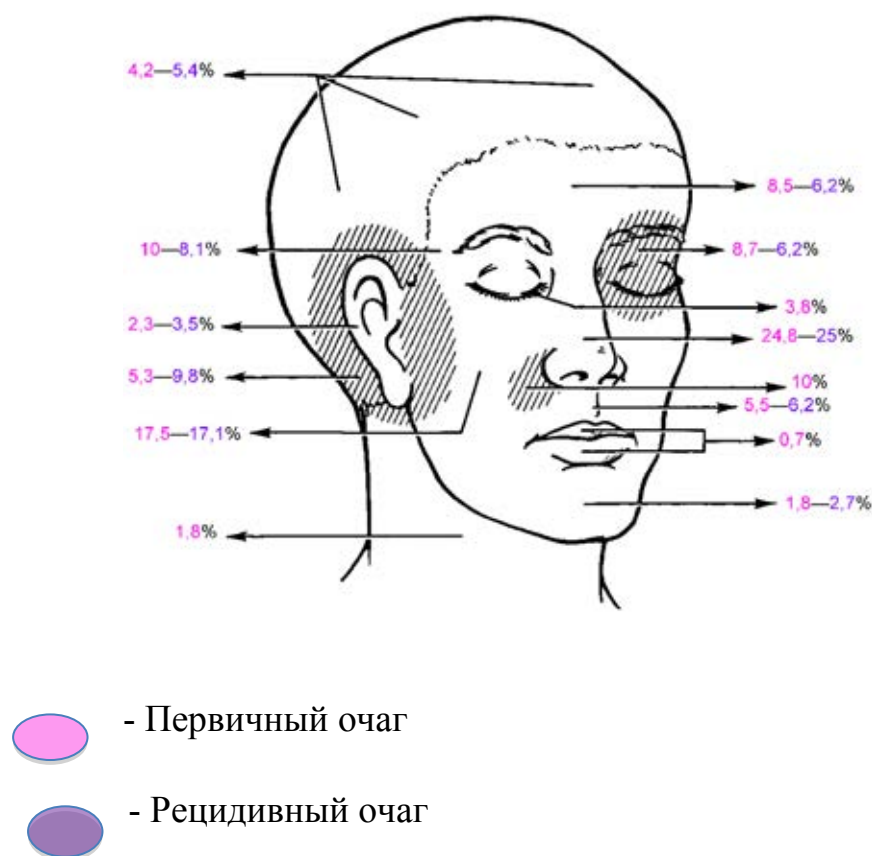


Рисунок 7. Локализация первичных и рецидивных вариантов БКК

Рецидивирующий характер течения БКК, представляющий собой местно-деструктивные нодулярно-язвенные и нодулярно-инфильтративные варианты БКК, является одним из факторов, способствующий усилению степени агрессивности опухоли даже небольших размеров и формированию агрессивных метастазирующих форм (метатипического рака кожи), особенно при давности онкологического анамнеза более 5 лет. В нашем исследовании так же установлено, что в анамнезе больных в 2,8 раза чаще отмечены контакты с производственными вредностями, в 6,8 раза чаще развитию БКК предшествовала механическая травма, в 8,8 раза выявлено наличие предопухолевых изменений кожи в виде наличия множественных очагов актинического и себорейного кератоза, кератопапиллом, эпидермальных кист, бородавчатого невуса.

3.2. Ультраструктурные особенности основных морфотипов базальноклеточной карциномы как фактор биологического поведения опухоли

Ультраструктурные особенности патоморфологической структуры базальноклеточной карциномы, характеристики опухоли и частота различных вариантов сочетания патоморфологических признаков нами были изучены на основании анализа 223 биоптатов кожи взятых из очагов БКК у 75 пациентов с основными клиническими формами БКК. Нами было показано, что в структуре морфотипов опухолей основную долю составлял смешанный морфотип, который встречался в 45%, солидный тип опухоли составлял 18 %, несколько реже встречался поверхностный мультицентрический морфотип - 13,7 %, аденоидный - 11 %, морфотип морфеа составил 7 %, также БКК с пилоидной и сальной дифференцировкой, составившие 5% (рисунок 8). Среди анализируемых биоптатов в 0,3 % случаев нами была выявлена структура базосквамозной карциномы.



Рисунок 8. Основные морфотипы базальноклеточной карциномы

Нодулярный морфотип строения БКК (син. солидный), верифицирован нами в 18 % случаев и представляет собой наиболее частый из всех недифференцированных форм БКК, представлен компактно расположенными комплексами базалоидных клеток в виде тяжей и ячеек различных размеров и формы, напоминающих синцитий с характерной группировкой клеток вытянутой формы типа «частокола», окружающего эти комплексы (Рисунок 9, 9а). Опухолевые комплексы инфильтрируют дерму, имеют различные размеры и форму. (Рисунок 10) Клетки в центре комплексов могут подвергаться изменению дифференцировки в виде дискератоза с явлениями псевдоэпителиоматозной гиперплазии (Рисунок 11), дистрофическим изменениям, отчего эпидермис в пределах опухоли нередко некротизируется, формируется центральное изъязвление (Рисунок 12) или кисты (солидно-кистозный вариант).

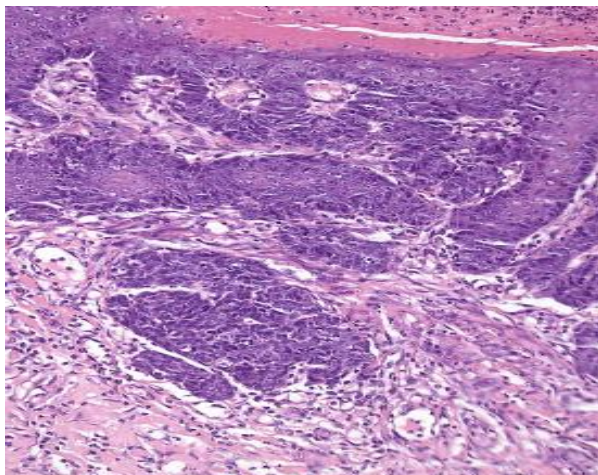


Рисунок 9. БКК нодулярного (солидного) типа с наличием характерных симптомов «частокола», искусственных лагун, с формированием отдельных кистозных полостей и началом инфильтрирующего роста с отшнуровкой более мелких опухолевых комплексов в глубокие отделы дермы. Окраска гематоксилином и эозином, ув $\times 60$

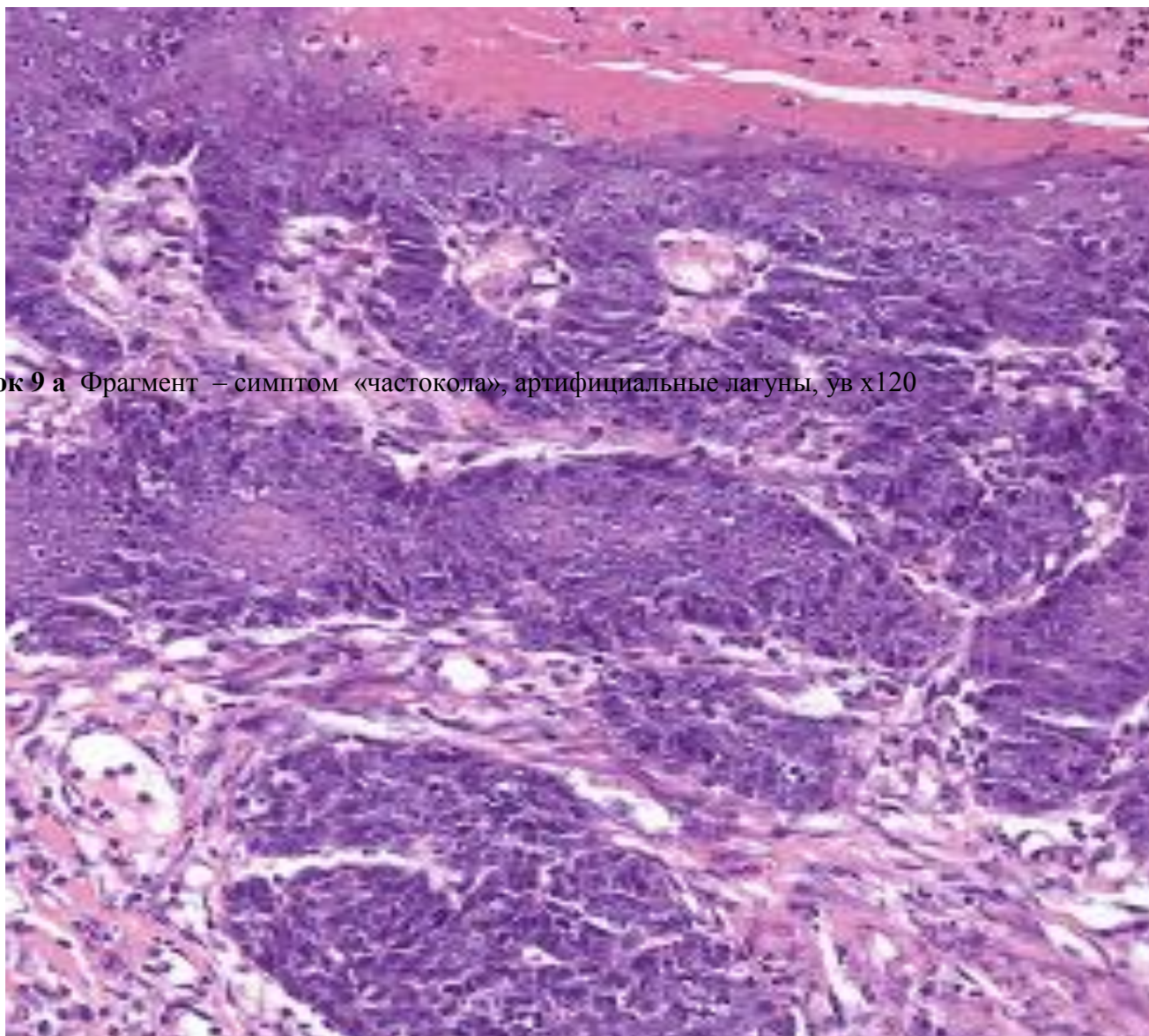


Рисунок 9 а Фрагмент – симптом «частокола», искусственные лагуны, ув $\times 120$

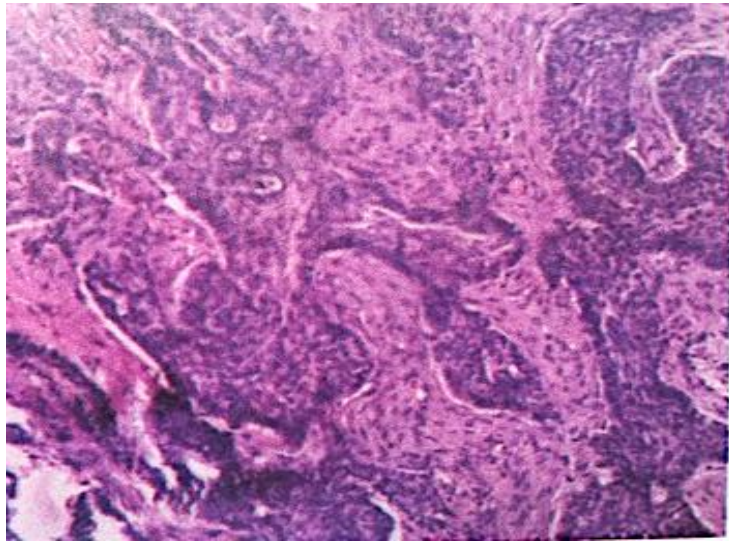


Рисунок 10. Солидный морфотип БКК с инфильтрирующим глубоким ростом и формированием обильной клеточно-волокнутой стромы. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 120$

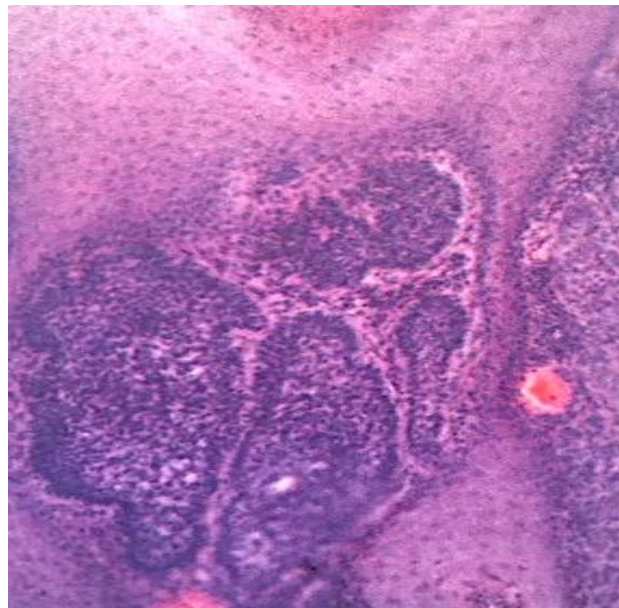


Рисунок 11. Выраженные эпидермальные изменения в зоне роста БКК солидного морфотипа: дискератоз эпидермиса с образованием глубоких выростов по типу псевдоэпителиоматозной гиперплазии с явлениями частичного ороговения. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 120$

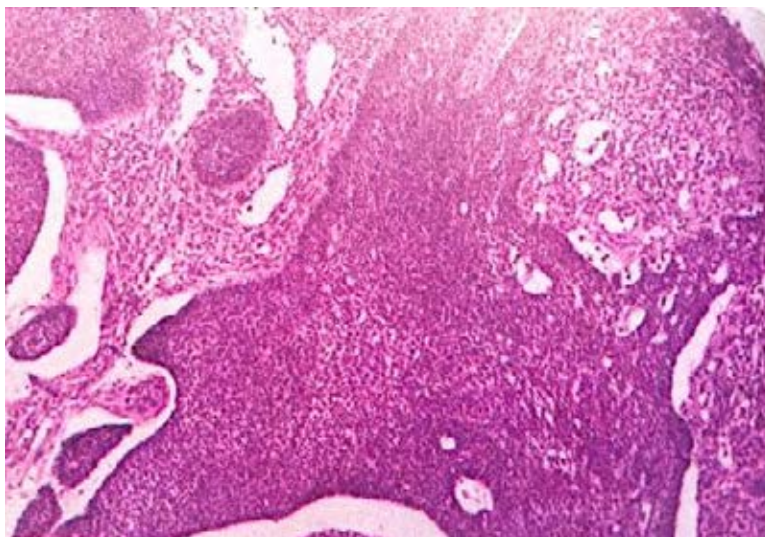


Рисунок 12. Изъязвившийся ББК солидного морфотипа с большим количеством лагун, выраженным воспалительным мононуклеарным инфильтратом и резко расширенными капиллярами. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 60$

Аденоидный морфотип ББК, встречался в 11% случаев и характеризуется, помимо наличия солидных участков дифференцировки, наличием больших полей, состоящих из тонких (нередко 1–2 ряда клеток) эпителиальных тяжей неправильных очертаний, образующих трубчатые или альвеолярные структуры, периферические клетки которых имеют кубическую форму, в связи с чем признак «частокола» отсутствует или выражен слабо. Полости трубок и альвеолярных структур заполнены гомогенным (эозинофильным или базофильным) содержимым (рисунок 13).

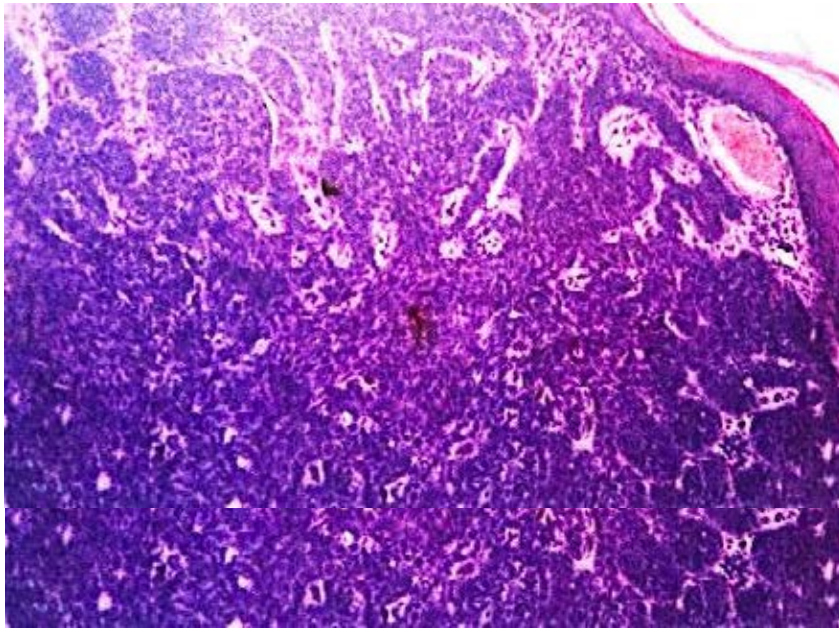


Рисунок 13. Аденоидный морфотип БКК . В опухолевых комплексах видны отдельные отростчатые меланоциты, в характерных для этого типа опухолевых разрастаниях выражен примитивный ангиогенез, отражающий склонность опухолевого роста к агрессии. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 60$

Поверхностный мультицентрический морфотип, обнаружен нами в 14 % случаев и представлен обычно множественными мелкими солидными очажками опухолевых клеточных комплексов, связанных с эпидермисом, как «подвешенных» к нему и располагающихся лишь в сосочковом слое дермы. В строме часто выражена лимфогистиоцитарная инфильтрация (Рисунок 14).

