

В. Г. Дубинина, А. И. Рыбин, О. В. Кузнецова, М. А. Лысенко
Одесский национальный медицинский университет

ДИЗРЕГУЛЯЦИОННАЯ ПАТОЛОГИЯ У БОЛЬНЫХ ПЛАТИНОРЕЗИСТЕНТНЫМ РАКОМ ЯИЧНИКОВ

При проведении послеоперационной химиотерапии больным раком яичников в 20–30% случаев отмечается первичная резистентность к препаратам платины, а в 38–50% случаев регистрируется вторичная резистентность.

Целью работы явился сравнительный анализ чувствительности аденокарциномы яичников стадии IC-IIIС к адъювантной химиотерапии препаратами платины, в зависимости от состояния системы оксида азота в организме пациенток, как маркера дизрегуляционной патологии и состояния саногенеза.

Материал и методы. Авторами был проведен сравнительный анализ 54 клинических случая рака яичников стадии IC-IIIС у пациенток, которым была выполнена оптимальная либо субоптимальная циторедуктивная операция в объеме пангистерэктомии I типа, оментэктомии с последующей адъювантной химиотерапией препаратами платины.

Результаты. Показано, что общая активность оксида азота у больных аденокарциномой яичников, резистентных в платиновой химиотерапии, достоверно ниже таковой в группе пациенток с аденокарциномой яичников, чувствительной к терапии препаратами платины. Кроме того, местная активность оксида азота у больных аденокарциномой яичников, резистентных к платиновой химиотерапии, достоверно ниже таковой в группе пациенток с аденокарциномой яичников, чувствительной к терапии препаратами платины.

Выводы. Выявленное достоверное снижение активности системы оксида азота у больных с аденокарциномой яичников, резистентной к препаратам платины, является свидетельством достоверное более выраженной дизрегуляционной патологии и снижения саногенеза у таких больных. Состояние системы оксида азота в организме пациенток влияет на чувствительность либо резистентность опухоли к химиотерапии препаратами платины.

Ключевые слова: рак яичников, лечение, платина, оксид азота, саногенез, дизрегуляционная патология.

Проблема диагностики и лечения злокачественных новообразований яичников является одним из самых трудных разделов онкогинекологии. У большинства больных раком яичников (РЯ) заболевание выявляется на поздних стадиях, а результаты их лечения остаются неутешительными. Несмотря на высокую чувствительность многих современных методов диагностики, их специфичность недостаточна для дифференциации доброкачественного и злокачественного процессов в яичниках [1, 2, 4, 6, 7].

По данным Международного агентства по изучению рака ежегодно в мире регистрируется более 165 000 новых случаев РЯ, и более 100 тыс. женщин погибают от злокачественных новообразований яичников. По показателям смертности РЯ опережает рак тела и шейки матки, занимая 5-е место среди причин смерти от всех опухолей у женщин. Летальность больных РЯ на первом году после установления диагноза составляет 35%. По сводным данным популяционных раковых регистров стран Европы, однолетняя выживаемость больных раком яичников составля-

ет 63%, трехлетняя – 41%, пятилетняя – 35%. За последнее десятилетие отмеченное в Европе увеличение пятилетней выживаемости больных злокачественными опухолями яичников на 3% (с 32% до 35%), а в США – на 4% (с 36% до 39%) объясняется не столько улучшением диагностики, сколько эффективным применением платиновой химиотерапии в лечении диссеминированных форм рака яичников и герминогенных опухолей. Такие неутешительные данные имеют определенное объяснение [1, 3, 7, 8–10, 14].

На сегодняшний день «золотым стандартом» лечения РЯ стадий IB-IIIС является оперативное вмешательство с последующим курсом послеоперационной химиотерапии. При этом, препаратом выбора в настоящее время (а по мнению большинства ученых, – и в ближайшие 30–40 лет) являются препараты платины. Известно, что платина, обладающая мощным цитостатическим эффектом, действует системно и вызывает ряд так называемых побочных эффектов (side-effects). При этом цитостатический эффект платины реализуется посредством такого варианта

гибели клеток, как некроз, приводя к системной интоксикации и, следовательно: отказу от дальнейшего лечения со стороны пациентки; отказу от дальнейшего лечения пациентки со стороны врача; невозможности продолжения терапии ввиду декомпенсации одной из систем организма пациентки. Данные обстоятельства приводят к нарушению необходимых лечебных доз применяемого препарата, и, следовательно, являются одной из причин неэффективности проводимого лечения и высокой летальности больных с РЯ [11, 13].

