

И.В.Двораковская¹, И.С.Платонова¹, В.П.Молодцова¹, В.Н.Элиниди², И.А.Самусенко²

Папилломатоз трахеи (клинико-морфологическое исследование)

1 – НИИ пульмонологии и кафедра госпитальной хирургии ГОУ ВПО "Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова": 197089, Санкт-Петербург, ул. Рентгена, 12;

2 – Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины МЧС России: 194044, Санкт-Петербург, ул. Лебедева, 4 / 2

I.V.Dvorakovskaya, I.S.Platonova, V.P.Molodtsova, V.N.Elinidi, I.A.Samusenko

Tracheal papillomatosis: clinical and morphological study

Summary

The aim of this study was to evaluate prognostic value of histological and immunohistochemical (IHC) investigations in tracheal papillomatosis. Fifteen patients with tracheal papillomatosis were investigated clinically and morphologically. IHC examination was performed using antibodies against Ki67, p53, and Bcl-2 and the polymerase chain reaction (PCR). Cell mitotic activity, hyperchromatosis, nuclear polymorphism, and dyskeratosis with underlying squamous cell metaplasia were found. Atypical mitosis, basal atypia and early-stage invasion with the basal membrane destruction were revealed in 2 cases. Expression of human papillomavirus (HPV) types 6 and 11 (HPV-6 and HPV-11) was revealed in 1 patient; expression of HPV-6, HPV-11, and HPV-18 was revealed in 1 patient; expression of HPV-16 and HPV-18 was revealed in 1 patient, and expression of HPV-6, HPV-11, HPV-16, and HPV-18 was revealed in 2 patients. The HPV-16 and HPV-18 were expressed in the superficial epithelial layer and in the lamina propria of 2 patients with recurrent papillomatosis. The expression of Ki67, p53 and Bcl-2 accompanied by high mitotic activity and foci of dysplasia was found in 3 patients. A high expression of Ki67, p53 and Bcl-2 (+++) was revealed in 2 cases with cell atypia and malignant transformation of papilloma. The results have shown that HPV is thought to be the main etiologic factor of tracheal papillomatosis. The recurrent course of papillomatosis is characterized by worse prognosis. Levels of Ki67, p53 and Bcl-2 expression correlated to histological features of papillomatosis: the higher expression the more severe dysplasia and malignant transformation; this could influence the prognosis.

Key words: papillomatosis, trachea, human papillomavirus.

Резюме

Проведено клинико-морфологическое исследование 15 пациентов с папилломатозом трахеи. Для определения пролиферативной активности и апоптоза проведено иммуногистохимическое (ИГХ) исследование с антителами Ki 67, p 53, Bcl-2, а также полимеразная цепная реакция (ПЦР). Микроскопически на фоне плоскоклеточной метаплазии обнаружены клетки с митотической активностью, гиперхроматозом, полиморфизмом ядер, дискератозом. Выявлены атипические формы митоза, базальная атипия и начальные стадии инвазии с разрушением базальной мембраны в 2 случаях. Экспрессия вируса папилломы человека (ВПЧ) обнаружена у 13 пациентов, ВПЧ 16-го и 18-го типов – у 2 пациенток с рецидивирующим течением папилломатоза. Выраженная экспрессия (+++) Ki67, p53, Bcl-2 выявлена в 2 случаях с клеточным атипизмом и озлокачествлением папилломы. Полученные данные подтверждают значение ВПЧ как основного этиологического фактора в возникновении папилломы трахеи. Рецидивирующее течение папилломатоза имеет неблагоприятное прогностическое значение. Активность экспрессии Ki67, p53, Bcl-2 коррелирует с гистологической картиной папилломатоза: чем выше активность экспрессии, тем более выражены процессы дисплазии и озлокачествления, что имеет прогностическое значение.

Ключевые слова: папилломатоз, трахея, вирус папилломы человека.

Плоскоклеточная папиллома (экзофитная плоскоклеточная папиллома, сквамозная папиллома, множественный трахеобронхиальный папилломатоз, ювенильный ларингоbronхиальный папилломатоз, рецидивирующий дыхательный папилломатоз) – редкая опухоль, на долю которой среди опухолей дыхательной системы приходится < 0,5 % случаев [1]. По возрастным и клиническим особенностям выделяют 2 формы: ювенильную папиллому и папиллому взрослых. Ювенильные папилломы чаще рецидивируют и характеризуются множественными поражениями с развитием одышки. У взрослых чаще выявляется одиночная папиллома, которая может иметь бессимптомное течение, что не исключает кровотечения [2]. Она может возникать в 50–70 лет, чаще у мужчин [1, 2]. Папилломатоз нижних дыхательных путей часто сочетается с ларинготрахеальным папилломатозом; у взрослых такая локализация редка.