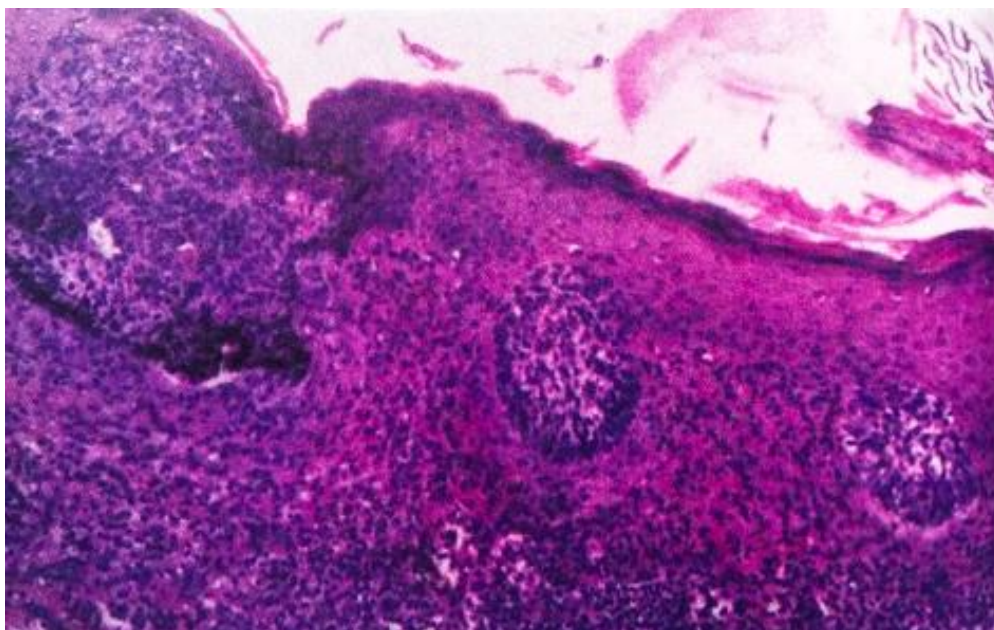


Рисунок 14. Поверхностный мультицентрический морфотип БКК. Видны зачатки базалиомы в центре препарата, в дерме плотный мононуклеарный инфильтрат как проявление местной иммунной реакции. Окраска гематоксилином и эозином, Ув. $\times 60$

Морфеаподобный морфотип, обнаружен нами в 7% случаев и это наиболее агрессивно растущий инвазивный гистологический тип БКК, характеризующийся небольшими комплексами опухолевых клеток, расположенных в обильной, мощной соединительнотканной, нередко склерозированной строме, отчего тяжи базалоидных клеток кажутся «замурованными», они спускаются глубоко в дерму вплоть до гиподермы, ветвятся. Палисадообразные структуры видны лишь на отдельных участках только крупных тяжей. Воспалительная инфильтрация стромы обычно отсутствует (Рисунок 15). Возможна инвазия подлежащих тканей, костей.

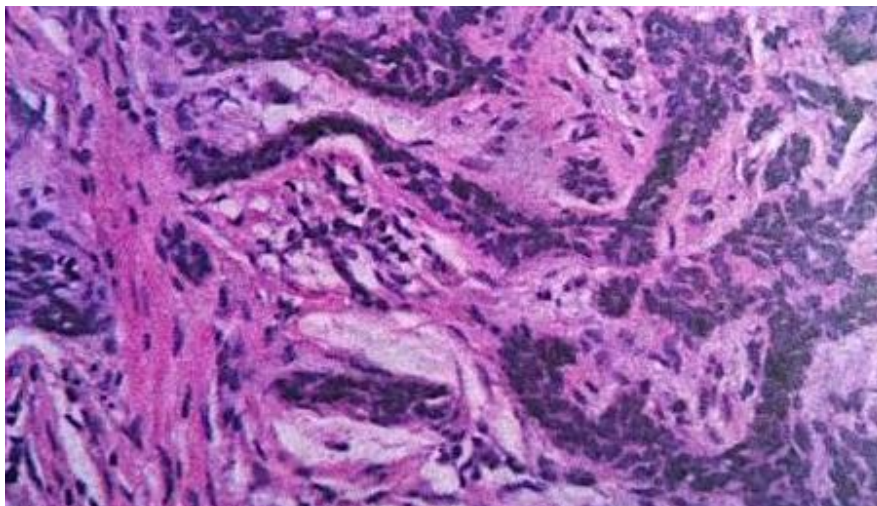


Рисунок 15. Морфеаподобный морфотип БКК: мелкие опухолевые комплексы, окруженные обильной клеточно-волокнуистой стромой, глубокий инвазивный инфильтрирующий рост опухоли. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 240$

Смешанные гистологические морфотипы БКК установлены нами в преобладающем большинстве случаев БКК и составили 45 %. Ультраструктурные особенности этого морфотипа, сочетают в себе участки смещения поверхностной и/или нодулярной морфологии в одной опухоли, имеют инфильтративный характер структурного роста с наличием обильных щелевидных выростов, что приводит к значительному распространению опухоли в средние или глубокие слои дермы. Кроме того, наличие морфологических признаков выраженного примитивного ангиогенеза, инфильтрирующий рост и активное стромообразование, свидетельствуют о прогрессирующем нарастании степени агрессивности опухоли. По нашим данным, смешанный морфотип опухоли наиболее характерен для рецидивирующих, нодулярно-язвенных (размер Т 2-3) и инфильтративных клинических форм БКК.

Наибольшими агрессивными свойствами обладает опухоль при ее базосквамозной трансформации, выражающейся в появлении в зоне дискератоза и

псевдоэпителиоматозной гиперплазии эпидермиса двух компонентов опухолевого комплекса: базальноклеточной карциномы и высокодифференцированного рака, что соответствует формированию метатипического рака кожи. Кроме того, например солидно-морфеоподобный тип БКК, демонстрирует возможность трансформации солидных структур в агрессивный морфотип морфеа, особенно в глубоких отделах дермы (Рисунок 16, 17, 18).

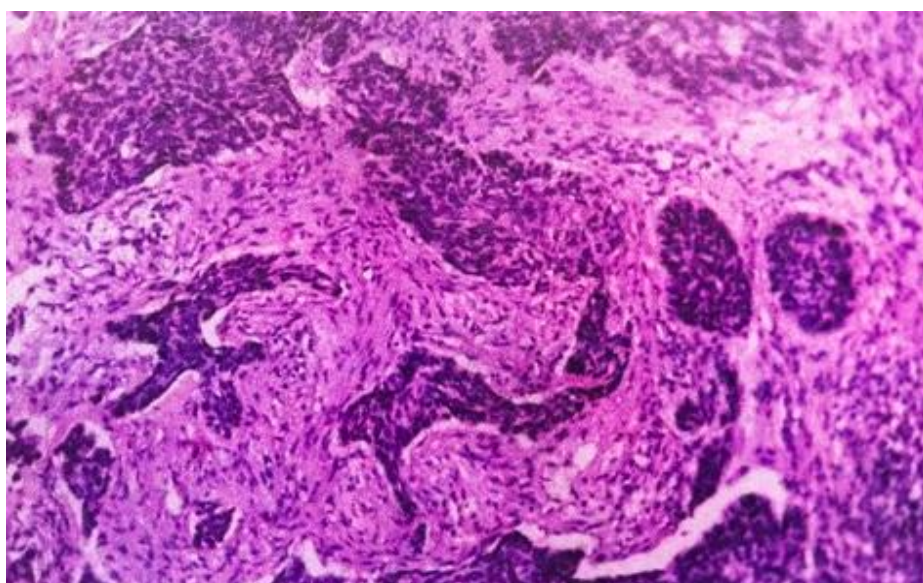


Рисунок 16. Смешанный морфотип БКК: выражена зона трансформации солидного типа в морфеоподобный в глубоких отделах дермы. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 120$

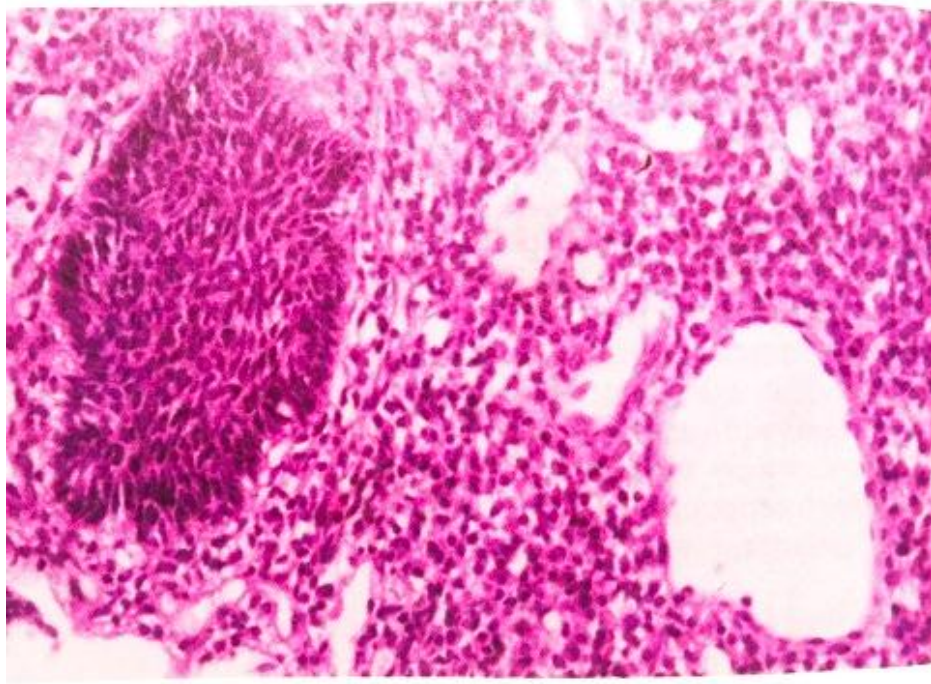


Рисунок 17. Смешанный морфотип БКК с инфильтрирующим типом роста; в глубоких отделах дермы плотный инфильтрат, состоящий из плазматических клеток, очень много резко расширенных лимфатических сосудов и щелей в зоне роста опухоли. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 240$

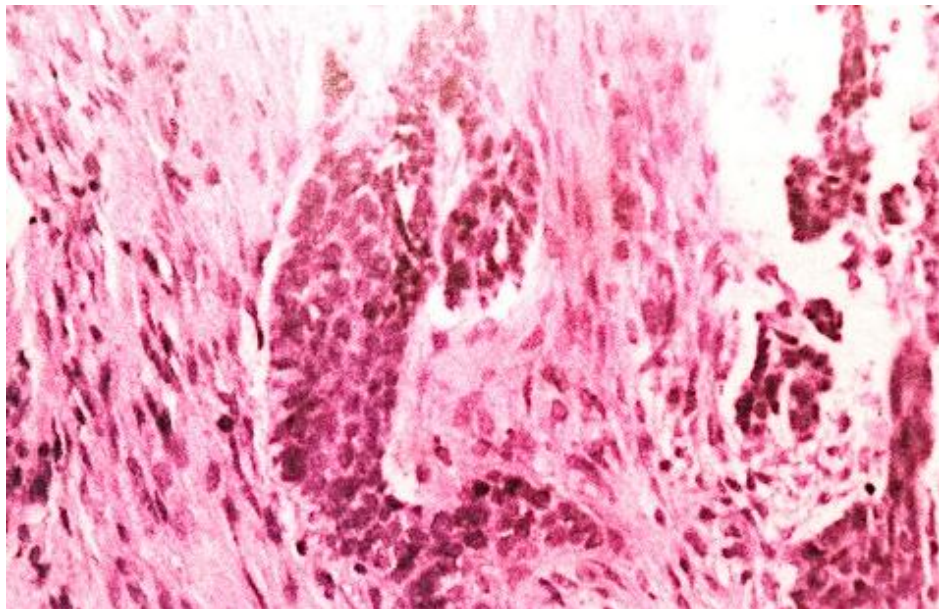


Рисунок 18. Смешанный, агрессивно растущий морфотип БКК с выраженным стромообразованием и глубокой инвазией. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 240$

Морфотипы БКК характеризуются многообразием структур в зависимости от места локализации исходных клеток опухоли, их дифференцировки, реакции окружающей ткани, возраста больного, при этом не всегда отмечается соответствие между клиническими и гистологическими особенностями опухоли. Ультраструктурное строение опухоли может не только определять ее биологическое поведение, но и иметь прогностическое значение.

Таким образом, подробный мониторинг 223 биоптатов БКК позволил выявить большое разнообразие морфотипов опухолей, во многом определяющих ее биологическое поведение и риски развития рецидивирующих форм опухоли. Так, нами было установлено, что в 45% случаев встречаются смешанные морфотипы опухоли, с агрессивным деструктивным характером роста, отличающиеся усилением биологической агрессивности, что обуславливает не только высокие риски рецидивирования, но и торпидность к целому ряду методов лечения. Поверхностная и микронодулярная формы БКК с простым морфотипом строения, таким как мультицентрический, солидно-компактный, расцениваются, как опухоли с низким риском прогрессирования и минимальными рисками рецидивирования, так как эпителиальные тяжи опухоли располагаются компактно и поверхностно, не погружаясь глубоко в дерму. Поверхностные варианты БКК отличаются длительным течением, медленным многолетним ростом, однако на поздних стадиях ее развития отмечается устойчивая тенденция к появлению выраженной инфильтрации и деструктивных изменений, приводящих к изъязвлению очагов БКК.

Наиболее агрессивным биологическое поведение опухоли становится при наличии базосквамозной трансформации, выражающейся в появлении в зоне дискератоза и псевдоэпителиоматозной гиперплазии эпидермиса двух компонентов опухолевого комплекса: базальноклеточной карциномы и

высокодифференцированного рака, что определяет возможность метастазирования опухоли (Рисунок 19 а,б).

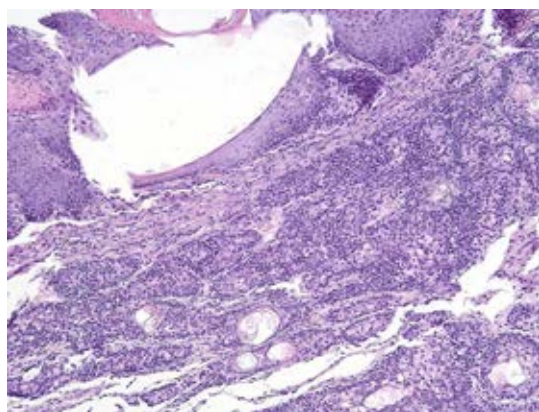


Рисунок 19 а

Морфеоподобный морфотип нодулярно-язвенной базальноклеточной карциномы рецидивирующего характера течения, кожи заушной области.

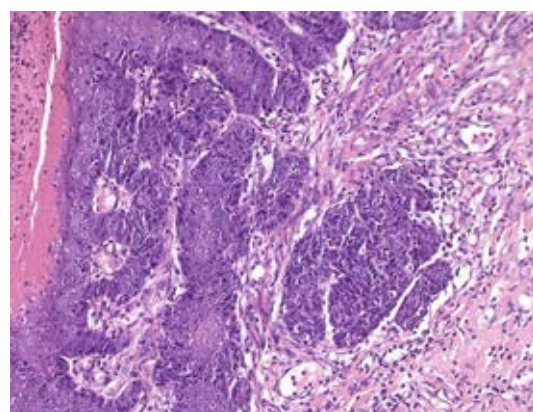


Рисунок 19б

Солидно – аденоидный морфотип нодулярно-язвенной базальноклеточной карциномы кожи височно-лобной области.

Рисунок 19. Усиление агрессивности морфотипа БКК при идентичной клинической картине опухоли

3.3. Исследование изменений эпидермиса и дермы в очагах БКК методом дерматоскопического исследования

Неинвазивным методом дерматоскопии, нами был изучен 21 очаг базальноклеточной карциномы кожи. Во всех случаях диагноз был подтвержден морфологическим методом исследования. Среди изученных новообразований, 16 (76,1 %) очагов были представлены макро и микронодулярными формами БКК, 4 (19%) – поверхностной формой БКК. При дерматоскопическом исследовании в 19 (90,4%) случаях визуализировались древовидные сосуды розово-красного цвета и очаги диффузной пигментации коричневатого цвета, серо-коричневая псевдосеть, структуры по типу «отпечатка пальца», изъеденный молью» край, гомогенная пигментация с мономорфными непигментированными «просветлениями», а в 2 (9,5 %) случаях и единичные бесструктурные очаги коричневого цвета (Рисунок 20-23).