Кроме того, по данным ряда исследователей, примерно в 20–30% случаев у больных РЯ отмечается первичная резистентность к препаратам платины, а в 38–50% случаев регистрируется вторичная резистентность [9, 10, 11, 13].

Таким образом, прогнозирование чувствительности опухоли яичника к препаратам платины является одной из актуальных проблем современной онкогинекологии.

Целью настоящей работы явился сравнительный анализ чувствительности аденокарциномы яичников стадии IC-IIIС к адьювантной химиотерапии препаратами платины в зависимости от состояния системы оксида азота в организме пациенток, являющегося одним из маркеров дизрегуляторной патологии и состояния саногенеза.

Материал и методы исследования

С 2007 года на базе отделения онкогинекологии Одесского областного онкологического диспансера был проведен сравнительный анализ 54 клинических случая рака яичников стадии IC-IIIС, которым была выполнена оптимальная либо субоптимальная циторедуктивная операция в объеме пангистерэктомии I типа, оментэктомии с последующей адьювантной химиотерапией препаратами платины. Во всех случаях гистологическим вариантом РЯ была аденокарцинома. Отбор больных для исследования осуществлялся по принципу «случай-контроль». До начала специального лечения всем пациенткам было проведено анкетирование с целью определения клинико-anamnestических характеристик заболевания, а также оценка состояния системы оксида азота. Критерием деления пациенток на группы была выбрана чувствительность РЯ к препаратам платины. Первую группу составили 32 пациентки с рецидивом РЯ в течение трех лет наблюдения. Вторую группу составили 22 пациентки с отсутствием рецидива заболевания в течение пяти лет наблюдения. Средний возраст пациенток составил $55 \pm 8,1$ лет и достоверно не отличался между группами.

Исследование проводилось по схеме «случай-контроль». Критерием резистентности к препаратам платины служила регистрация рецидива РЯ путем выполнения компьютерной томогра-

фии органов малого таза и определения уровней СА-125 в крови в течение 5 лет наблюдения.

Состояние системы оксида азота оценивали по величинам его основного метаболита – NO_2^- в плазме крови и моче. Определение проводили по методике, в основу которой положен способ определения конечного стабильного продукта неферментативного окисления NO, нитрит – аниона $[\text{NO}_2^-]$, образующегося в результате взаимодействия NO с водой, что дает возможность судить о качестве образованного оксида азота. Для обнаружения $[\text{NO}_2^-]$ использовали реактив Грисса (раствора сульфаниламида и N-нафтил этилендиамин дигидрохлорида в 30% ледяной уксусной кислоте) в качестве цветообразующего реагента (дает малиновое окрашивание при наличии NO_2^- в жидкостях). Полученные результаты соотносили со стандартной калибровочной кривой, полученной на основе серийных разведений растворов нитрита натрия в диапазоне концентраций от 10 до 1000 мкмоль. Содержание NO_2^- в биологических жидкостях рассчитывали по формуле:

$$\text{NO}_2^- (\text{мкмоль/л}) = E_{\text{иссл.}} \times K(\text{NaNO}_2) \text{ мкмоль/л} : E_{\text{ст. NaNO}_2}$$

Где, $E_{\text{иссл.}}$ и $E_{\text{ст.}}$ – поглощение исследуемой пробы и стандартного образца соответственно;

K – концентрация NaNO_2 , рассчитанная по калибровочной кривой.

В качестве объекта гистохимических исследований использовались столбики яичниковой ткани, полученные посредством биопсии яичниковой ткани. Полученный материал фиксировался 4% раствором параформальдегида на протяжении 24 часов. Из фиксированного материала изготавливались криостатные срезы толщиной 11 мкм. на полученных срезах по прописи Д. Э. Коржевского (1996) определялась активность маркера NO-синтазы. Полученные препараты изучались с помощью светового микроскопа. Оценка результатов гистохимических реакций осуществлялась по количеству, размерам и цветности гранул фармазанов следующим образом:

- серое, серовато-желтое окрашивание мелких гранул фармазанов свидетельствует о следовой активности NO-синтазы в ткани яичников;
- серо-желтое окрашивание мелких и средних гранул фармазанов говорит о слабой активности NO-синтазы в ткани яичников;
- желтое, желто-коричневатое окрашивание мелких и средних гранул фармазанов означает, что тканевая активность NO-синтазы умеренная;
- желто-коричневое, коричневое окрашивание средних гранул фармазанов является показателем высокой активности NO-синтазы в ткани яичников.