Ведущим этиологическим фактором является *human papilloma virus* (вирус папилломы человека –

ВПЧ). По данным некоторых авторов [1], наиболее часто папиллому вызывают вирусы 6-го и 11-го типов. Установлено, что из 70 идентифицированных типов вируса самой большой онкогенной активностью обладают 16-й и 18-й типы. Слизистая имеет нормальное строение в 20 % случаев при выявлении ВПЧ. Рост папиллом преимущественно экзофитный, эндофитная форма роста редка [1]. Курение, лучевая терапия, прием цитостатиков являются предрасполагающими факторами. Сквамозные папилломы, как правило, являются доброкачественными образованиями, однако в 20 % случаев наблюдаются рецидивы. Не исключается малигнизация, особенно кондиломатозных папиллом. Морфология папиллом однотипна. Макроскопически определяются гроздевидные образования на ножке, розового или красного цвета, различной консистенции, которые легко травмируются и кровоточат. В ряде случаев видны мелкобугорковые изменения слизистой. Гистологически выявляется эпителиально-фиброзный

пролиферат, в котором присутствует многослойный плоский эпителий с дискератозом, уплощением в поверхностных слоях, очагами акантоза, соединительнотканная строма сосочков с разной степенью ангиоматоза с отеочной рыхлой и / или грубой гиалинизированной соединительной тканью. Для эпителия характерно сморщивание ядер, перинуклеарные просветления, вакуоли, встречаются 2-ядерные клетки, немногочисленные митозы (20 % наблюдений). Возможны морфологические проявления тяжелой степени дисплазии с атипической формой митозов. Степень дисплазии определяется в соответствии с классификацией ВОЗ [1, 2]. В таких случаях необходима дифференциальная диагностика с высокодифференцированной плоскоклеточной карциномой. Для постановки или уточнения диагноза на современном этапе широко используются молекулярно-генетические методы исследования, которые расширяют возможности ранней диагностики и выбор адекватной терапии, позволяют решать прогностические задачи [3–8].

Цель исследования состояла в выявлении клинических, морфологических и иммуногистохимических (ИГХ) признаков, позволяющих прогнозировать клиническое течение папилломатоза трахеи.

Материалы и методы

В НИИ пульмонологии СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова в течение 28 лет было выявлено 54 случая папилломатоза трахеи и бронхов. Из них 15 пациентов с папилломатозом трахеи (6 мужчин и 9 женщин), средний возраст – 48,7 лет. Папилломатоз трахеи наблюдался с раннего возраста в 2 случаях с рецидивирующим течением, причем первично папилломатоз был выявлен в гортани.

Для гистологического исследования биопсийный материал фиксировался в 10%-ном нейтральном формалине, затем заливался в парафин, по общепринятой методике. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону. ИГХ-исследование включало в себя определение экспрессии Ki-67, Vcl-2, p53 с помощью моноклональных антител (*Novocastra Laboratories Ltd*, Великобритания). Оценка экспрессии проводилась с подсчетом иммунопозитивных клеток в областях с проявлением окрашивания от слабого до выраженного. В 9 случаях проведена полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Результаты и обсуждение

Основным клиническим проявлением папилломатоза был кашель – у 4 пациентов сухой, у 11 со слизистой мокротой. На приступообразный кашель жаловались 5 больных, в 3 случаях было отмечено кровохарканье. При компьютерной томографии у 2 больных в средней и нижней трети трахеи выявлено образование округло-овальной формы с сужением диаметра трахеи на 50 %. У 2 пациентов обнаружены рубцовые изменения $\frac{1}{3}$ трахеи после трахеотомии.

У 11 человек данных, свидетельствующих о папилломатозе, не было выявлено. Всем больным под местной анестезией выполнялась ларинготрахеобронхофиброскопия. Большинство пациентов получали общепринятую противовирусную терапию. Лазерная термокоагуляция папилломатозных разрастаний была выполнена 6 больным, многократная Nd-YAW-фотодинамическая терапия проведена в 2 случаях, 7 пациентам папилломы удалены бронхоскопически.