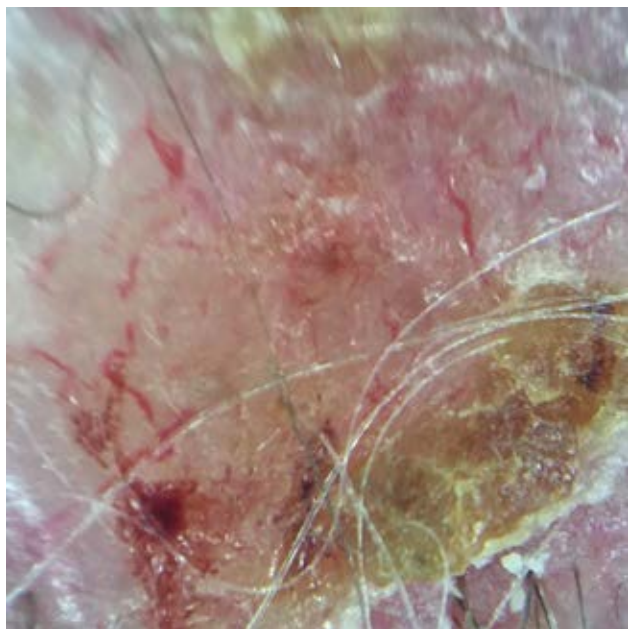


Рисунок 20. Дерматоскопические признаки базальноклеточной карциномы визуализируются древовидные сосуды розово-красного цвета серо-коричневая псевдосеть, структуры по типу «отпечатка пальца», изъеденный молью» край, гомогенная пигментация с мономорфными непигментированными «просветлениями».

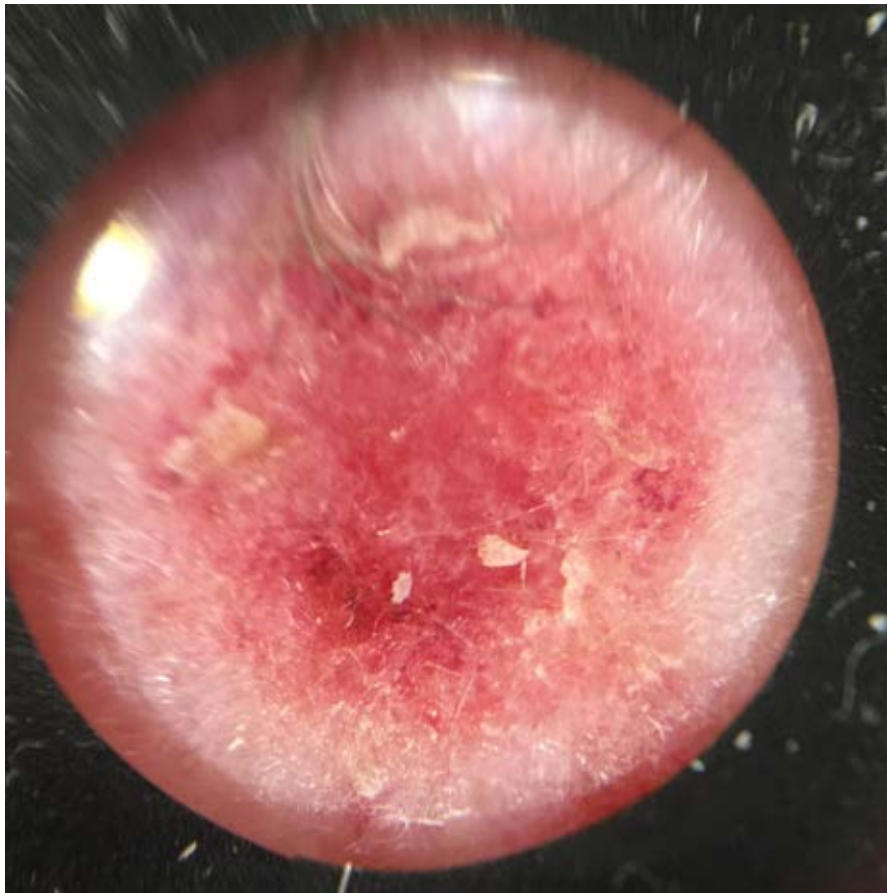


Рисунок 21. Дерматоскопические признаки базальноклеточной карциномы визуализируются древовидные сосуды розово-красного цвета, очаги диффузной пигментации коричневатого цвета, серо-коричневая псевдосеть, структуры по типу «отпечатка пальца»



Рисунок 22. Дерматоскопические признаки базальноклеточной карциномы визуализируются древовидные сосуды розово-красного цвета, очаги диффузной пигментации коричневатого цвета, серо-коричневая псевдосеть, структуры по типу «отпечатка пальца»

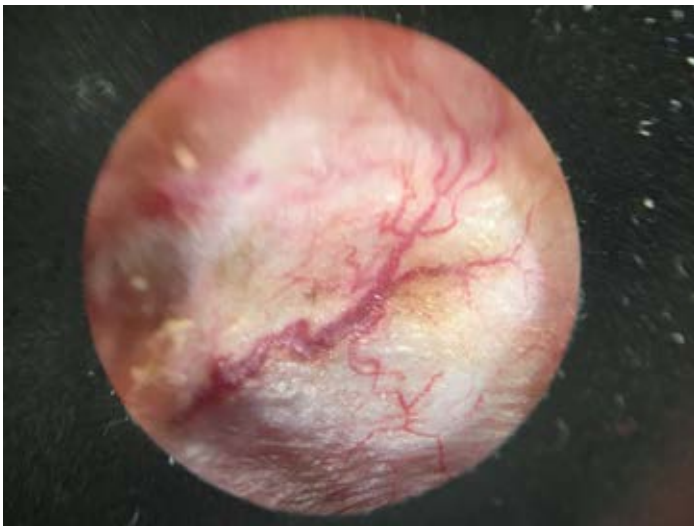


Рисунок 23. Дерматоскопические признаки базальноклеточной карциномы визуализируются древовидные сосуды розово-красного цвета, гомогенная пигментация с мономорфными непигментированными «просветлениями».

При сопоставлении результатов данных дерматоскопического исследования нами показано, что основными дерматоскопическими признаками базальноклеточной карциномы явились: древовидные сосуды и темные силуэты, отмеченные в 8 (38.1%) случаев; очаги диффузной пигментации коричневого цвета отмечены в 5 (23.8%); структуры по типу «отпечатка пальца» выявлены в 2 (9.5%).

3.4. Исследование изменений эпидермиса и дермы в очагах поражения методом конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии

Всего методом конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии нами был изучен 21 очаг базальноклеточной карциномы кожи. Во всех случаях диагноз был подтвержден морфологическим методом исследования. Среди изученных новообразований, 16 (76,1 %) очагов были представлены макро и микронодулярными формами БКК, 4 (19%) – поверхностной формой БКК. При изучении рогового слоя кожи методом КЛСМ, в 21 (100%) очаге БКК были выявлены признаки гиперкератоза и наличие чешуек, в 16 случаях и (76,1 %) индивидуальные корнеоциты. (Рисунок 24).

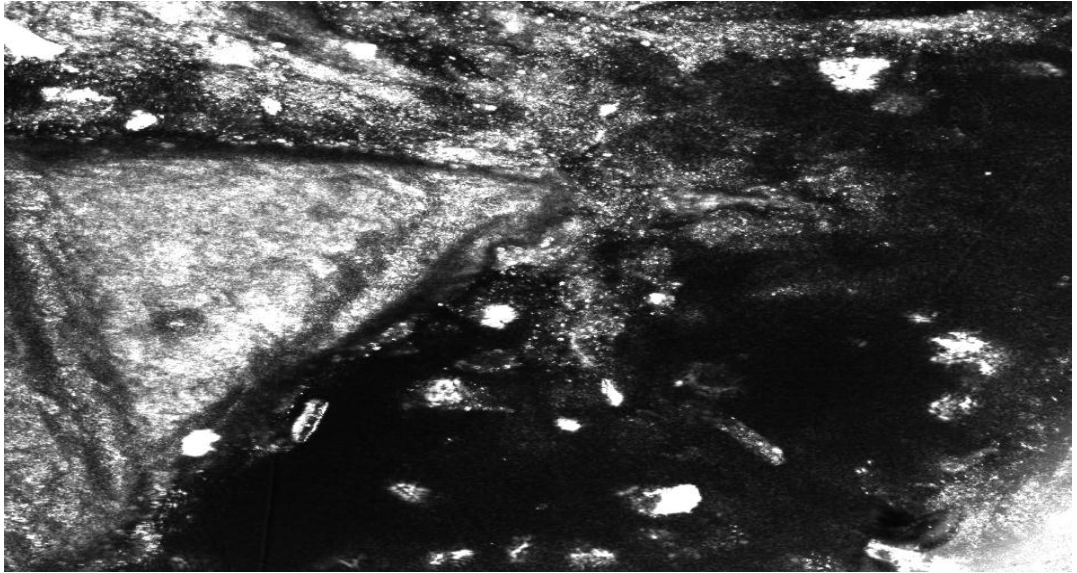


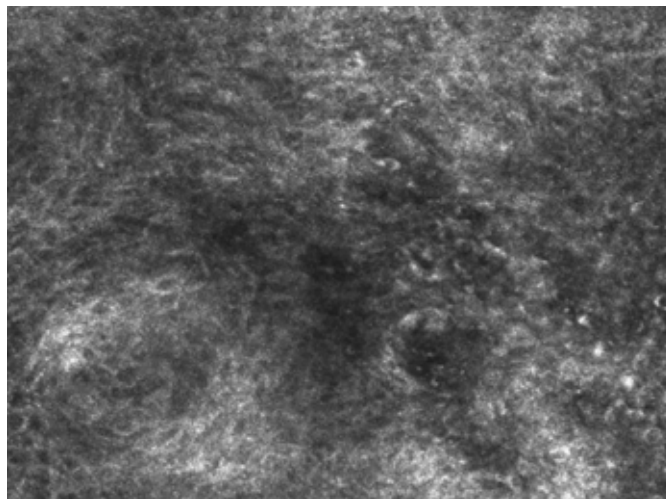
Рисунок 24. Конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия очага БКК. Выявлены гиперкератоз, наличие чешуек, индивидуальные корнеоциты

При анализе структур эпидермального слоя было выявлено, что архитектура шиповатого и зернистого слоев была грубо нарушена, в связи с чем типичный паттерн «медовых сот» не был выявлен ни в одном из очагов БКК. Напротив, атипичная структура «медовых сот» (>50%) определялась в 21 (100%) очаге (Рисунок 25).



Рисунок 25. Конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия очага БКК. (возраст 84 года, глубина сканирования – 24,82 мкм). Выявлена атипичная структура «медовых сот»

Кроме того, для данной группы пациентов было характерно наличие таких характеристик эпидермального слоя кожи, как наличие дезорганизации кератиноцитов с полной утратой структуры “медовых сот”, выявленной в 100 % случаев и наличием атипичных структур кератиноцитов, выявленных в 57,1 % случаев, отражают высокую степень атипии кератиноцитов (Рисунок 26 а,б).



а

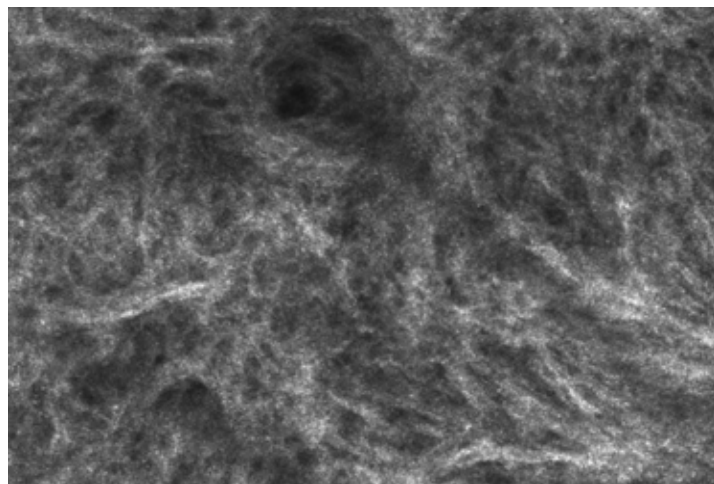


Рисунок 26 (а, б) - Конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия очага БКК. (возраст 69 лет, глубина сканирования 39,71 мкм)
Наличие дезорганизации кератиноцитов с полной утратой структуры “медовых сот”(а) и наличием атипичных структур кератиноцитов (б).

В 20 (95,2 %) случаях БКК было отмечено наличие клеток воспалительного лимфоцитарного инфильтрата в шиповатом/зернистом слоях эпидермиса

(Рисунок 27), в 11 (52,3 %) очагах был зарегистрирован паракератоз. Крапчатая пигментация была выявлена в 14 (46,7%) случаях, причем ее количество превышало 10%. Полициклические контуры сосочков, занимающие более 10% от общей площади снимка, были зарегистрированы в 8 (38%) случаях (Рисунок 28).

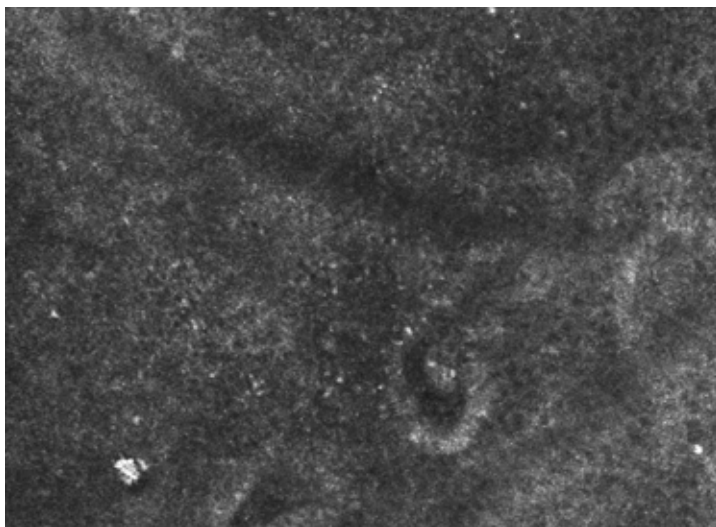


Рисунок 27. Конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия очага БКК. (возраст 69 лет, глубина сканирования – 24,82 мкм) Отмечено наличие клеток воспалительного лимфоцитарного инфильтрата в шиповатом/зернистом слоях эпидермиса, паракератоз, крапчатая пигментация

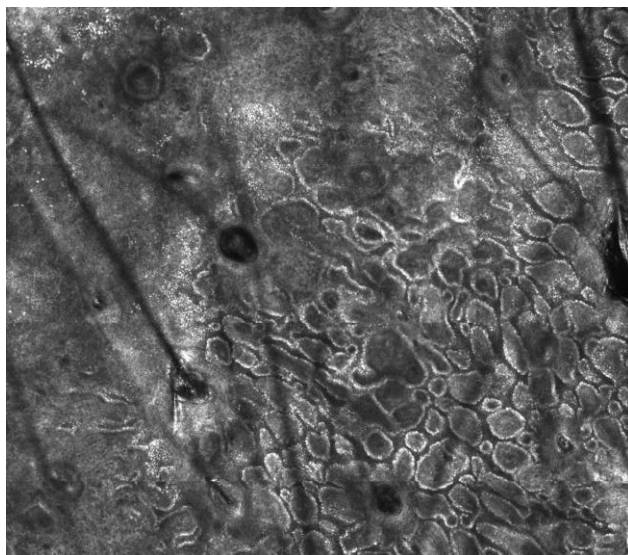


Рисунок 28. Конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия очага БКК. (возраст 69 лет, глубина сканирования – 69,50 мкм) Отмечено наличие полициклических контуров сосочков, которые были зарегистрированы у 5 (50%) обследуемых, причем во всех случаях они занимали более 10% поверхности снимка

При изучении **дермального слоя** кожи, ретикулярный коллаген (>25%) не определялся ни в одном из очагов БКК, в 16 очагах (76,1 %) были обнаружены грубые структуры коллагена (>25%), в 10 очагах (47,6 %) бесструктурный коллаген (>25%), в 12 очагах (57,1 %) - извитые светлые структуры (>25%). В 20 очагах БКК (95,2 %) были выявлены расширенные сосуды, расположенные параллельно плоскости снимка, в просвете которых визуализировался ток крови в виде движения форменных элементов крови (Рисунок 29).