По характеру локализации гранул выделяли следующие факторы:

- наличие изучаемых гранул по внутреннему контуру сосудов является показателем активности

эндотелиальной NO-синтазы в ткани яичников;

- окрашивание цитоплазмы стромальных и эпителиальных клеток – свидетельствует о суммарной активности макрофагальной и эндотелиальной NO-синтазы.

Оценка активности NO-синтазы проводилась по всей площади изготовленного препарата. Полученные результаты подвергались статистической обработке.

Результаты исследования

Сравнительный анализ распределения РЯ по стадиям в обеих группах показал отсутствие достоверных различий между исследуемыми группами (табл. 1).

Анализ клинико-anamnestических характеристик пациенток обеих групп показал достоверное отсутствие различий по всем исследуемым показателям (табл. 2).

Сравнительный анализ состояния системы оксида азота в организме больных РЯ, резистентных и чувствительных к химиотерапии препаратами платины показал следующее (табл. 3).

При анализе активности оксида азота в крови пациенток первой группы было обнаружено, что средняя концентрация нитритов в плазме крови больных РЯ с резистентностью опухоли к химиотерапии препаратами платины составила $6,1 \pm 1,5$ мкмоль/л, тогда как в группе больных без выявленного рецидива опухоли (чувствительных к препаратам платины) – $10,3 \pm 1,2$ мкмоль/л, т. е. наблюдаемое различие статистически достоверно. Более того, сравнение активности оксида азота в моче пациенток обеих групп не выявило достоверного различия этих показателей. Содержание нитритов в моче женщин первой группы составило $3,9 \pm 0,6$ мкмоль/л, тогда как концентрация данного метаболита оксида азота в моче больных РЯ, чувствительных к платиновой химиотерапии, была равна $4,1 \pm 0,4$ мкмоль/л. Данное обстоятельство позволяет говорить о том, что различная активность оксида азота в плазме крови пациенток обеих групп не является результатом усиления экскреции метаболитов данного вещества мочевыделительной системой, либо отличий в содержании прекурсоров NO в рационах питания.

Таблица 1

Распределение стадий РЯ у больных исследуемых групп, абс. (%)

Стадия РЯ	I группа (n=32)	II группа (n=22)	P
IC	3 (9,4%)	2 (9,1%)	> 0,05
IIA	2 (6,3%)	2 (9,1%)	> 0,05
IIB	5 (15,6%)	4 (18,2%)	> 0,05
IIIC	4 (12,5%)	3 (13,6%)	> 0,05
IIIA	5 (15,6%)	4 (18,2%)	> 0,05
IIIB	7 (21,8%)	4 (18,2%)	> 0,05
IIIC	6 (18,8%)	3 (13,6%)	> 0,05

Таблица 2

Клиническая характеристика групп больных

Рассматриваемый критерий	I группа (основная) n=32		II группа (контрольная) n=22		p
	Абс.	%	Абс.	%	
Профессиональные вредности	21	65,6	14	63,6	>0,05
Нарушения индекса массы тела	17	53,1	11	50,0%	>0,05
Нарушения менструальной функции	18	56,3	15	68,2	>0,05
Отягощенный репродуктивный анамнез	11	34,4	7	31,8	>0,05
Отягощенный генеалогический анамнез	25	78,1	16	72,7	>0,05
Сопутствующая эндокринная патология	10	31,3	7	31,8	>0,05
Сопутствующая патология молочных желез	13	40,6	8	36,4	>0,05
Сопутствующая патология органов желудочно-кишечного тракта	11	34,4	7	31,8	>0,05

При гистохимической оценке активности NO-синтазы в сосудах опухолевой яичниковой ткани больных, чувствительных к препаратам платины, определялись мелкие сероватые, с легким желтоватым оттенком, гранулы диформазанов. Гранулы были рассеяны ближе к внутреннему контуру сосуда. Эпителий слизистой оболочки характеризовался наличием части клеток с серовато-желтой или серовато-коричневой окраской цитоплазмы. Востальных клетках контур тела обозначен мелкими сероватыми гранулами. В строме ткани яичников определялись поля серовато-коричневой диффузной окраски, на фоне которой имелись клетки с телами, контурированными мелкими сероватыми или черными гранулами. Также определялись отдельные железистые крипты, в которых тела части клеток имели желтоватый контур. В первой группе распределение активности NO-синтазы в ткани яичников было следующим (табл. 4).