По основным клинико-морфологическим показателям и результатам лечения пациенты были распределены в 3 группы. Первую группу составили 7 пациентов со стойкой длительной ремиссией и исчезновением папилломатозных разрастаний после бронхологического удаления. При бронхоскопии обнаруживались одиночные розового (2 случая) или серовато-желтого цвета (5 случаев) бугорковые гроздевидные образования. При гистологическом исследовании биопсийного материала выявлялась многослойная плоская метаплазия эпителия (рис. 1) с уплощением поверхностного слоя и в 2 случаях – с участками паракератоза. Во всех наблюдениях был выражен акантоз с перинуклеарными просветлениями в клетках зон акантоза. Строма опухоли представлена рыхлой соединительной тканью с ангиома-

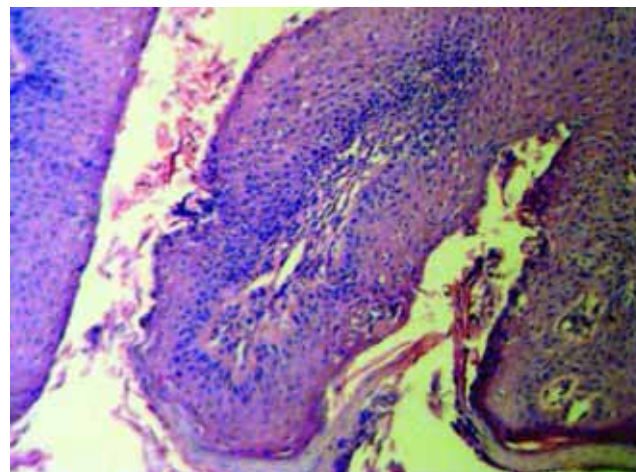


Рис. 1. Многослойная плоскоклеточная метаплазия эпителия с уплощением поверхностного слоя. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 100$

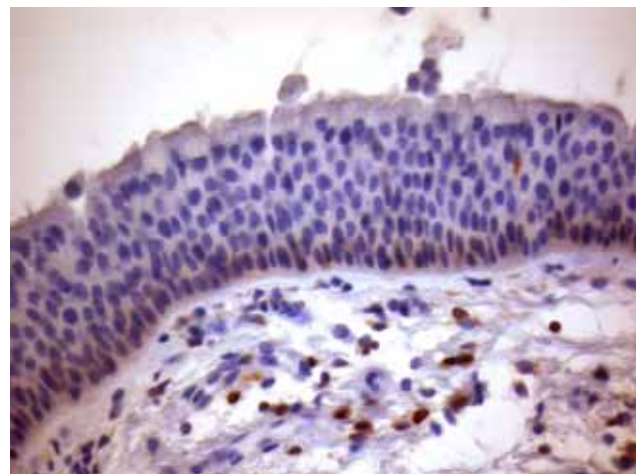


Рис. 2. Экспрессия Vcl-2 в мононуклеарах стромы

тозом. В 1 из 7 случаев наблюдалась выраженная стромальная воспалительная реакция с преобладанием клеток лимфоцитарного ряда. При ИГХ-исследовании обнаруживалась экспрессия ВПЧ 6-го и 11-го типов. Экспрессия Ki-67 и p53 в многослойном плоском эпителии была выражена слабо (+); слабая экспрессия Vcl-2 (+) выявлялась в 2 случаях и только в мононуклеарных клетках стромы (рис. 2).

У 2 из 5 пациентов 2-й группы выявлялись множественные папилломатозные образования и у 3 — одиночные образования. После проведенного лечения у всех 5 больных отмечалось исчезновение папиллом. При гистологическом исследовании была установлена папиллома с плоскоклеточной метаплазией, пролиферацией эпителиоцитов, в зонах пролиферации многослойного плоского эпителия имелись участки дискератоза, дисплазии с митотической активностью эпителия над базальным слоем. Строма была представлена волокнами рыхлой волокнистой ткани с большим количеством сосудов и мононуклеарным инфильтратом. При ИГХ-исследовании в поверхностных слоях эпителия в 3 случаях определялась экспрессия ВПЧ типов 6, 11 и 16, в 2 случаях — типов 6, 11 и 18. Активность Ki-67 обнаруживалась на всем протяжении эпителия по толщине на $\frac{1}{3}$ – $\frac{1}{4}$ (++), экспрессия p53 и Vcl-2 возрастала в сравнении с 1-й группой (++), причем экспрессия Vcl-2 выявлялась преимущественно в базальных слоях эпителия (рис. 3).