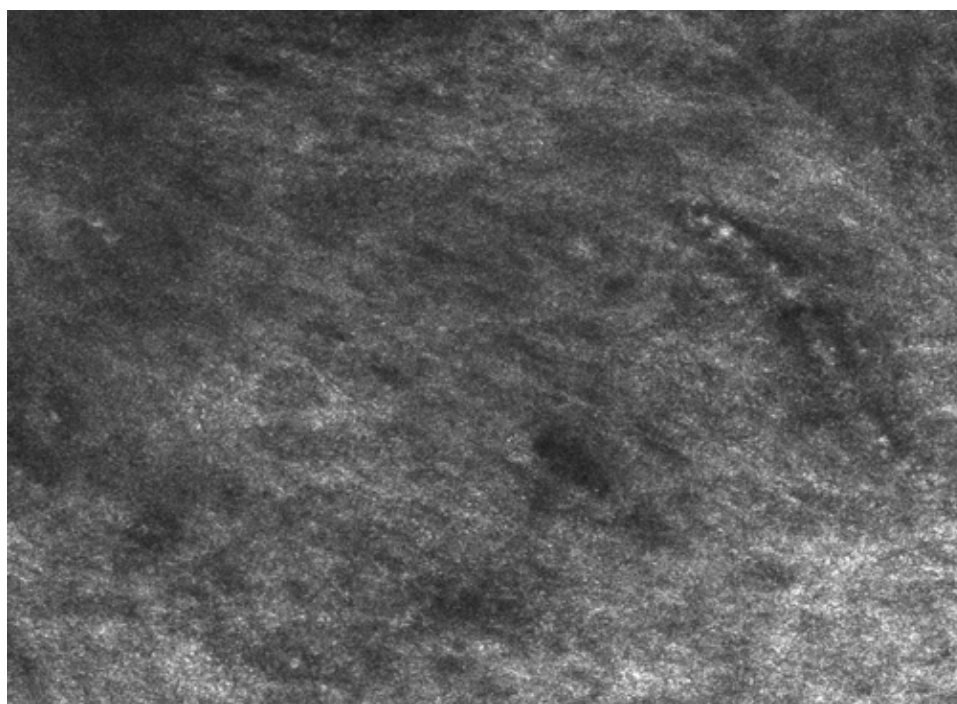


Рисунок 29. Конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия очага БКК. Выявлены расширенные сосуды, расположенные параллельно плоскости снимка. (возраст 68 лет, глубина сканирования – 84,39 мкм)

Для определения диагностических возможностей для диагностики БКК методом КЛСМ, данные КЛСМ-сканирования кожи без патологии и данные сканирования очагов БКК, были сопоставлены между собой. Результаты статистической обработки данных представлены в Таблице 7.

КЛСМ-признак	кожа без патологии n=10	базальноклеточная карцинома n=21	Достоверность различий p
Гиперкератоз	-	18 (85,7 %)	$p=0,00001$
Индивидуальные корнеоциты	-	16 (76,1 %)	$p=0,0008$
Чешуйки	-	18 (85,7 %)	$p=0,00001$
Паракератоз	-	11 (52,3 %)	$p=0,007$
Атипичная структура «медовых сот»		21 (100 %)	-
• менее 10 %	2 (20 %)	-	-
• 10–50 %	8 (80 %)	-	$p=0,0000002$
• более 50 %	-	21 (100 %)	$p=0,0000001$
Полная утрата структуры «медовых сот»	-	12 (57,1 %)	$p=0,003$
Крапчатая пигментация	-	11 (52,3 %)	-
Полициклические контуры сосочков	-	8 (38 %)	-
грубые структуры коллагена	4 (40 %)	16 (76,1 %)	-
бесструктурный коллаген	4 (40 %)	10 (47,6 %)	-
извитые светлые структуры	6 (60 %)	12 (57,1 %)	-
Лимфоцитарный инфильтрат	-	20 (95,2%)	$p=0,0004$

Расширенные сосуды	2 (20 %)	20 (95,2 %)	$p=0,0004$
--------------------	----------	--------------------	------------

Таблица 7. Признаки БКК, выявленные методом КЛСМ

Анализ данных, полученных методом КЛСМ при изучении очагов базальноклеточной карциномы, позволяет заключить, что патогномоничным признаком БКК в эпидермисе является наличие $>50\%$ атипичной структуры «медовых сот», отражающей дисплазию эпидермиса различной степени выраженности и выявляющейся в 100% случаев. Полная утрата структуры «медовых сот», отражающая наиболее сильную степень дисплазии с утратой нормальной архитектоники шиповатого/зернистого слоев эпидермиса отмечалась в 100 % очагов. Кроме того, выраженный гиперкератоз выявлен в 85,7% случаев, наличие чешуек в 85,7% случаев БКК. С меньшей частотой методом КЛСМ были выявлены следующие признаки: индивидуальные корнеоциты в 76,1 %, клеток воспалительного инфильтрата в шиповатом/зернистом слоях эпидермиса в 66, 7%, паракератоз в 52,3 %, крапчатая пигментация ($>10\%$) в 52,3 %, полициклические контуры сосочков ($>10\%$) - в 38 % случаев. Диагноз БКК, установленный на основании данных сканирования кожи методом КЛСМ, был подтвержден гистологическим методом исследования в 21 (100%) случаях.

3.5. Интерпретация данных, полученных при проведении дерматоскопии и КЛСМ участков кожи с БКК

При сопоставлении совокупных результатов данных неинвазивных методов исследования (дерматоскопия и КЛСМ) 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, можно сделать следующее заключение, что наличие группы признаков в виде полной дезорганизации кератиноцитов с утратой структуры «медовых сот», выраженный гиперкератоз, паракератоз, наличие индивидуальных корнеоцитов, чешуек, экзоцитоза и расширенных сосудов в дерме в 92,5 %, позволяют достоверно идентифицировать и дифференцировать очаги БКК на коже пациентов ($p < 0,05$).

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. В результате проведенного исследования методом дерматоскопии и КЛСМ получены данные при сопоставлении которых можно прийти к заключению, что наличие признаков – крапчатой пигментации и полициклических контуров сосочков, соответствуют характерным признакам БКК, выявляемым методом дерматоскопии, являются маркером базальноклеточной карциномы (Таблица 8).

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

Таблица 8. Сопоставление данных дерматоскопического исследования и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии

Выявленные методом КЛСМ признаки крапчатой пигментации и полициклические контуры сосочков являются маркером базальноклеточных структур

3.6. Исследование динамики показателей интерферонового статуса пациентов с различными вариантами БКК

Определение *интерферонового статуса* - иммунологическое исследование, направленное на выявление уровня интерферона в сыворотки крови пациента и определение способности лейкоцитов периферической крови продуцировать различные типы интерферонов в ответ на активирующий сигнал (вирусные частицы или иммуномодуляторы). Комплекс иммунологических исследований проведен у 75 больных возрасте $57,5 \pm 5,5$ лет, до и в процессе лечения, (в качестве контроля использовалась кровь здоровых доноров).

Целью определения интерферонового статуса является:

1. Исследование готовности иммунной системы к развитию адекватных иммунологических реакций.
2. Выявление уровня продукции интерферона на фоне заболевания.
3. Подбор иммуномодулирующего препарата.

Референсные значения:

- сывороточный интерферон: < 8 Ед/мл;
- спонтанный интерферон: < 2 Ед/мл;
- индуцированный альфа-интерферон: взрослые – 640 - 1280 Ед/мл.
- индуцированный гамма-интерферон: взрослые - 128 - 256 Ед/мл.

Интерпретация результатов интерферонового статуса пациентов проводилась нами исходя из полученных результатов первичного исследования уровня продукции интерферонов у пациентов (Таблица 9), (Рисунок 31).

Выраженной реакция выработки интерферонов, нами констатирована при подъеме уровня с ИФН ≥ 2 ЕД/мл, ИФН $-\alpha$, $-\beta < 640$ ЕД/мл, ИФН $-\gamma < 128$ ЕД/мл и наблюдается при активной реакции организма на заболевание и определяет благоприятный прогноз заболевания.

Интерферон	Степени недостаточности альфа- и гамма-ИФН-продуцирующей способности лейкоцитов крови							
	Норма	I	I-II	II	II-III	III	III-IV	IV
альфа-ИФН (ЕД/мл)	640 - 1280	320 - 640	160 - 320	80 - 160	40 - 80	40	20 - 40	< 20
гамма-ИФН (ЕД/мл)	128 - 256	32 - 64	32	16 - 32	8 - 16	8	4 - 8	< 4

Таблица 9. Шкала оценки степени дефицита альфа- и гамма-ИФН-продуцирующей способности лейкоцитов



Рисунок 30. Интерпретация результатов исследования интерферонового статуса

3.7. Интерпретация полученных данных исследования показателей интерферонового статуса пациентов

Умеренной реакцией считалась, когда уровень индукции с ИФН колеблется в пределах с ИФН ≥ 2 ЕД/мл, ИФН - α , - β в пределах 160-230 МЕ, ИФН - γ 23-64 ЕД/мл и соответствует вялотекущим и хроническим заболеваниям. В этих ситуациях для усиления иммунного ответа обычно проводят дополнительную стимуляцию [16]

Недостаточной реакцией выработки ИФН считался уровень с ИФН в пределах с ИФН ≥ 2 ЕД/мл, ИФН - α , - $\beta < 80$ ЕД/мл, ИФН - $\gamma < 8$ ЕД/мл. Подобное состояние интерферонового статуса наблюдается при рецидивирующих хронических заболеваниях, иммунодефицитных состояниях, при которых иммунитет не в состоянии поддерживать необходимый уровень защиты организма и необходима компенсаторная иммунокоррекция [17]

Депрессивная реакция (анергия) индукции интерферона соответствовала показателям с ИФН < 2 ЕД/мл, ИФН - α , - $\beta < 20$ ЕД/мл, ИФН - $\gamma < 4$ ЕД/мл. Подобное состояние наблюдается при иммунодефиците крайней степени, при онкологических заболеваниях, что указывает на подавленное состояние иммунитета и крайне неблагоприятное развитие болезни [18]

Таким образом, при анализе исходных показателей интерферонов до лечения у всех пациентов, можно констатировать (Таблица 10):

- Содержание сывороточных интерферонов у больных во всех группах до лечения было критически снижено:
- ИФН -альфа/бета в сыворотке до лечения в группе *первичных* опухолей составил $41,3 \pm 23,7 \downarrow$ ЕД /мл в и $16,3 \pm 4,2 \downarrow$ ЕД /мл в группе *рецидивных* опухолей при норме 640-1280 ЕД/мл.

- ИФН- гамма в сыворотке до лечения в группе *первичных* опухолей составил $16,3 \pm 3,5$ ЕД /мл в и $2,9 \pm 1,1$ ЕД /мл 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.

Интерфероны Ед/мл	Здоровые доноры N =30	Первичные опухоли N =38	Рецидивные опухоли N=37
• ИФН альфа/бегта • до лечения	N – $875,2 \pm 12,3$	$41,3 \pm 23,7^*$	$16,3 \pm 4,2$
• после 1 курса лечения		$79,6 \pm 16,7^*$	$32,8 \pm 15,6$
• после 2 курса лечения		$197,4 \pm 81,3^*$	$107,7 \pm 34,6$
• после 3 курса лечения		$850,6 \pm 14,7^*$	$357,8 \pm 43,5$
• после 4 курса лечения			$590,7 \pm 35,4$
• после 5 курса лечения			$799,6 \pm 11,5$

• ИФН общий сывороточный • до лечения • после 1 курса лечения • после 2 курса лечения • после 3 курса лечения • после 4 курса лечения • после 5 курса лечения	N – 5, 2 ± 2,1	2,4 ± 1,2* 4, 1 ± 1,0* 4,7 ± 2,2 * 5, 1 ± 1, 8 *	1,9 ± 2,3* 3,6 ± 0,3* 3,9 ± 1, 2* 4,9 ± 1, 3* 5, 0 ± 0,2* 5, 2 ± 1,0*
• ИФН гамма • до лечения • после 1 курса лечения • после 2 курса лечения	N- 234,7± 14,5	16, 3 ± 3,5 * 29, 8 ± 2, 6* 41, 8 ± 10,7* 118,9 ± 21,1*	2, 3 ± 1, 1 * 7, 1 ± 1,4* 17, 8 ± 4,8 * 69, 9 ± 18,9 *

• после 3 курса лечения			$105,6 \pm 13,7^*$
• после 4 курса лечения			
• после 5 курса лечения			$178,9 \pm 23,3^*$

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

Таблица 10. Показатели исследования индукции интерферонов ИФН - α / β , - γ у больных с различными вариантами течения базальноклеточной карциномы кожи *n vitro*, полученных до и на этапах лечения

Таким образом **нами выявлена:**

•**недостаточная реакция** продукции интерферонов, соответствующая дефициту 3 степени тяжести, выявлена у 58 больных, среди которых 41 пациент с первичными опухолями $T_{1-2} N_0 M_0$ с II и III - ей степенью изъязвления и 17 пациентов с рецидивными формами БКК с характеристикой опухоли $T_2 N_0 M_0$ (более 2 см) с III - ей степенью изъязвления и различными морфотипами опухоли, что подтверждает неспособность иммунитета поддерживать необходимый уровень защиты организма.

- **депрессивная, (анергичная) реакция** продукции интерферонов, соответствующая дефициту 4 степени тяжести выявлена у 17 пациентов только с рецидивирующей формой БКК с характеристикой T₂ N₀ M₀ (от 2 до 5 см) и агрессивным морфотипом (9 пациентов с морфотипом морфеа, 3 смешанного морфотипа с инфильтративным характером роста, 5 солидно-морфеаподобным морфотипом строения опухоли). Такое состояние иммунной системы указывает на предельный дефицит функциональной активности иммунитета (может наблюдаться при лечении цитостатиками) и на неблагоприятное течение болезни, показана длительная иммунокомпенсаторная иммунокоррекция.

3.8. Протокол интратуморальной цитокиноterapiи препаратами рекомбинантного человеческого интерферона альфа 2_b (рч ИФН-α_{2b})

При выраженном подавлении выработки интерферонов лейкоцитами, что наблюдается при недостаточной и/или депрессивной (анергичной) реакции системы ИФН назначение иммуностимулирующих препаратов малоперспективно, поскольку система ИФН (как и другие защитные системы) не в состоянии адекватно ответить на интенсивное стимулирующее воздействие.

В связи с полученными данными, мы сочли целесообразным применение иммунокомпенсаторной цитокиноterapiи препаратами рекомбинантного человеческого интерферона альфа 2_b (рч ИФН-α_{2b}). В соответствии с полученными результатами нашего исследования, мы разработали протокол курсового комплексного 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 (Таблица 11), (Рисунок 31).

Повышение уровня индуцированного ИФН- γ под действием препарата	Чувствительность к применяемому препарату интерферона
2-кратное	Слабая
3 - 4-кратное	Выражена
Более чем 4-кратное	Сильно выражена

Таблица 11. Интерпретация результатов индивидуальной чувствительности к препарату интерферона



Рисунок 31. Протокол интерферонотерапии

Для процедуры интратуморальных инъекций, мы использовали препарат «*Инtron А*» в формате шприц-ручка с дозатором и тонкой иглой 5 мм. Препарат вводится в опухолевый очаг на глубину не менее 3 мм, но не более 5 мм в однократной дозе 2,5 000 000 млн МЕ, ежедневно до набора общей курсовой дозы 20 – 25 000 000 млн 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 течении 3-6 недель. После завершения курса интратуморальных инъекций, назначался курс препарата «*Виферон*» в виде свечей (per rectum), в дозе 1 млн один раз в сутки (курс 15 дней, курсовая доза 15 000 000 млн ЕД).

На первые инъекции «*Интрона А*», у большинства пациентов возникало гриппоподобное состояние и умеренная температурная реакция с подъемом показателей до 37,5—39°C, которые проходили в течении нескольких часов. Основным курс интратуморальных инъекций может проводится, как в стационаре, так и в амбулаторных условиях. Пациенты хорошо переносят интратуморальные инъекции препарата «*Инtron А*» в формате ручка – шприц, которые не требуют премедикации, так как не вызывают болезненных ощущений. 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.

3.9. Оценка эффективности и переносимости проведенного лечения

Комплексный метод интратуморальной цитокинотерапии препаратами рекомбинантного человеческого интерферона альфа 2_b (рч ИФН- α_{2b}) в соответствии с разработанным нами протоколом, получили все 75 пациентов с результатом клинического и цитологического выздоровления. При анализе результатов лечения в группах пациентов, мы видим, что детальное подразделение опухолей в пределах групп T₁₋₂ N₀M₀, оказалось так же важным для дальнейшей оценки эффекта и терапевтических рекомендаций, так как именно больший размер T₂ и степень деструкции опухоли (II-III степень изъязвления), рецидивный характер течения и агрессивный морфотип, в большинстве случаев соответствовали анергии системы интерферонов организма и требовали более длительного лечения.

Пациентам с установленным дефицитом 3 степени тяжести, с первичными опухолями и размером не более 2 см (T₁ N₀M₀) с II и III - ей степенью изъязвления (41 человек), потребовалось от 2 до 3 курсов лечения, для полного клинического ответа с дерматоскопически подтвержденным излечением. Необходимость и достаточность курсов терапии была обоснована и подтверждалась контролем динамики показателей интерферонового статуса, в частности интенсивность повышения уровня индуцированного ИФН- γ под действием препарата, определяла количество необходимых курсов лечения. Так, средний показатель ИФН- γ у этой группы пациентов до лечения составлял $16,3 \pm 3,5 \downarrow$ ЕД/мл, после 3 курсов лечения $118,9 \pm 21,1$ ЕД/мл.

Пациентам с установленным дефицитом 3 степени тяжести с рецидивными формами БКК с характеристикой опухоли T₂ N₀M₀ (более 2 см) с III - ей степенью изъязвления (17 человек), проведено три курса цитокинотерапии для полного клинического ответа и дерматоскопически подтвержденного выздоровления. Необходимость и достаточность количества

курсов терапии была обоснована и подтверждена контролем динамики показателей интерферонового статуса, в частности, наличие сильно выраженной реакции организма на препарат, повышение (более чем в 4 раза) уровня индуцированного ИФН- γ под его действием, определяла количество курсов лечения. 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 с характеристикой $T_2 N_0 M_0$ (от 2 до 5 см) с II и III - ей степенью изъязвления и структурой смешанного и агрессивного морфотипа, потребовалось 5 курсов лечения, что обусловлено депрессивным (анергичным) состоянием иммунной системы и указывает на предельный дефицит функциональной активности иммунитета, а следовательно и на высокие риски развития рецидива БКК (Рисунок 32). Этой группе пациентов потребовалось проведение более длительной курсовой иммунокомпенсаторной иммунокоррекции, в связи с выраженным дефицитом ИФН- γ (анергией) до лечения и со слабой ответной реакцией организма на препарат, повышение (в 2-3 раза) уровня индуцированного ИФН- γ под его действием. Так, средний показатель ИФН- γ в этой группе до лечения составлял $2,3 \pm 1,1$ 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 II и III степенью изъязвления и структурой агрессивного морфотипа.