Высокая тканевая активность оксида азота в первой группе не наблюдалась, а во второй группе составила 13,6% (3 женщины). Умеренная активность NO-синтазы в ткани яичников была выявлена у 8 (36,4%) пациенток с аденокарциномой

яичников, чувствительной к химиотерапии препаратами платины, тогда как в группе больных с резистентными к платине опухолями умеренной активности оксида азота в ткани яичников выявлено не было. При этом слабая и следовая активность оксида азота были зарегистрированы у 3 (9,4%) и 11 (34,4%) больных первой группы соответственно, тогда как отсутствие активности NO-синтазы было выявлено в 56,3% (18 пациенток) случаев. В то же время, умеренная и слабая активность NO-синтазы отмечалась у 8 (36,4%) и 11 (50,0%) пациенток второй группы соответственно. Следовая либо отсутствие активности оксида азота не отмечались ни в одном случае в группе больных РЯ без выявленного рецидива в течение 5 лет наблюдения.

Следует отметить, что у женщин, у которых при гистологическом исследовании выявлялась: сочность окраски ядер и выраженность цитоплазмы клеток стромы; визуальный эффект нагромождения ядер цитоплазмы; неправильность конфигурации расширенных крипт, что явилось основанием для диагностики у них пролиферативных процессов ткани яичников, проведение гистохимическо-

Таблица 3

Содержание нитритов в плазме крови и моче (M±m)

Исследуемая среда	I группа (n=32)	II группа (n=22)	Достоверность P
Плазма крови	6,1±1,5 мкмоль/л	10,3±1,2 мкмоль/л	p<0,05
Моча	3,9±0,6 мкмоль/л	4,1±0,4 мкмоль/л	p>0,05

Таблица 4

Активность оксида азота в яичниковой ткани, абс. (%)

Активность NO-синтазы	I группа (n=32)	II группа (n=22)	Достоверность P
Высокая активность	–	3 (13,6%)	p<0,05
Умеренная активность	–	8 (36,4%)	p<0,05
Слабая активность	3 (9,4%)	11 (50,0%)	p<0,05
Следовая активность	11 (34,4%)	–	p<0,05
Отсутствие активности	18 (56,3%)	–	p<0,05

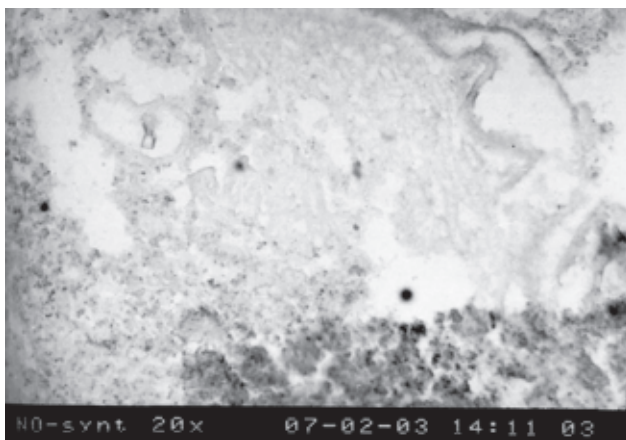


Рис. 1. Активность оксида азота в ткани яичника платиночувствительной пациентки с РЯ

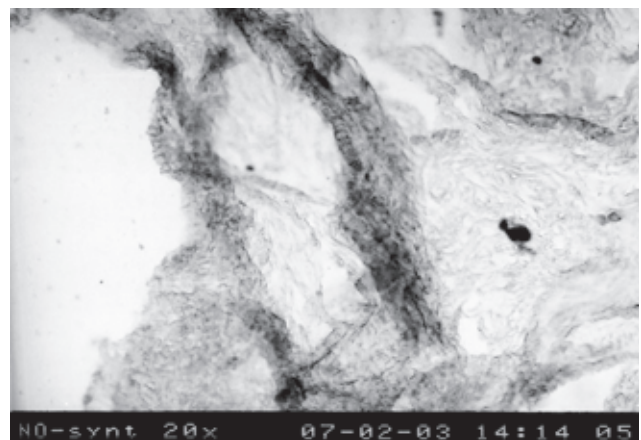


Рис. 2. Активность оксида азота в ткани яичника платинорезистентной пациентки с РЯ