В 3-ю группу вошли 3 пациента. У 1 больного папилломатоз был диагностирован впервые, после проведения курса комплексной эндобронхиальной лазерной терапии при эндоскопическом исследовании патологии не выявлено. У 2 пациенток папилломатоз трахеи, несмотря на проведенное лечение, имел рецидивирующий характер, у 1 из них папилломатоз диагностирован в 4-летнем возрасте, у другой — после 30 лет. Продолжительное время гистологическая картина опухоли имела типовое доброкачественное течение. В 2009 г. в обоих случаях наблюдался рецидив папилломы. Макроскопически определялся папилломатоз в сочетании с атрофией слизистой, в 1 наблюдении — начальные

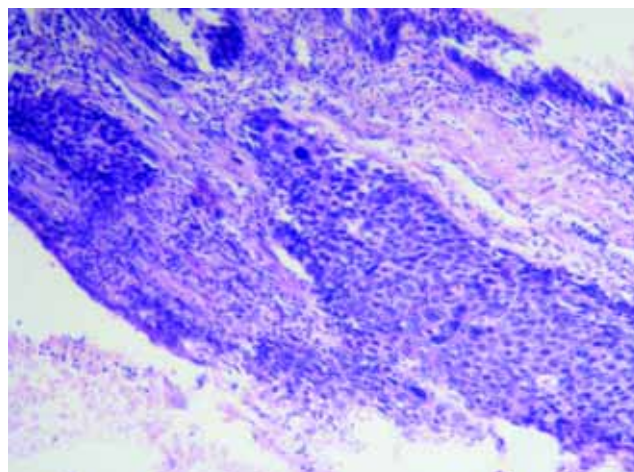


Рис. 4. Участок дисплазии с полиморфизмом ядер, атипическими формами митозов, проявления инвазивного роста с разрушением базальной мембраны. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 100$

проявления инвазивного роста с разрушением базальной мембраны (рис. 4). При гистологическом исследовании во всех 3 случаях в материале обнаруживались дискератоз с высокой митотической активностью, участки дисплазии с гиперкератозом и полиморфизмом ядер, увеличением ядерно-цитоплазматического соотношения в эпителиоцитах, атипическими формами митозов в участках базальноклеточной атипии. Экспрессия ВПЧ типов 16 и 18 выявлялась во всех слоях многослойного эпителия. Экспрессия Ki-67 обнаруживалась на всем протяжении эпителия по толщине на $\frac{1}{2}$ – $\frac{1}{3}$ (+++), экспрессия p53 (умеренная и выраженная) определялась в базальном слое, экспрессия Vcl-2 (рис. 5) отмечалась во всех слоях эпителиального пролиферата (+++).

Заключение

Проведенное комплексное сравнительное исследование подтвердило значение ВПЧ как основного этиологического фактора развития папилломы трахеи. Рецидивирующее течение папилломатоза трахеи имеет неблагоприятное прогностическое значение в связи с нарастанием морфологических