Рисунок 32. Взаимосвязь риска рецидива БКК от уровня интерферонового статуса

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 , - β , - γ) и уровня степени дефицита индукции интерферонов, как прогностических факторов долгосрочных результатов лечения, а так же 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.

3.10 Клинические примеры

Пример №1.

Пациентка Ж, 65лет, больна в течении 3 лет (рисунок 33).

Диагноз: Нодулярная форма БКК, первичный солитарный очаг III степени изъязвления ($T_2N_0M_0$), смешанный морфотип . Дефицит интерферонов 3 степени.

Пациентка получила 3 курса комплексной терапии препаратами рекомбинантного человеческого интерферона $\alpha 2$ в виде предложенного нами протокола курсовой интратуморальной терапии. Состояние после лечения: рубцовая атрофия кожи носа на месте бывшего очага БКК. КЛСМ признаков БКК нет, ответ полный. Показатели ИФН статуса в пределах нижней границы нормы.

Состояние после лечения: рубцовая атрофия кожи носа на месте бывшего очага БКК (рисунок 34).

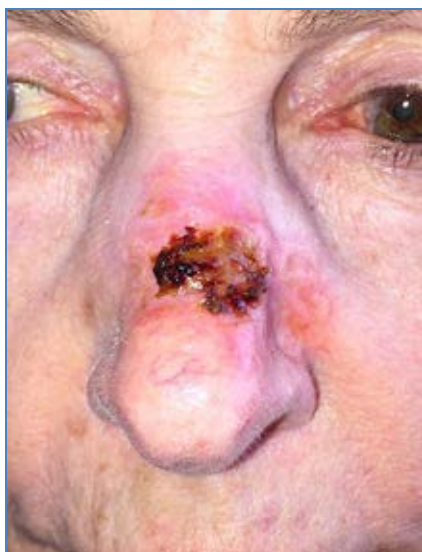


Рисунок 33 Б-ная Ж , 65 лет до лечения

Рисунок 34 Б-ная Ж, после лечения

КЛСМ признаков БКК нет, ответ полный (рисунок 35).

Показатели ИФН статуса в пределах нижней границы нормы.

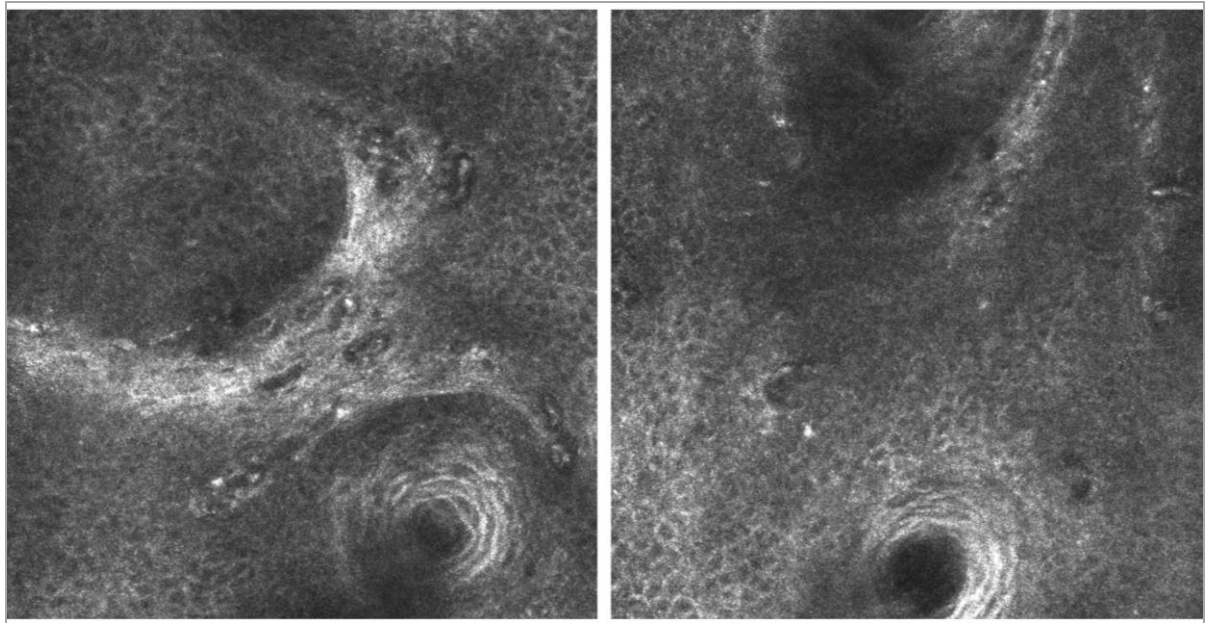


Рисунок 35. Конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия очага БКК

Слева — до лечения: полная утрата структуры «медовых сот», выраженный гиперкератоз, клетки воспалительного инфильтрата в шиповатом/зернистом слоях, крапчатая пигментация (>10%), полициклические контуры сосочков (>10%), отмечаются расширенные сосуды.

Справа — через 1 мес после лечения: нет признаков наличия крапчатой пигментации, воспалительного инфильтрата, уменьшение количества расширенных сосудов, участки атрофии на месте очага БКК.

Пример № 2

Пациент К , 58 лет, болен в течении 6 лет (Рисунок 36).

Диагноз: Нодулярно-язвенная рецидивирующая форма БКК кожи спинки и ската носа, III степени изъязвления ($T_2N_0M_0$), смешанный морфотип.

Дефицит интерферонов 4 степени (анергия).

Пациент получил 5 курсов комплексной терапии препаратами рекомбинантного человеческого интерферона $\alpha 2$ в виде предложенного нами протокола курсовой интратуморальной терапии.

Состояние после лечения: рубцовая атрофия кожи носа спинки и ската носа (на месте бывшего очага БКК) (рисунок 37).

КЛСМ признаков БКК нет, ответ полный (рисунок 38). Показатели ИФН статуса в пределах нижней границы нормы.



Рисунок 36 Пациент К., 68 лет до лечения



Рисунок 37 Пациент К., 68 лет, после лечения

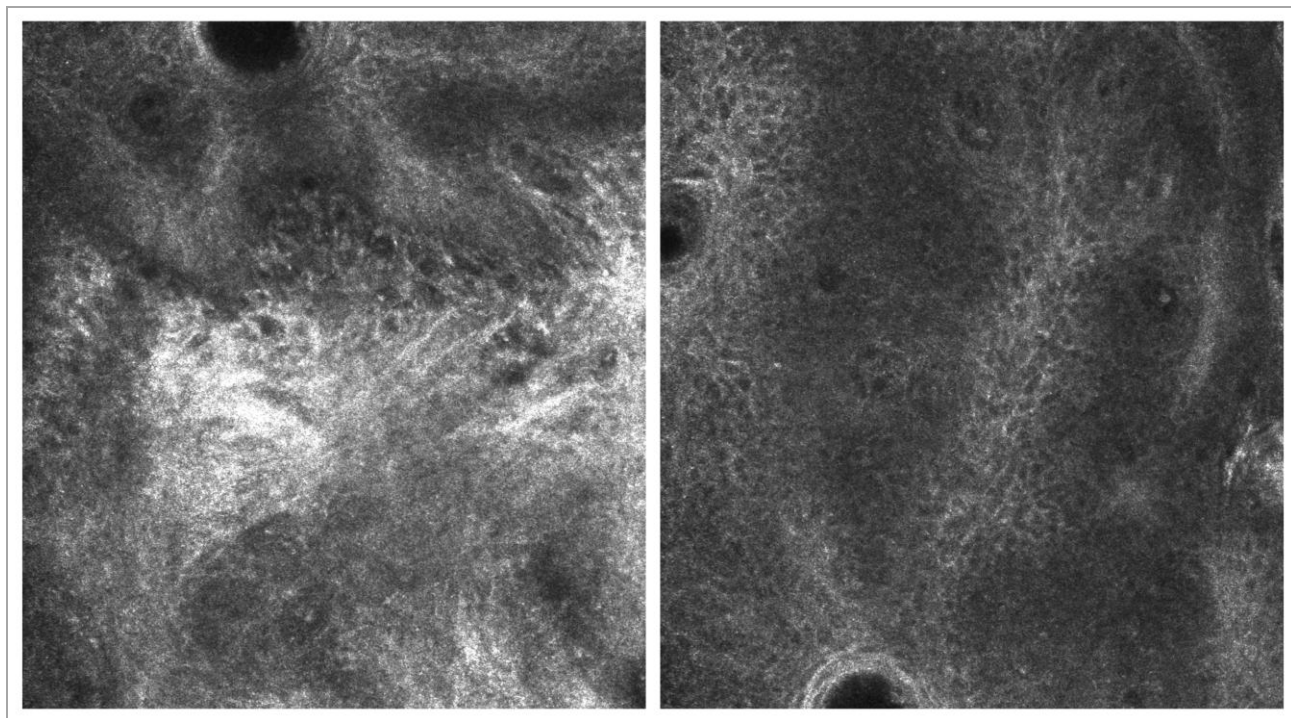


Рисунок 38. Конфокальная лазерная сканирующая *in vivo* микроскопия очага БКК

Слева - до лечения: полная утрата структуры «медовых сот», выраженный гиперкератоз, клетки воспалительного инфильтрата в шиповатом/зернистом слоях, крапчатая пигментация ($>10\%$), полициклические контуры сосочков ($>10\%$), отмечаются расширенные сосуды.

Справа – через 1 мес после лечения: нет признаков наличия крапчатой пигментации, воспалительного инфильтрата, уменьшение количества расширенных сосудов, участки атрофии на месте очага БКК.

Пример №3

Пациентка О , 74 года, больна в течении 4 лет (Рисунок 39).

Диагноз: Нодулярно-язвенная рецидивирующая форма БКК кожи спинки носа, III степени изъязвления ($T_2N_0M_0$), смешанный морфотип. Дефицит интерферонов 4 степени (анергия).

Пациентка получила 5 курсов комплексной терапии препаратами рекомбинантного человеческого интерферона $\alpha 2$ в виде предложенного нами протокола курсовой интратуморальной терапии.

Состояние очага в процессе терапии (Рисунок 40)

Состояние после лечения: рубцовая атрофия кожи носа на спинке носа (месте бывшего очага БКК) (рисунок 41). КЛСМ признаков БКК нет, ответ полный. Показатели ИФН статуса в пределах нижней границы нормы.



Рисунок 39 Пациентка О., 74 года до лечения



Рисунок 40. Пациентка О., 74 года в процессе лечения



Рисунок 41. Пациентка О., 74 года после курса лечения через 12 месяцев
На месте очага БКК сформирован нормотрофический рубец. Показатели интерферона статуса в пределах нормы.

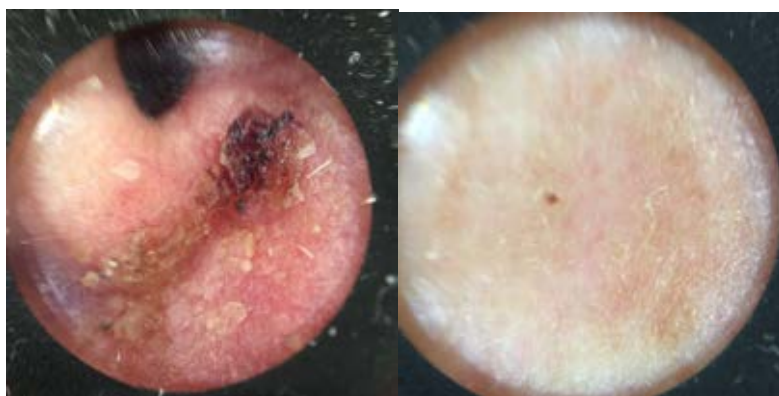


Рисунок 42. Пациентка О., 74 года. Дерматоскопическая картина
базальноклеточной карциномы до и после лечения

Слева (два)- до лечения: выявлены древовидные сосуды и темные силуэты, очаги диффузной пигментации коричневого цвета, структуры по типу «отпечатка пальца», отмечаются расширенные сосуды.

Справа (один) – через 12 месяцев после лечения, визуализируется участок атрофии на месте очага БКК, без признаков рецидива опухоли.

Пример №4

Пациентка С , 54 года, больна в течении 1 года (Рисунок 43).

Диагноз: Нодулярно-язвенная форма БКК подорбитальной области, II степени изъязвления ($T_2N_0M_0$), солидно-морфеоподобный морфотип.

Дефицит интерферонов 3 степени.

Пациентка получила 3 курса комплексной терапии препаратами рекомбинантного человеческого интерферона α_2 в виде предложенного нами протокола курсовой интратуморальной терапии.

Состояние после лечения: рубцовая атрофия кожи подорбитальной области на месте бывшего очага БКК (рисунок 44, 45). Дерматоскопическая картина базальноклеточной карциномы до лечения (рисунок 46а): выявлены древовидные сосуды и темные силуэты, очаги диффузной пигментации коричневого цвета, структуры по типу «отпечатка пальца», отмечаются расширенные сосуды.

Дерматоскопическая картина через 12 мес после лечения (рисунок 46б), визуализируется участок атрофии на месте очага БКК, без признаков рецидива опухоли

КЛСМ признаков БКК нет, ответ полный. Показатели ИФН статуса в пределах границ нормы.

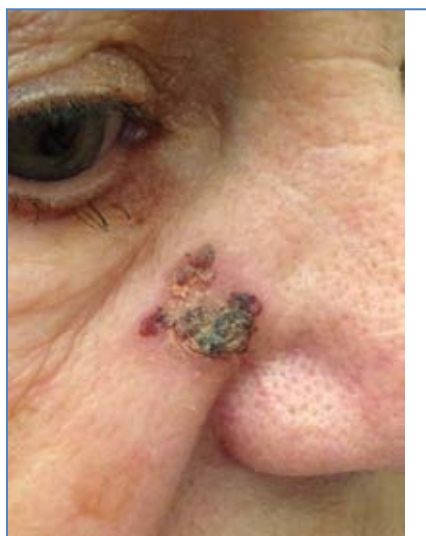


Рисунок 43. Пациентка С., 54 года, до лечения



Рисунок 44. Пациентка С., 54 года , через 1 месяц после курса лечения



Рисунок 45 Пациентка С., 54 года, после курса лечения через 12 месяцев
 На месте очага БКК сформирован нормотрофический рубец
 Показатели интерферонового статуса в пределах нормы

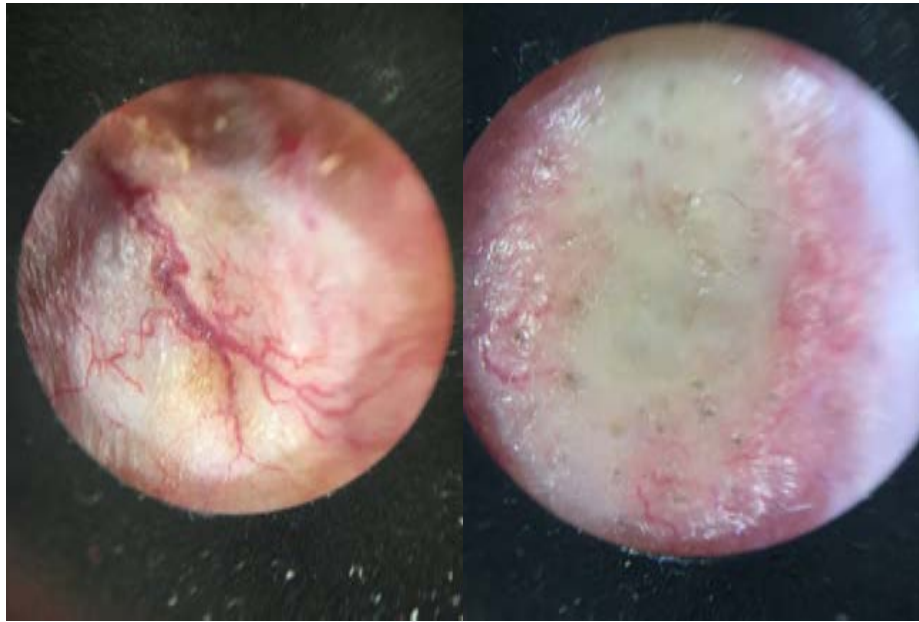


Рисунок 46 (а, б) Пациентка С., 54 года. Дерматоскопическая картина базальноклеточной карциномы до и после лечения

Слева а - до лечения: выявлены древовидные сосуды и темные силуэты, очаги диффузной пигментации коричневого цвета, структуры по типу «отпечатка пальца», отмечаются расширенные сосуды.