го дослідження активності NO-синтази показало наступне. В просвіті судин і в лакунах визначались еритроцити жовтато-коричневої або коричневої окраски. Строма проявляла серовату дифузну окраску, на фоні якої видні клітини з сероватою окрашеною цитоплазмою, маючої м'який жовтатий відтінок. В деформованих клітинах цитоплазма епітеліоцитів сероватою, але більш густою, ніж в стромі, окраски, з легким рожевим відтінком. Дослідження пацієнток, у яких проліферація яєчникової тканини доповнялася наявністю поліпозних розростань по внутрішній оболонці капсули, не виявило відмінностей активності NO-синтази по відношенню до вищеприведеному описанню. Єдиною особливістю даних випадків було наявність в стромі тканини яєчників окремих витягнутих клітин, цитоплазма яких мала дифузну, жовтато-коричневу окраску цитоплазми.

Висновки

1. В досліджуваних групах не було виявлено достовірної кореляції між стадією забо-

леванія, клініко-анамнестическими характеристиками хворих раком яєчників і чутливістю пухли до препаратів платини.

2. Загальна активність оксиду азоту у хворих аденокарциномою яєчників, резистентних до платинової хіміотерапії, достовірно нижче такої в групі пацієнток з аденокарциномою яєчників, чутливою до терапії препаратами платини.

3. Местна активність оксиду азоту у хворих аденокарциномою яєчників, резистентних до платинової хіміотерапії, достовірно нижче такої в групі пацієнток з аденокарциномою яєчників, чутливою до терапії препаратами платини.

4. Виявлене достовірне зниження активності системи оксиду азоту у хворих з аденокарциномою яєчників, резистентною до препаратів платини, є свідченням достовірного більш вираженої дизрегуляторної патології і зниження саногенезу у таких хворих. Стан системи оксиду азоту в організмі пацієнток впливає на чутливість або резистентність пухли до хіміотерапії препаратами платини.

Список літератури

1. Аксель М. А., Барінов В. В., Бокина Л. И. Лекції по онкогінекології. – М.: МЕДпресс-інформ, 2009. – 425 с.
2. Бохман Я. В. Лекції по онкогінекології. – М.: МИА, 2007. – 304 с.
3. Важенин А. В., Жаров А. В., Шимоткіна И. Г. Актуальні питання клінічної онкогінекології М.: СТРОМ, 2010. – 128 с.
4. Винокуров В. Л. Рак яєчників: закономірності метастазування і вибір адекватного лікування хворих. – СПб.: Фоліант, 2004. – 333 с.
5. Генетика пухлин жіночих репродуктивних органів / За ред. В. М. Запорожана. – Одеса: Одес. держ. мед. ун-т, 2004. – 332 с.
6. Запорожан В. М., Цегельський М. Р. Гінекологічна патологія: Атлас. Навч. Посібник. – Одеса: ОДМУ, 2002. – 308 с.
7. Запорожан В. М., Цегельський М. Р., Рожковська Н. М. Акушерство і гінекологія. Підручник: У двох томах. – Одеса: Одес. Держ. Мед. ун-т, 2005. – 420 с.
8. Клінічна онкогінекологія / під ред. В. П. Козаченко. – М.: Медицина, 2005. – 376 с.: іл.
9. Корман Д. Б. Основи протипухликової хіміотерапії. – М.: Практична медицина. – 2006. – 503с.
10. Онкологія: національне керівництво / Під ред. В. И. Чиссова, М. И. Давыдова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 1072 с.
11. Переводчикова Н. И. Керівництво по хіміотерапії онкологічних захворювань. – М.: Мед. – 2005. – 698 с.
12. Урманчєєва А. Ф., Тюляндина С. А., Моїсеєнко В. М. Практична онкогінекологія: обрані лекції. – СПб.: «ТОММ», 2008. – 400 с.
13. Хіміотерапія злоякісних новоутворень / Під ред. Э. Чу и В. Т. де Вита (переклад з англ.) – М.: Практика. – 2008. – 447с.
14. Щєпотин И. Б., Бондарь Г. В., Ганул В. Л. Алгоритми сучасної онкології. – Київ: Книга плюс, 2006. – 304 с.