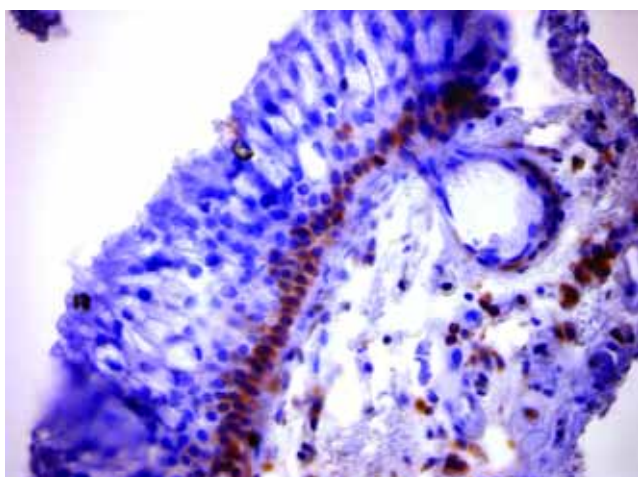


Рис. 3. Экспрессия Vcl-2 в мононуклеарах стромы и эпителии

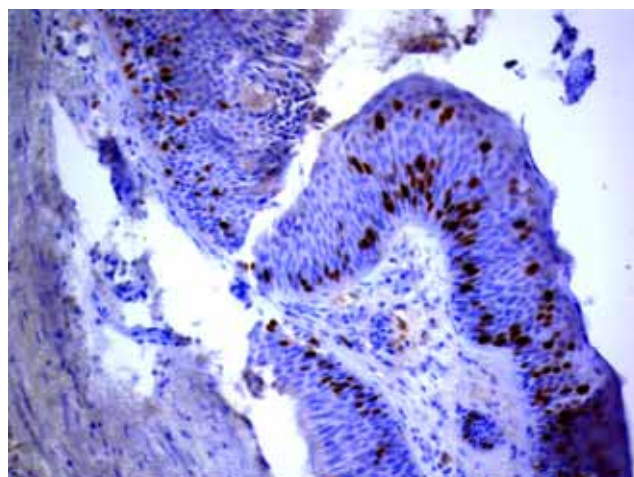


Рис. 5. Экспрессия Vcl-2 в базальных и вышележащих слоях эпителия

Таблица
Результаты ИГХ-исследования биопсийного
материала пациентов с папилломатозом трахеи

ИГХ	1-я группа, n = 7	2-я группа, n = 5	3-я группа, n = 3	Локализация
Ki-67	+	++	+++	ядро клетки
p53	+	++	+++	ядро клетки
Bcl-2	+	++	+++	цитоплазма

тенденций, свойственных злокачественной опухолевой трансформации – тяжелой дисплазии, появлением инвазивного роста. Возрастающие показатели экспрессии Ki-67, p53 и Bcl-2 (таблица) коррелируют со степенью дисплазии и начальной инвазией, что определяет их диагностическое и прогностическое значение.

Литература

1. *Flieder D.B., Thivolet-Bejuj F., Popper H.* Squamous cell papilloma. In: Travis W.D., Brambilla E., Miiller-Hermelin H.K. eds. World Health Organization classification of tumours. Tumours of the lung, pleura, thymus and heart. 2004.
2. *Лисочкин Б.Г., Двораковская И.В.* Опухоли трахеи, бронхов, паренхимы легких и плевры. В кн.: Пальцев М.А., Аничков Н.М. (ред.) Атлас патологии опухолей человека. М.: ОАО "Изд-во "Медицина"; 2005. 382–397.
3. *Копнин Б.П.* Механизмы действия онкогенов и опухолевых супрессоров. Обзор. Российский онкологический www-сервер. Библиотека.

4. *Лукашина М.И., Глухова Е.И., Жукова Л.Г. и др.* Экспрессия HER2/NEU, Ki-67 и плоидность при раке молочной железы. Арх. пат. 2003; 65 (5): 25–29.
5. *Патрушев Л.И.* Искусственные генетические системы. М.: Наука; 2005; т. 1–2.
6. *Степанова Е.В., Харатишвили Т.К., Личиницер М.Р. и др.* Прогностическое значение экспрессии p53, HER2/NEU, Ki-67 и VEGF в хондросаркомах. Арх. пат. 2002. 64 (6): 9–12.
7. *Шелкунов С.Н.* Генетическая инженерия. Новосибирск: Сиб. унив. изд-во; 2004.
8. *Anagnostopoulos G.K., Stefanou D. et al.* Bax and Bcl-2 protein expression in gastric precancerous lesions: Immunohistochemical study. J. Gastroenterol. Hepatol. 2005; 20: 1674–1678.
9. *Muller W., Schneiders A. et al.* Prognostic value of Bcl-2 expression in gastric cancer. Anticancer Res. 1998; 18: 4699–4704.

Информация об авторах

Двораковская Иветта Владиславовна – д. м. н., в. н. с. лаборатории экспериментальной пульмонологии и патоморфологии СПб НИИ пульмонологии; тел.: (812) 499-68-90; e-mail: i_dvorakovskaya@mail.ru

Платонова Ирина Семеновна – к. м. н., с. н. с. лаборатории экспериментальной пульмонологии и патоморфологии СПб НИИ пульмонологии; тел.: (812) 499-68-90; e-mail: is_platonova@mail.ru

Молодцова Валентина Павловна – д. м. н., проф., в. н. с. лаборатории бронхологии и эндоскопии СПб НИИ пульмонологии; тел.: (812) 499-68-38; e-mail: i_dvorakovskaya@mail.ru

Элиниди Вера Николаевна – к. м. н., зав. лабораторией морфологических исследований Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины МЧС России; тел. (812) 294-57-26; e-mail: egors_2000@mail.ru

Самусенко Игорь Алексеевич – к. м. н., врач-патологоанатом лаборатории морфологических исследований Всероссийского центра экстренной и радиационной медицины МЧС России; тел. (812) 294-57-26; e-mail: egors_2000@mail.ru

Поступила 10.06.10
© Коллектив авторов, 2010
УДК 616.231-006.52.-091