Справа б – через 12 месяцев после лечения, визуализируется участок атрофии на месте очага БКК, без признаков рецидива опухоли

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Значимость и актуальность разработки схем эффективного лечения базальноклеточной карциномы, обладающей местнодеструктурирующим ростом подтверждается наличием множества исследований и публикаций, посвященных данной проблеме [99]. Это обусловлено не только широкой распространенностью эпителиальных новообразований кожи, но и частотой развития рецидивирующего характера течения, торпидности к терапии и формированию уродующих дефектов кожи в эстетически значимых зонах, что оказывает значительное влияние на психоэмоциональную сферу пациентов и социальный статус пациентов. В ближайшие годы предполагается дальнейшее увеличение заболеваемости эпителиальными опухолями кожи, которые являются УФО-индуцированными опухолями, что обусловлено возрастанием воздействия УФО на кожу человека как в связи с изменениями в экологической ситуации (в том числе, снижением уровня озона в стратосфере), так и с увеличением продолжительности жизни населения, растущего посещения экваториальных стран, популяризации использования соляриев [23].

Базальноклеточная карцинома кожи является самой распространенной неоплазией у человека и обладает неконтролируемым инфильтративным и деструктивным характером развития с распространением на подлежащие ткани и выраженной склонностью к рецидивированию, кроме того отличается многообразием клинических форм и морфотипов, с преимущественной локализацией в косметически значимых зонах кожи лица и участках подвергающихся хронической экспозиции ультрафиолетового излучения [30]. Кроме того, базальноклеточная карцинома имеет высокую склонность к рецидивам, усилению степени агрессивности при длительном существовании, с высокими рисками трансформации в метатипический или плоскоклеточный рак кожи [98].

Гипотезы патогенеза, прогрессирования и метастазирования различных клинических форм БКК, в том числе, рецидивирующих, свидетельствуют в пользу многостадийной модели заболевания, учитывающей интерференцию целого ряда патофизиологических механизмов [40]. 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 [36]. Подробного анализа и детального изучения показателей уровня интерферонов при основных клинических разновидностях базальноклеточной карциномы ранее не проводилось, равно как и изучения взаимосвязи уровня интерферонпродуцирующей активности иммунитета пациентов с эффективностью проводимой терапии и рисками развития рецидивирующего характера течения заболевания. В последние годы отмечается тенденция к использованию комбинированных методов терапии БКК, позволяющих значительно повышать эффективность лечения. Наиболее перспективными комбинациями является курсовая монотерапия иммуномоделирующими препаратами и/или их сочетание с криотерапией; лазеротерапией; радиохирургическим иссечением опухоли и др. Применение комплексной терапевтической стратегии позволяет существенно влиять на иммунные показатели, что улучшает общее состояние пациентов и снижает риск рецидивирования опухоли [2, 3, 4, 7]. Для оптимизации выбора терапевтической стратегии в случаях неоперабельных БКК с труднодоступной локализацией, очагами большого размера T3-4, глубокой инвазией и поздними стадиями заболевания (III-IV), множественными очагами поражения, многократными рецидивами, необходим дифференцированный подход и поиск новых путей лечения, так как стандартные методы терапии не эффективны. Сегодня отсутствие адекватных методов и средств терапии запущенных, особенно рецидивных случаев заболевания, является очевидным фактом и эта группа пациентов фактически остается без контроля и адресной помощи.

Таким образом, положение неоперабельных пациентов со сложными рецидивирующими и метастатическими формами БКК усугубляется, как отсутствием возможности получения эффективной медицинской помощи, так и сопутствующей тяжелой социальной и моральной дезадаптацией. Новым перспективным подходом к основной терапии рецидивной, неоперабельной и множественной БКК является разработка и применение препаратов, на основании изучения молекулярных механизмов развития БКК, подавляющих и контролирующих патогенетические пути развития опухоли. С позиции противоопухолевых эффектов большой интерес представляют собой интерфероны (ИФН) [49, 51]. Система ИФН служит для распознавания чужеродных нуклеиновых кислот и их элиминации, играет контрольно-регуляторную роль в сохранении гомеостаза и является одной из основных систем противоинфекционной и 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 [16]. Данные об эффективности рекомбинантных человеческих интерферонов (рч ИФН) при опухолях значительно варьируют, что связано с различными дозами, методами их использования [18]. Индукторы интерферона добавляют в организм «порцию» интерферонов и стимулируют прирост собственных защитных белков организма.

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. Сегодня накоплен значительный опыт применения агрессивных методов терапии

новообразований кожи, однако с учетом частоты, вариабельности, локализации на лице и прогрессирующего роста опухоли, приводящего к разрушению жизненно важных органов, ни один из методов не является идеальным для эффективного лечения всех форм БКК. Несмотря на существование различных методов лечения БКК, все они по существу носят агрессивный разрушительный характер и не являются патогенетическими, чем вероятно можно объяснить их частое рецидивирование. В то же время попытки использовать в том или ином виде иммунотерапию, в частности различные виды интерферонов при эпителиальных неоплазиях, оцениваются не однозначно, так как не отработаны методики их использования при различных вариантах БКК.

Проблема эффективной патогенетической терапии базальноклеточной карциномы и профилактики рецидивирования имеет медико-социальное значение, в связи с широкой распространенностью, формированию уродующих косметических дефектов на открытых участках кожного покрова, приводящих к резкому снижению качества жизни, формированию психосоматических расстройств и значительной социальной дезадаптации пациентов.

Таким образом, целью нашего исследования явилось совершенствование методов патогенетической терапии рецидивирующих и агрессивных форм базальноклеточной карциномы на основании изучения уровня противопухолевого иммунитета по показателям совокупных параметров интерферонового статуса пациентов. Для достижения поставленной цели в работе решалось несколько задач.

Во первых изучить клинические проявления основных клинических разновидностей базальноклеточной карциномы на примере 75 пациентов с различными вариантами базальноклеточной карциномы, согласно Международной классификации опухолей.

Во-вторых, определить интерферон продуцирующую активность клеток крови (лейкоцитов) по показателям циркулирующего интерферона и интерферон – продуцирующую активность клеток организма с определением спонтанной и стимулированной продукции интерферона альфа /бета и уровня иммунного ответа при индукции интерферона гамма *in vitro* у 75 пациентов с базальноклеточной карциномой. Разработать патогенетически обоснованный метод лечения агрессивных и рецидивирующих местнораспространяющихся форм базальноклеточной карциномы с учетом индивидуального уровня нарушений регуляции синтеза интерферонов и морфотипа карциномы, с целью достижения долгосрочных безрецидивных результатов лечения.

Кроме того, одной из задач нашего исследования, так же явилось выявление структуры основных морфотипов базальноклеточной карциномы на основании проведения гистологического метода исследований у 75 пациентов с основными клиническими формами базальноклеточной карциномы с целью прогностической оценки степени биологической агрессивности опухоли.

Одной из задачи исследования являлась возможность применения неинвазивных методов ранней диагностики патоморфологических процессов и контроля эффективности лечения на основании конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии и дерматоскопии. Особая значимость данных методик состоит в том, что они позволяют без нарушения целостности кожного покрова, а следовательно, без реабилитационного периода, проследить патоморфологические изменения, происходящие в коже, что для пациентов с БКК является особенно важным.

Под нашим наблюдением находилось 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. Среди них преобладали женщины – 67,78%, соответственно, мужчины, составили 32,22%. Длительность заболевания в среднем составила $6,93 \pm 4,86$ лет. 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%. 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.

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 **T₁N₀M₀ (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 **T₂N₀M₀ (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. Такое детальное подразделение опухолей в пределах групп T₁₋₂N₀M₀ оказалось важным для дальнейшей оценки эффекта и терапевтических рекомендаций.

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-морфеаподобный тип. При анализе ультраструктурных особенностей 37

рецидивных очагов БКК, мы выявили морфотип морфеа в 9 случаях, аденоидный морфотип в 6 случаях, солидно-морфеподобный в 10 случаях. БКК смешанного морфотипа различной степени дифференцировки дифференцировки установлен нами в 12 случаях, отличающийся наличием признаков выраженного инфильтративного роста и строомообразования, свидетельствующие о более агрессивном биологическом поведении этих опухолей.

Таким образом, при анализе всех 223 ультраструктур БКК в 45 % случаев БКК, нами была установлена структура смешанного морфотипа опухоли, мультицентрический поверхностный морфотип составлял 14%, морфотип морфеа – 7 %, аденоидный морфотип – 11%. Встречались так же различные варианты дифференцировки в одной опухоли, так в 5% случаев выявлена преимущественно пилоидная и сальная дифференцировка карциномы.

Для более подробного изучения патоморфологических процессов, происходящих в коже пациентов до и после лечения и дополнительной оценки его эффективности в исследовании были использованы актуальные на сегодняшний день методы неинвазивной диагностики кожи: конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (КЛСМ) и дерматоскопия (ДС). Основным критерием выбора данных методов обследования была их неинвазивность, возможность изучить патоморфологические изменения, происходящие в коже, без нарушения ее целостности, что имеет особое значение ввиду типичных локализаций опухоли в эстетически значимых зонах.

При конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии (КЛСМ) в области патологических очагов, характерных для БКК, нами были установлены основные диагностические критерии БКК, которыми являются: 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, явление расположения клеток параллельно одной оси, наличие дендритических клеток в окружающем эпидермисе (клетки

Лангерганса), наличие округлых светлых клеток, воспалительного инфильтрата, увеличенный диаметр просвета сосудов, наличие ветвящихся сосудов. При сопоставлении совокупных результатов данных неинвазивных методов исследования (ДС и КЛСМ) 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, нами показано, что диагностическая ценность неинвазивных методов исследования дерматоскопии и КЛСМ не только сопоставима, но высоко специфична, а 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.

Оценка степени дефицита альфа- и гамма-интерферон продуцирующей способности лейкоцитов пациентов проводилась нами на основании полученных результатов первичного исследования уровня продукции интерферонов. Выраженной реакция выработки интерферонов, считалась при подъеме уровня сИФН ≥ 2 ЕД/мл, ИФН - α , - $\beta < 640$ ЕД/мл, ИФН - $\gamma < 128$ ЕД/мл и наблюдается при активной реакции организма на заболевание и определяет благоприятный прогноз заболевания. Умеренной реакция выработки интерферонов считалась, когда уровень индукции колебался в пределах с ИФН ≥ 2 ЕД/мл, ИФН - α , - β в пределах 160-230 МЕ, ИФН - γ 23-64 ЕД/мл, что соответствует вялотекущим и хроническим заболеваниям. В этих ситуациях для усиления иммунного ответа проводится дополнительная стимуляция.

Недостаточной реакцией выработки интерферонов, считался уровень с ИФН в пределах с ИФН ≥ 2 ЕД/мл, ИФН - α , - $\beta < 80$ ЕД/мл, ИФН - $\gamma < 8$ ЕД/мл. Подобное состояние интерферонового статуса наблюдается при рецидивирующих

хронических заболеваниях, иммунодефицитных состояниях, при которых иммунитет не в состоянии поддерживать необходимый уровень защиты организма и необходима компенсаторная иммунокоррекция. Депрессивная реакция (анергия) индукции интерферона соответствовала показателям сИФН <2 ЕД/мл, ИФН $-\alpha, -\beta <20$ ЕД/мл, ИФН $-\gamma <4$ ЕД/мл. Подобное состояние наблюдается при иммунодефиците крайней степени, при онкологических заболеваниях, что указывает на подавленное состояние иммунитета и крайне неблагоприятное развитие болезни.

Таким образом, при анализе исходных показателей интерферонов до лечения у всех пациентов, можно констатировать, что содержание сывороточных интерферонов у больных во всех группах до лечения было критически снижено. Уровень ИФН-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 ИФН- 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).

Кроме того, обнаружен феномен совокупного дефицита 2^x интерферонов ($-\alpha, -\gamma$), имеющих важное значение в механизмах канцерогенеза и противоопухолевого иммунитета. Таким образом, недостаточная реакция продукции интерферонов, соответствующая дефициту 3 степени тяжести, нами выявлена у 58 больных, среди которых 41 пациент с первичными опухолями T₁₋₂ N₀M₀ с II и III - ей степенью изъязвления и 17 пациентов с рецидивными формами БКК с характеристикой опухоли T₂ N₀M₀ (более 2 см) с III - ей степенью изъязвления и различными морфотипами опухоли, что подтверждает неспособность иммунитета поддерживать необходимый уровень защиты организма. Уровень депрессивной, (анергичной) реакции продукции интерферонов, соответствующий дефициту 4 степени тяжести, нами выявлен у 17 пациентов, только с рецидивирующей формой БКК с характеристикой T₂ N₀M₀ (от 2 до 5 см) и агрессивным морфотипом (9 пациентов с морфотипом морфеа, 3 смешанного морфотипа с

инфильтративным характером роста, 5 солидно-морфеаподобным морфотипом строения опухоли).

О б о с н о в а н и е

Развитие и прогрессирование БКК в значительной степени связано с состоянием целого ряда звеньев противоопухолевого иммунитета и, соответственно, формой иммунопатологии, определяющей клиническую картину заболевания, степень агрессии и инвазивности. При выраженном подавлении выработки интерферонов лейкоцитами, что наблюдается при недостаточной и/или депрессивной (анергичной) реакции системы ИФН, назначение иммуностимулирующих препаратов малоперспективно, поскольку система ИФН (как и другие защитные системы) не в состоянии адекватно ответить на интенсивное стимулирующее воздействие.

В связи с этим, мы сочли целесообразным применение иммунокомпенсаторной цитокинотерапии с применением препаратов рекомбинантного человеческого интерферона альфа 2_b (рч ИФН- α_{2b}). Согласно литературным данным интерферон обладает помимо противовирусного иммуномодулирующим действием через стимуляцию продукции иммуноглобулинов классов М и G, Т-хелперов, секреции ИЛ-1 моноцитами, что приводит к активации Т-лимфоцитов, повышает активность естественных киллеров и макрофагов, увеличивает цитостатический эффект лейкоцитов за счет увеличения числа антигенов на их поверхности, увеличивает продукцию антител. Эти эффекты очень важны для лечения больных БКК, у которых как мы показали в главе 4 наблюдается грубое снижение продукции интерферонов и их совокупный дефицит. Кроме того, интерферон обладает противоопухолевым воздействием через стимуляцию экспрессии опухолевыми клетками Fas, а не только Fas-лиганда, который они сами активно продуцируют, взаимодействие Fas и Fas лиганда обеспечивает альтернативный механизм регрессии опухоли. Интерферон обладает и прямым воздействием на опухолевые клетки, вызывая их лизис [55], увеличивая продолжительность цикла клеточного деления [74], вызывая модуляцию онкогенов c-fos и др., снижая

продукцию метаболитов, необходимых для опухолевых клеток [89, 120], а также воздействует опосредованно – через иммунитет [24,74,89] и ангиогенез.

Таким образом, введение в терапию препаратов интерферона α_2 является патогенетически обоснованным. Непосредственное введение препаратов в опухоль может повысить эффективность их действия.

В соответствии с полученными результатами нашего 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 зависила 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 вводился в опухолевый очаг на глубину не менее 3мм, но не более 5 мм в однократной дозе 2,5 000 000 млн МЕ, ежедневно до набора общей курсовой дозы 20 – 25 000 000 млн МЕ. Протокол инъекций предусматривал равномерное распределение и кумуляцию препарата в ткани опухоли, для чего препарат вводился последовательно в разные точки опухоли строго по часовой стрелке. Через 6 часов после процедуры интратуморальной инъекции, на всю поверхность опухолевого очага равномерно наносится препарат *Вартоцид 5%* крем в дозе 10 мг крема на 1 см² поверхности опухоли, один раз в день, в течение 3-6 недель. После завершения курса интратуморальных инъекций, проводился курс препаратом *Виферон* в виде свечей (*per rectum*), в дозе 1 млн один раз в сутки (курс 15 дней, курсовая доза 15 000 000млн ЕД). На первые инъекции *Интрона А*, у большинства пациентов возникало гриппоподобное состояние и температурная реакция до 37,5—39°С, которые проходили в течении нескольких часов.

Основной курс интратуморальных инъекций может проводится, как в стационаре, так и в амбулаторных условиях. Пациенты хорошо переносят интратуморальные инъекции препарата «Интрон А» в формате ручка –шприц,

которые не требуют премедикации, так как не вызывают болезненных ощущений. Противопоказаний и выраженных осложнений не зафиксировано. Противоопухолевый эффект ИФН-терапии продолжался в течение 8 недель, по окончании которого мы проводили контрольный осмотр больного и исследование показателей интерферонового статуса. В случае неполного регресса опухоли и неудовлетворительных показателей ИФН статуса, курс лечения повторяется.

Комплексную цитокинотерапию в соответствии с разработанным нами протоколом получили 75 пациентов с результатом клинического и цитологического выздоровления. При анализе результатов лечения в группах пациентов, мы видим, что детальное подразделение опухолей в пределах групп $T_{1-2}N_0M_0$, оказалось так же важным для дальнейшей оценки эффекта и терапевтических рекомендаций, так как именно больший размер T_2 и степень деструкции опухоли (II-III степень изъязвления), рецидивный характер течения и агрессивный морфотип, в большинстве случаев соответствовали анергии системы интерферонов организма и требовали более длительного лечения.