Стаття надійшла до редакції 05.08.2014 р.

В. Г. Дубініна, А. І. Рибін, О. В. Кузнєцова, М. А. Лисенко
Одеський національний медичний університет

ДИЗРЕГУЛЯЦІЙНА ПАТОЛОГІЯ У ХВОРИХ НА ПЛАТІНОРЕЗИСТЕНТНИЙ РАК ЯЄЧНИКІВ

При проведенні післяопераційної хіміотерапії хворим на рак яєчників у 20–30% випадків відзначається первинна резистентність до препаратів платини, а в 38–50% випадків реєструється вторинна резистентність.

Метою роботи було проведення порівняльного аналізу чутливості аденокарциноми яєчників стадії ІС-ІІС до ад'ювантної хіміотерапії препаратами платини в залежності від стану системи оксиду

азоту в організмі пацієнток, як маркеру дизрегуляційної патології та стану саногенезу.

Матеріал і методи. Авторами був проведений порівняльний аналіз 54 клінічних випадків раку яєчників стадії IC-IIIС у пацієнток, яким була виконана оптимальна або субоптимальних циторедуктивна операція в обсязі пангістеректомії I типу, оментектомії з подальшою ад'ювантною хіміотерапією препаратами платини.

Результати. Показано, що загальна активність оксиду азоту у хворих аденокарциномою яєчників, резистентних в платиновій хіміотерапії, достовірно нижче у групі пацієнток з аденокарциномою яєчників, чутливою до терапії препаратами платини. Крім того, місцева активність оксиду азоту у хворих аденокарциномою яєчників, резистентних до платиновій хіміотерапії, достовірно нижче у групі пацієнток з аденокарциномою яєчників, чутливою до терапії препаратами платини.

Висновки. Виявлене достовірне зниження активності системи оксиду азоту у хворих з аденокарциномою яєчників, резистентної до препаратів платини, є свідченням достовірно більш вираженої дизрегуляційної патології і зниження саногенеза у таких хворих. Стан системи оксиду азоту в організмі пацієнток впливає на чутливість або резистентність пухлини до хіміотерапії препаратами платини.

Ключові слова: рак яєчників, лікування, платина, оксид азоту, саногенез, дизрегуляційна патологія.

V. G. Dubinina, A. I. Rybin, O. V. Kuznetsova, M. A. Lysenko
Odessa National Medical University

DYZREGULATION PATHOLOGY IN PATIENTS WITH PLATINUM-RESISTANT OVARIAN CANCER

During postoperative chemotherapy to patients with ovarian cancer in 20–30% of cases it observes primary drug resistance of platinum, and in 38–50% of cases it registers secondary resistance.

The aim of the investigation was the comparative analysis of the sensitivity of ovarian adenocarcinoma stage IC-IIIС to adjuvant chemotherapy with platinum, depending on the state of the system of nitric oxide in the body of patients, which is one of the markers of dysregulation pathology and sanogenesis state.

Materials and methods. The authors carried out a comparative analysis of 54 clinical cases of ovarian cancer stage IC-IIIС, who underwent optimal or suboptimal cytoreductive surgery in volume of Ist type panhysterectomy and omentectomy followed by adjuvant chemotherapy with platinum.

Results. It is shown that the overall activity of nitric oxide in patients with ovarian adenocarcinoma resistant to platinum chemotherapy, significantly lower than that in the group of patients with the ovarian adenocarcinoma that are sensitive to therapy with platinum. In addition, the local activity of nitric oxide in patients with ovarian adenocarcinoma resistant to platinum chemotherapy, significantly lower than that in the group of patients with ovarian adenocarcinoma that are sensitive to therapy with platinum.

Conclusions. Revealed a significant decrease in the activity of nitric oxide in patients with ovarian adenocarcinoma resistant to platinum drugs, is a testament to a significantly greater dysregulation pathology and reduce sanogenesis in these patients. Condition of nitric oxide in the body of patients affects sensitivity or resistance of tumors to chemotherapy with platinum.

Keywords: ovarian cancer, treatment, platinum, nitric oxide, sanogenesis, dysregulation pathology.