Пациентам с установленным дефицитом 3 степени тяжести, с *первичными* опухолями и размером не более 2 см ($T_1 N_0M_0$) с II и III - ей степенью изъязвления (41 человек), потребовалось от 2 до 3 курсов лечения, для полного клинического ответа с дерматоскопически подтвержденным излечением. Необходимость и достаточность курсов терапии была обоснована и подтверждалась контролем динамики показателей интерферонового статуса, в частности интенсивность повышения уровня индуцированного ИФН- γ под действием препарата, определяла количество необходимых курсов лечения.

Пациентам с установленным дефицитом 3 степени тяжести с *рецидивными* формами БКК с характеристикой опухоли $T_2 N_0M_0$ (более 2 см) с III - ей степенью изъязвления (17 человек), проведено три курса цитокинотерапии для полного клинического ответа и дерматоскопически подтвержденного выздоровления. Необходимость и достаточность количества курсов терапии была обоснована и подтверждена контролем динамики показателей интерферонового статуса, в

частности, наличие сильно выраженной реакции организма на препарат, повышение (более чем в 4 раза) уровня индуцированного ИФН- γ под его действием, определяла количество курсов лечения. Так, 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, выявлен только у пациентов с рецидивирующими формами БКК и с характеристикой $T_2 N_0 M_0$ (от 2 до 5 см) с II и III - ей степенью изъязвления и структурой агрессивного морфотипа, потребовалось 5 курсов лечения, что обусловлено депрессивным (анергичным) состоянием иммунной системы и указывает на предельный дефицит функциональной активности иммунитета, а, следовательно, и на высокие риски развития рецидива БКК. Этой группе пациентов потребовалось проведение более длительной курсовой иммунокомпенсаторной иммунокоррекции, в связи с выраженным дефицитом ИФН- γ (анергией) до лечения и со слабой ответной реакцией организма на препарат, повышение (в 2-3 раза) уровня индуцированного ИФН- γ под его действием. 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 II и III степенью изъязвления и структурой агрессивного морфотипа.

По результатам конфокальной лазерной сканирующей *in vivo* микроскопии, проведенной в динамике до и после лечения среди обследуемых пациентов, отмечалось отсутствие признаков наличия крапчатой пигментации, воспалительного инфильтрата, уменьшение количества расширенных сосудов, участки атрофии на месте очага БКК.

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 , - β , - γ) и уровня степени дефицита индукции интерферонов как прогностических факторов долгосрочных результатов лечения, а так же 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. 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.

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 N₀ M₀** наблюдались в 35 случаях, из них первичные **49%**, а рецидивные формы составили **51%**. Опухоли размером **T₂ N₀ M₀** 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 2^x 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

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

1. 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.
2. Метод может быть использован при любой локализации и размерах опухоли, не имеет противопоказаний, не травматичен и легко переносится больными.
3. 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 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

ДИКЖ – дерматологический индекс качества жизни

ММП – матричные металлопротеазы

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Апатенко, А.К. Эпителиальные опухоли и пороки развития кожи/А.К. Апатенко. - Москва : Медицина, 1973. – 150 с.
2. Ахтямов, С.Н. Практическая дерматокосметология / С.Н. Ахтямов, Ю.С. Бутов. - Москва: Геотар, 2006. - 19-22с.
3. Богуш, П.Г. Дерматоонкологическая помощь населению: актуальные задачи/П.Г. Богуш, И.Г. Богуш, Г.Д. Селицкий// Вестник дерматологии и венерологии. – 2003. - №6. – с. 7—9.
4. Василевская, Е.А. Современные методы лечения базально-клеточного рака кожи/Е.А. Василевская//Клиническая дерматология и венерология. – 2015. -№3. – с. 5-10.
5. Волгин, В.Н. Базально-клеточный рак кожи: диагностика, лечение (часть 1)/В.Н. Волгин, Т.В. Соколова, М.С. Колбина, А.А. Соколовская//Вестник дерматологии и венерологии. – 2013. - №7. – с. 9 – 13.
6. Волгин, В.Н. Базально-клеточный рак кожи: диагностика, лечение (часть 2)/В.Н. Волгин, Т.В. Соколова, М.С. Колбина, А.А. Соколовская//Вестник дерматологии и венерологии. – 2013. - №7. – с. 17 – 19.
7. Волгин, В.Н. Сравнительная характеристика различных видов лечения базально-клеточного рака кожи/В.Н. Волгин, Е.Ф. Странацко, О.В. Тришкина, М.А. Кабанова, Р.В. Кагоянц//Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2013. - №7. – с. 23-30.
8. Владимиров, В.В. Роль классификации фототипов кожи при выборе рациональной фототерапии/В.В. Владимиров// Вестник дерматологии и венерологии. – 2009. - №4. - с.65-67.

9. Галил-Оглы, Г. А. Дерматоонкология. /Г.А. Галил-Оглы. – Москва: Геотар, 2005. - 368с.
10. Гамаюнов, С.В. Локальные методы терапии базально-клеточного рака кожи. Онкология, гематология и радиология/С.В. Гамаюнов, К.С.Корчагина//Специальный выпуск «Меланома» Эффективная фармакотерапия. -2016. - №39. – с.74-75.
11. Гамаюнов, С.В. Базально-клеточный рак кожи – обзор современного состояния проблемы/С.В. Гамаюнов, С.В. Шумская// Практическая онкология. – 2012. - №13. – с. 92-106.
12. Гистологическая классификация опухолей кожи ВОЗ.- Ж. :1996. – 25с.
13. Давыдов, М.И. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2004 г./М.И. Давыдов, Е.М. Аксель// Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. – 2006. - №17. – с. 12-16.
14. Денисов, Л.Е. Активное выявление злокачественных новообразований кожи / Л.Е. Денисов, М.И. Курдина, Н.С. Потекаев, В.Д. Володин - Москва: Геотар, 1995. – 57 с.
- 15.Дороженков, И.Ю. Психические расстройства, провоцируемые хроническими дерматозами: клинический спектр / И.Ю. Дороженков, А.Н. Львов // Вестник дерматологии и венерологии. - 2009. - № 4. - с. 35–41.
16. Ершов, Ф.И. Интерферон и его индукторы/ Ф.И. Ершов, А.С. Новохатский – Москва: Заря, 1980. – 39с.
17. Ершов, Ф.И. Система интерферона в норме и при патологии/Ф.И. Ершов – Москва: Заря, 1996. – 48-52с.
18. Ершов, Ф.И. Интерфероновый статус в норме/ Ф.И. Ершов, Е.Л. Готовцева, И.И. Носик//Иммунология. -1986. - №3. – с. 52–54.

19. Ежова, М.Н. Базалиома кожи. Особенности клинической картины и лечение: пособие для врачей/ М.Н. Ежова, Е.С. Снарская.- Москва: Геотар, 2003. 120 с.
20. Ежова, М.Н. Современные методы лечения различных форм базально-клеточного рака кожи/М.Н. Ежова//Российский журнал кожных и венерических болезней. – 1998. - № 2. – с. 8–12.
21. Заславский, Д.В. Применение препарата имихимод в лекарственной форме крем 5% в терапии базальноклеточного рака/Д.В. Заславский, И.Н. Чупров, А.А. Сыдилов// Вестник дерматологии и венерологии. -2015. - №73. - 25-28 с.
22. Индилова, Н.И. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия в дерматологии. Часть I / Н.И. Индилова // Пластическая хирургия и косметология. - 2012. - № 1. - с.78-81.
23. Каприн, А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность) //А.Д. Каприн - Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «ФМИЦ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2017. - 250 с.
24. Королева, Л.П. К эффективности околоопухолевой и внутриопухолевой интерферонотерапии базалиом/Л.П. Королева, В.А. Молочков, А.Н. Хлебникова// Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2007. - №5. – с. 54-58.
25. Курдина, М.И. Рак и предраковые дерматозы/М.И. Курдина// Российский журнал кожных и венерических болезней. – 1999. - №6. – с. 12-24.
26. Лукашева, Н.Н. Прижизненная отражательная конфокальная лазерная сканирующая микроскопия: история создания, принцип работы, возможности применения в дерматологии/ Н.Н. Лукашева, С.Б. Ткаченко, Н.Н. Потекаев, Т.С. Кузьмина, Е.А. Василевская // Клиническая дерматология и венерология. – 2008. - № 5. – с. 10—15.
27. Малишевская, Н.П. Эпидемиологические и клинко-морфологические особенности базально-клеточного рака кожи нетипичной локализации/ Н.П.

Малишевская, Е.Р. Стародубов, Е.Н. Малишевская// Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2000. - № 2. – с. 9–11.

28. Молочков, В.А. К вопросу о метастазировании базально-клеточного и метатипического рака кожи/ В.А. Молочков, Е.С. Снарская// Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2003. -№1. – с.7–9.

29. Молочков, В. А. Базалиома: клиника, диагностика, лечение, профилактика/В.А. Молочков//Consilium Medicum. Дерматология. – 2013. -№4. – с.40-44.

30. Молочков, В. А. К проблеме лечения базалиом кожи. /В.А. Молочков, Е.С. Снарская, П.Ю. Поляков, А.В.Афонин, Т.Е. Сухова, Ю.С. Романко// Российский журнал кожных и венерических болезней. - 2005. - №6. – с. 4-9.

31. Огрызко, Е.В. Эпидемиологическая ситуация по заболеваемости новообразованиями кожи в Российской Федерации в 2000–2006 гг. / Е.В. Огрызко, М.Е. Иванова, В.Н. Волгин//Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2008. -№6. – с. 4–8.

32. Олисова, О.Ю. Кожа и солнце / О.Ю. Олисова, Е.В. Владимирова, А.М. Бабушкин // Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2012. – №6. - с.57-63.

33. Олисова О.Ю. Фотостарение кожи: современный взгляд на проблему/О.Ю. Олисова, С.А. Громова, В.А. Смиренная// Российский журнал кожных и венерических болезней. - 2010. – № 2. - с.58-62.

34. Мордовцев, В.Н. Патология кожи /В.Н. Мордовцев– Москва: Медицина, 1993. – 167с.

35.Петрунин, Д.Д. Подходы к иммунокоррекции пациентов с рецидивирующим базально-клеточным раком кожи с различными иммунофенотипами. /Д.Д. Петрунин, С.В. Оковитый, А.В.Косталевская, С.В. Сучков//Вопросы онкологии. – 2012. -№58. – с. 406-415.

36. Писклакова, Т. П. Особенности течения базально клеточного рака кожи на Южном Урале. /Т.П. Писклакова, Ю.Н. Ковалев, С.М. Истомина, В.Н. Шевченко // Российский журнал кожных и венерических болезней. -1998. -№ 5. – с. 9–10.
37. Сергеев, Ю.В. Современные подходы к диспансеризации и профилактике рака кожи. / Ю.В. Сергеев, С.В. Борисова, С.И. Шубина // Кремлевская медицина. – 2000. -№ 3. –с. 38–40.
38. Сергеев, Ю.В. Актуальные проблемы практической дерматоонкологии: рост заболеваемости, совершенствование диспансеризации и профилактика базальноклеточного рака кожи/ Ю.В. Сергеев, С.В. Борисова, С.И. Шубина// Российский журнал кожных и венерических болезней. -1999. - №1. –с. 8–11.
39. Снарская, Е.С. Матриксные металлопротеиназы и их тканевые ингибиторы при базально-клеточном и метатипическом раке кожи / Е.С. Снарская, В.А. Молочков, Г.А. Франк, Л.Э. Завалишина // Архив патологии. - 2005. -№ 3. - с.14-18.
40. Снарская, Е.С. Развитие множественных опухолей различного генеза в процессе фотостарения кожи / Е.С. Снарская, А.И. Борисова, К.А. Чонглян // Российский журнал кожных и венерических болезней. - 2011. –№ 4. – с. 13-18.
41. Снарская, Е.С. Фотостарение кожи: современные аспекты / Е.С.Снарская // Вестник дерматологии и венерологии. - 2011. –№ 2. - с. 98-103.
42. Снарская, Е.С. Экспериментальный метатипический рак кожи (первая отечественная модель) / Е.С. Снарская, В.А. Молочков, Л.Н. Пылев, Л.А. Васильева // Российский журнал кожных и венерических болезней. - 2004. – №6. – с. 66-70.

43. Снарская, Е.С. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия, как неинвазивный метод оценки степени агрессивности эпителиальных новообразований/ Е.С. Снарская, С.Б. Ткаченко, Е.В. Кузнецова//Российский журнал кожных и венерических болезней. -2016. -№18. –с.132-38.
44. Снарская, Е.С. Современный менеджмент и терапевтическая стратегия базальноклеточного рака кожи/Е.С. Снарская// Вопросы онкологии. – 2013. - № 4. – с. 23-25.
45. Снарская, Е.С. Базалиома/ Е.С. Снарская, В.А. Молочков. –Москва: Практическая Медицина, 2018. – 130 с.
46. Суколин, Г.И. Роль генетических и средовых факторов в клиническом полиморфизме и эпидемиологии опухолей кожи/ Г.И. Суколин, Г.Г.Тимошин, Т.Б. Трофимова. - Москва: Геотар, 1991. – 200с.
- 47.Сухова,Т.Е. Сравнительные исследования эффективности фотодинамической терапии и криодеструкции в лечении актинического кератоза/Т.Е. Сухова, К.А. Чанглян, А.В. Молочков, В.А. Молочков, С.В. Коренев, Ж.С. Кунцевич, Ю.В. Молочкова, В.Н. Галкин, Ю.С. Романко// Biomedical Photonics. – 2016. - № 5. – с. 19-29.
48. Таранец, Т.А. Фотодинамическая терапия базально-клеточного рака кожи с локальным и внутривенным использованием фотосенсибилизатора хлоринового ряда «Фотолон»/Т.А. Таранец, Т.Е. Сухова, Ю.С. Романко// Альманах клинической медицины. - 2007. - №15. – с.283-288.
49. Хлебникова, А.Н. Морфологические особенности актинического кератоза/А.Н. Хлебникова, М. А. Бобров, Е.В. Селезнева, К.А. Чанглян// Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2012. – №2. - с.10-15.
50. Хлебникова, А. Н. Новые подходы к лечению базальноклеточного рака кожи на основе интерферонотерапии и криодеструкции/А.Н. Хлебникова// Клиническая дерматология и венерология. - 2007. -№ 5. –с. 49-54.

51. Хлебникова, А.Н. Гистологические варианты базальноклеточного рака кожи / А.Н. Хлебникова, И.А. Казанцева//Российский журнал кожных и венерических болезней. – 2000. -№2. –с. 4-9.
- 52.Штиршнайдер, Ю.Ю. Современные неинвазивные технологии визуализации в дерматологии/Ю.Ю. Штиршнайдер, А.В. Миченко, О.Р. Катунина, А.Р. Зубарев // Вестник дерматологии и венерологии. – 2011. – №5. – с. 41–53.
53. Adam, I. Basal-Cell Carcinoma/ I. Adam, M. Rubin, H. Elbert// Engl J Med. -2005. - №353. – p. 2262–9.
54. Ahnlide, I. Superficial basal cell carcinoma: Dermoscopy adds meaningful accuracy and predictive power to preoperative examination /I. Ahnlide, I. Zalaudek//Br J Dermatol. – 2016. -№9. – p.751-61.
55. Anasagasti-Angulo, L. Treatment of advanced, recurrent, resistant to previous treatments basal and squamous cell skin carcinomas with a synergistic formulation of interferons. Open, prospective study. /L. Anasagasti-Angulo, Y. Garcia-Vega//BMC Cancer. – 2009. - №9. – p.262.
56. Anca, Chiriac., Superficial basal cell carcinoma treated with 70% trichloroacetic acid applied topically: a case study/ Chiriac Anca, Piotr Brzezinski// Clinical, Cosmetic and Invastigional Dermatology. -2017. -№10. - p.67-69.
57. Alaluf, S. Ethnic variation in melanin content and composition in photoexposed and photoprotected human skin / S. Alaluf, D. Atkins, K. Barrett, M. Blount, N. Carter, A. Heath // Pigment Cell Res. – 2002. - №15(2). – p. 112-118.
58. Alarcón, I. Clinical usefulness of reflectance confocal microscopy in the management of facial lentigo maligna melanoma / I. Alarcón, C. Carrera, S. Puig, J. Malveyh//Actas Dermosifiliogr.–2014. - №105. - p13-17.
59. Amar, N. Combined inhibition of atypical PKC and histone deacetylase 1 is cooperative in basal cell carcinoma treatment. / N. Amar, N. Mirza, A. Micah// JCI Insight. – 2017. - №9. –p. 249-251.

60. Bae, S. Development of a high-throughput screening system for identification of novel reagents regulating DNA damage in human dermal fibroblasts/S. Bae, I.S. An, S. An // *An Acta Pharm.* – 2015. - № 65. – p. 331-341.
62. Bastiaens, M.T. Differences in age, site distribution, and sex between nodular and superficial basal cell carcinoma indicate different types of tumor / M.T. Bastiaens, J.J. Hoefnagel, J.A. Bruijn, R.G. Westendorp, B.J. Vermeer, J.N. Bouwes Bavinck // *J Invest Dermatol.* – 1998. – № 110. – p. 880–884.
64. Battie, C. New insights in photoaging, UVA induced damage and skin types / C. Battie, S. Jitsukawa, F. Bernerd, S. Del Bino, C. Marionnet, M. Verschoore // *Exp. Dermatol.* – 2014. – № 23. – p. 7-12.
65. Bergers, G. Extrinsic regulators of epithelial tumor progression: metalloproteinases / G. Bergers, L. M. Coussens // *Curr Opin Genet Dev.* – 2000. – № 10. – p. 120–127.
66. Berry, L. Immunohistochemical nuclear staining for p53, PCNA and Ki 67 in different histologic variants of basal cell carcinoma/L. Berry, M. Barrett// *J. American Acad. of Dermatol.* - 1997. - № 37. - p. 430-437.
67. Beissert, S. Molecular and Cellular Mechanisms of Photocarcinogenesis/S. Beissert, K. Loser// *Photochemistry and Photobiology.* - 2008. - № 84. - p. 29–34.
68. Birkedal-Hansen, H. Matrix metalloproteinases: a review / H. Birkedal-Hansen, W. G. Moore, M.K. Bodden, L.J. Windsor, B. Birkedal-Hansen, A. DeCarlo, Engler // *Crit Rev Oral Biol Med.* – 1993. - № 4. – p. 197-250.
69. Bilaç, C. Chronic actinic damage of facial skin / C. Bilaç, M.T. Şahin, S. Öztürkcan // *Clin Dermatol.* – 2014. - № 32. – p. 752-762.
70. Birkedal-Hansen, H. Matrix metalloproteinases: a review / H. Birkedal-Hansen, W. G. Moore, M.K. Bodden, L.J. Windsor, B. Birkedal-Hansen, A. DeCarlo, Engler // *Crit Rev Oral Biol Med.* – 1993. - № 4. – p. 197-250.
71. Bissell, M. J. Why don't we get more cancer? A proposed role of the microenvironment in restraining cancer progression / M.J. Bissell, W.C. Hines // *Nat*

Med. – 2011. - № 17. – p. 320-329.

72. Braun-Falco, O. Dermatologica Second Edition/ O. Braun-Falco. - Berlin: Springer-Verlag, 2000. – 1482p.

73. Burke, K. Synergistic damage by UVA radiation and pollutants / K. Burke, H. Wei // Toxicol Ind Health. – 2009. - № 25. – p. 219-224.

74. Buechner, S. Intralesional interferon in basal cell carcinoma: how does it work? /S. Buechner, M. Wernli//Recent Results Cancer Res. – 2002. - №160. – p.246-50.

75. Cadet, J. Oxidatively generated damage to cellular DNA by UVB and UVA radiation / J. Cadet, T. Douki, J.L. Ravanat // Photochem Photobiol. - 2015. - №91. – p.140-155.

76. Căruntu, C. In vivo reflectance confocal microscopy of basal cell carcinoma with cystic degeneration /C. Căruntu, D. Boda, D.E. Guțu, A. Rom Căruntu // J Morphol Embryol. – 2014. -№ 55. – p. 1437-1441.

78. Chen, B. Astragaloside IV controls collagen reduction in photoaging skin by improving transforming growth factor- β /Smad signaling suppression and inhibiting matrix metalloproteinase-1 /B. Chen, R. Li, N. Yan, G. Chen, W. Qian, H. L. Jiang, C. Ji, Z. G. Bi. // Mol Med Rep. – 2015. - №11. – p. 3344-3348.

79. Chen, C. Confocal microscopy-guided laser ablation for superficial and early nodular Basal cell carcinoma: a promising surgical alternative for superficial skin cancers / C. Chen, H. Sierra, M. Cordova, M. Rajadhyaksha // JAMA Dermatol. – 2014. - № 150. – p. 994-998.

80. Chinem, V.P. Prevalence of actinic skin lesions in patients with basal cell carcinoma of the head: a case-control study / V.P. Chinem, H.A. Miot // Rev Assoc Med Bras. – 2012. - № 58. – p. 188-196.

81. Chouaib, S. The host-tumor immune conflict: from immunosuppression to resistance and destruction / S. Chouaib, C. Asselin-Paturel, F. Mami-Chouaib, A.

Caignard, J. Y. Blay // Immunol. Today. – 1997. – № 18. – p. 493-497.

82. Cinotti, E. Skin tumours and skin aging in 209 French elderly people: the PROOF study / E. Cinotti, J. L. Perrot, B. Labeille, A. C. Biron, A. Vierkötter// Eur J Dermatol. - 2016. - № 26. – p. 470-476.

83. Cinotti, E. Sensitivity of handheld reflectance confocal microscopy for the diagnosis of basal cell carcinoma: A series of 344 histologically proven lesions / E. Cinotti, C. Jaffelin, V. Charriere, P. Bajard, B. Labeille, A. Witkowski, F. Cambazard, J.L. Perrot // J Am Acad Dermatol. – 2015. - № 73. – p. 319-320.

84. Clark, C.M. Basal cell carcinoma: an evidence-based treatment update/C.M. Clark, M. Furniss// J Am J Clin Dermatol. - 2014. - №15. – p.197-216.

85. Collins, S. Clinical presentation in «Cutaneous Oncology»/S. Collins. – Oxford: Oxford University Press, 1998. - 625–632p.

86. Coussens, L. Inflammatory mast cells up-regulate angiogenesis during squamous epithelial carcinogenesis / L. Coussens// Genes Dev. – 1999. – №13. – p. 1382–1397.

87. Coventry, B.J. Lack of IL-2 cytokine expression despite IL-2 messenger RNA transcription in tumour-infiltrating lymphocytes in primary human breast carcinoma: selective expression of early activation markers / B.J. Coventry, S.C. Weeks, S.E. Heckford, P.J. Sykes, J. Bradley, J.M. Skinner // J. Immunol. – 1996. – № 156. – p. 3486-3492.

88. Dréno, B. Management of actinic keratosis: a practical report and treatment algorithm from AKTeam™ expert clinicians / B. Dréno, J.M. Amici, N. Basset-Seguin, B. Cribier, J.P. Claudel, M.A. Richard // J Eur Acad Dermatol Venereol. – 2014. - № 28. – p. 1141-1149.

89. Fernández-Vozmediano, J.M. Treatment of basal cell carcinoma of the nasal pyramid with intralesional interferon alfa-2b. / J.M Fernández-Vozmediano, J.C Armario-Hita //J Drugs Dermatol.- 2010. - №9. – p. 381-384.

90. Gon, A. Risk factors for basal cell carcinoma in a southern Brazilian population: a case-control study / A. Gon, L. Minelli // *International Journal of Dermatology*. - 2011. - № 50. – p. 1286-1290.
91. Guida, S. Update on the use of confocal microscopy in melanoma and non-melanoma skin cancer / S. Guida, C. Longo, A. Casari, S. Ciardo, M. Manfredini, C. Reggiani, G. Pellacani, F. Farnetani // *G Ital Dermatol Venereol*. – 2015. - №150. – p. 547-563.
92. Halliday, G.M. Ultraviolet A radiation: its role in immunosuppression and carcinogenesis / G.M. Halliday, S.N. Byrne, D.L. Damian // *Semin Cutan Med Surg*. – 2011. - № 30. – p. 214-221
93. Hibler, B.P. Radiation therapy for synchronous basal cell carcinoma and lentigo maligna of the nose: Response assessment by clinical examination and reflectance confocal microscopy / B.P. Hibler, K.L. Connolly, M. Cordova, K.S. Nehal, A.M. Rossi, C.A. Barker // *Pract Radiat Oncol*. – 2015. - №5. – p.543-7.
94. Horn, M. Discrimination of Actinic Keratoses from Normal Skin with Reflectance Mode Confocal Microscopy / M. Horn, A. Gerger, V. Ahlgrimm-Siess, W. Weger, S. Koller, H.Kerl, H.Samonigg, J.Smolle, R.Hofmann-Wellenhof // *Dermatologic Surgery*. - 2008. – № 34. – p. 620–625.
95. Inan Yuksel, E. The reflectance confocal microscopy in diagnosis of recurrent basal cell carcinoma / E. Inan Yuksel, M.S. Gurel, A. Turgut Erdemir, A.E. Koku Aksu, I.S. Bagci, C. Leblebici//*J Dermatolog Treat*. – 2015. - № 7. – p. 25-26.
96. Jason, M. Combination Vismodegib and Photodynamic Therapy for Multiple Basal Cell Carcinomas. / M. Jason, Rizzo, J. Robert J, Segal, Nathalie C. Zeitouni // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. – 2017. - №21. - p 58 – 62.
97. Kadouch, D.J. In vivo confocal microscopy of basal cell carcinoma: a systematic review of diagnostic accuracy / D.J. Kadouch, M.E. Schram, M.M. Leeflang, J. Limpens, P.I. Spuls, M.A. de Rie // *J Eur Acad Dermatol Venereol*. – 2015. - №29. – p.

1890-1897.

98. Karagas, M.R. Early-onset basal cell carcinoma and indoor tanning: a population-based study / M.R. Karagas, M.S. Zens, Z. Li, T.A. Stukel, A.E. Perry, D. Gilbert-Diamond, V. Sayarath, R.S. Stephenson, D. Barton, H.H. Nelson, S.K. Spencer // *Pediatrics*. – 2014. - № 134. – p. 4-12.
99. Lindberg-Larsen, R. Evaluation of recurrence after photodynamic therapy with topical methylaminolaevulinate for 157 basal cell carcinomas in 90 patients. / R. Lindberg-Larsen, H. Sølvesten, K. Kragballe// *Acta Derm Venerol*. – 2012. - №92. – p. 144-147.
100. Longo, C. Confocal microscopy insights into the treatment and cellular immune response of Basal cell carcinoma to photodynamic therapy / C. Longo, A. Casari, P. Pepe, E. Moscarella, I. Zalaudek, G. Argenziano, G. Pellacani // *Dermatology*. – 2012. - №225. – p. 264-270.
101. Longo, C. Proposal for an in vivo histopathologic scoring system for skin aging by means of confocal microscopy / C. Longo, A. Casari, B. De Pace, S. Simonazzi, G. Mazzaglia, G. Pellacani // *Skin Res Technol*. – 2013. - №19. – p.167-73.
102. Longo, C. Skin aging: in vivo microscopic assessment of epidermal and dermal changes by means of confocal microscopy / C. Longo, A. Casari, F. Beretti, A. M. Cesinaro, G. Pellacani // *J Am Acad Dermatol*. - 2013. - № 68. – p. 73-82.
103. Malvy, Jm. Epidemiologic determinants of skin photoaging: baseline data of the SU.VI.MAX. cohort / Jm. Malvy, G. Guinot, P.Preziosi, L. Vaillant, M. Tenenhaus, P. Galan, S. Hercberg, E. Tschachler // *J Am Acad Dermatol*. – 2000. - №42. – p. 47-55.
104. Martires, K.J. Factors That Affect Skin Aging: a cohort-based survey on twins / K.J. Martires, P. Fu, A.M. Polster, K.D. Cooper, E.D. Baron // *Arch Dermatol*. – 2009. - №145. – p. 1375-1379.
105. Montagna, W. Histology of sun-damaged human skin /W. Montagna, S. Kirchner, K. Carlisle // *J Am Acad Dermatol*. – 1989. -№ 21. – p. 907-918.

106. Murphy, G. Progress in matrix metalloproteinase research / G. Murphy, H. Nagase // *Molecular Aspects of Medicine*. – 2008. – № 29. – p.290-308.
107. Nasti, T.H. Inflammasome activation of IL-1 family mediators in response to cutaneous photodamage / T.H. Nasti, L. Timares // *Photochem Photobiol*. – 2012. - №88. – p. 1111–1125.
108. Newell, B. Comparison of the microvasculature of basal cell carcinoma and actinic keratosis using intravital microscopy and immunohistochemistry / B. Newell, A.J. Bedlow, S. Cliff, S.B. Drysdale, A.W. Stanton, P.S. Mortimer // *Br J Dermatol*. – 2003. - №149. – p.105-110.
109. Pan, Z.Y. In vivo reflectance confocal microscopy of Basal cell carcinoma: feasibility of preoperative mapping of cancer margins / Z.Y. Pan, J.R. Lin, T.T. Cheng, J.Q. Wu, W.Y. Wu // *Dermatol Surg*. – 2012. - №38. – p.1945-1950.
110. Pandel, R.D. Skin Photoaging and the Role of Antioxidants in Its Prevention / R.D. Pandel, B. Poljšak, A. Godic, and R. Dahmane // *ISRN Dermatol*. - 2013. - №5. – p. 10-12.
111. Pawelec, G. Escape from host-antitumor immunity / G. Pawelec, J. Zeuthen, R. Kiessling // *Crit. Rev. Oncog*. – 1997. – № 8. – p. 111-141.
112. Peppelman, M. In vivo diagnosis of basal cell carcinoma subtype by reflectance confocal microscopy / M. Peppelman, E. A. Wolberink, W. A. Blokk, P. C. van de Kerkhof, P. E. van Erp, M. J. Gerritsen // *Dermatology*. – 2013. - №227. – p. 255-262.
113. Peppelman, M. Reflectance confocal microscopy: non-invasive distinction between actinic keratosis and squamous cell carcinoma /M. Peppelman, K.P. Nguyen, L. Hoogendoorn, P.E. van Erp, M.J. Gerritsen // *J Eur Acad Dermatol Venereol*. – 2015. - №29. – p. 1302-1309.
114. Rue, S.K. Through the looking glass: Basics and principles of reflectance confocal microscopy / S.K. Rue, N. Fraga-Braghiroli, J.M. Grant-Kels, H.S. Rabinovitz, M. Oliviero, A. Scope // *J Am Acad Dermatol*. – 2015. - №73. – p. 276- 279.

115. Rossi, A.M. Novel approaches to imaging basal cell carcinoma / A.M. Rossi, H. Sierra, M. Rajadhyaksha, K. Nehal // *Future Oncol.* – 2015. - № 11. – p. 3039-3046.
116. Scott, A.M. Clinical promise of tumor immunology / A.M. Scott, J. Cebon // *Lancet.* – 1997. - № 349. – p.19-22.
117. Scrivener, Y. Variations of basal cell carcinomas according to gender, age, location and histopathological subtype / Y. Scrivener, E. Grosshans, B. Cribier // *Br J Dermatol.* – 2002. – № 147. – P.241–247.
118. Segura, S. Dendritic cells in pigmented basal cell carcinoma: a relevant finding by reflectance-mode confocal microscopy / S. Segura, S. Puig, C. Carrera, J. Palou, J. Malvehy // *Arch Dermatol.* – 2007. - № 143. – p. 883-886.
119. Sierra, H. Confocal imaging-guided laser ablation of basal cell carcinomas: an ex vivo study / H. Sierra, M. Cordova, C.S. Chen, M. Rajadhyaksha // *J Invest Dermatol.* – 2015. - № 135. – p.612-615.
120. Tucker, S. Long-term follow-up of basal cell carcinomas treated with perilesional interferon alfa 2b as monotherapy. // Tucker S.B., Polasek J.W., Perri A.J., Goldsmith E.A. / *J Am Acad Dermatol.* - 2006. - №6. – p. 33-38.
121. Ulrich, M. In vivo confocal microscopy in dermatology: from research to clinical application / M. Ulrich M, S. Lange-Asschenfeldt // *J Biomed Opt.* – 2013. – № 18. – p. 29-35.
122. Ulrich, M. Peritumoral clefting in basal cell carcinoma: correlation of in vivo reflectance confocal microscopy and routine histology / M. Ulrich, J. Roewert-Huber, S. González, F. Rius-Diaz, E. Stockfleth, J. Kanitakis // *J Cutan Pathol.* – 2011. - №38. – p. 190-195.
123. Ulrich, M. In vivo detection of basal cell carcinoma: comparison of a reflectance confocal microscope and a multiphoton tomography / M. Ulrich, M. Klemp, M. E. Darwin, K. König, J. Lademann, M. C. Meinke // *J Biomed Opt.* – 2013. - № 18. – p.10-17.

124. Van der Leun, J.C. Climate change and human skin cancer / J.C.van der Leun, R.D. Piacentini, F.R.de Gruijl // PhotochemPhotobiol Sci. – 2008. - № 7. – p. 730-733.
125. Vanjaka-Rogošić, L. Matrix metalloproteinases and E-cadherin immunoreactivity in different basal cell carcinoma histological types / L. Vanjaka-Rogošić, N. Puizina-Ivić N, L. Mirić, V. Rogošić, I. Kuzmić-Prusac, M.S. Babić, D. Vuković, S. Mardešić // Acta Histochem. – 2014. –№ 16. – p.88-93.
126. Walther, U. Risk and protective factors for sporadic basal cell carcinoma: results of a two-centre case–control study in southern Germany. Clinical actinic elastosis may be a protective factor / U. Walther, M. Kron, S. Sander, G. Sebastian, R. Sander, R. U. Peter, M. Meurer, G. Krähn, P. Kaskel // British Journal of Dermatology. - 2004. – №11. – p. 70–78.
127. Wehner, M.R. Indoor tanning and non-melanoma skin cancer: systematic review and meta-analysis / M.R. Wehner, M.L. Shive, M.M. Chren, J. Han, A.A. Qureshi, E. Linos // BMJ. – 2012. – №5. – p.9.
128. Wu, S. Cumulative ultraviolet radiation flux in adulthood and risk of incident skin cancers in women/S. Wu, J. Han, R.A. Vleugels, R. Puett, F. Laden, D.J. Hunter, A.A. Qureshi // Br J Cancer. – 2014. - №10. – p. 55-61.