

В.Г. Дубинина, А.И. Рыбин, О.В. Кузнецова, М.А. Лысенко
**ДИЗРЕГУЛЯЦИОННАЯ ПАТОЛОГИЯ У БОЛЬНЫХ
ПЛАТИНОРЕЗИСТЕНТНЫМ РАКОМ ЯИЧНИКОВ**

Одесский национальный медицинский университет

SUMMARY

SYSTEMIC DISORDERS IN PATIENTS WITH PLATINOREZISTENT OVARIAN CANCER

Diagnosis and treatment of malignant ovarian tumors remains one of the most complicated problems of Gynecologic Oncology. Despite the high sensitivity of many diagnostic method, is insufficient specificity for differentiating benign and malignant tumors of the ovary.

The aim of the study was the comparative analysis of the sensitivity of ovarian adenocarcinoma with stage IC – IIIC to adjuvant chemotherapy with platinum drugs depending on the state of the nitric oxide system in the body of patients, which is one of the markers of pathology and sanogenesis status.

Materials and methods: A comparative analysis was performed of 54 clinical cases of ovarian cancer in stage IC - IIIC which have undergone optimal or suboptimal cytoreductive surgery. In all cases histological variant of ovarian cancer was adenocarcinoma. Criteria for assigning patients into groups was the sensitivity of ovarian cancer to platinum drugs. In group I included patients with ovarian cancer recurrence within 3 years. In group II, 22 patients were included in the missed ovarian cancer recurrence during 5 years of surveillance.

Results and conclusions: The study was found significant decrease of nitric oxide system activity in patients with ovarian adenocarcinoma resistant to platinum dishes, which is an index of sanogenesis reduction in these patients. Status of nitric oxide system in patients body influences the susceptibility or resistance of tumors to chemotherapy with platinum preparations.

REZUMAT:

DEREGLARILE SISTEMICE LA PACIENTELE CU CANCER OVARIAN PLATINOREZISTENT.

Problema diagnosticării și tratamentului tumorilor ovariene maligne rămâne una din cele mai complicate din oncoginecologie. Necâtând la sensibilitatea înaltă a multor metode de diagnostic, specificitatea lor este insuficientă pentru diferențierea tumorilor benigne și maligne ale ovarelor.

Scopul studiului a fost analiza comparativă a sensibilității adenocarcinomei ovarelor cu stadiul IC – IIIC la chimioterapia adjuvantă cu preparate de platină în dependență de starea sistemului oxidului de azot în organismul pacienților, care este unul din markerii patologiei și stării de sanogeneză.

Materiale și metode: A fost efectuată o analiză comparativă a 54 de cazuri clinice de cancer ovarian în stadiul IC – IIIC la care li s-a efectuat intervenția chirurgicală de citoreducție optimală sau suboptimală. În toate cazurile varianta histologică a cancerului ovarian a fost adenocarcinoma. Criteriul de repartizare a pacientelor în grupe a fost sensibilitatea cancerului ovarian la preparatele din platină. În lotul I au fost incluse pacientele cu recidivarea cancerului ovarian pe parcursul a 3 ani. În lotul II au fost incluse 22 de paciente la care a lipsit recidivarea cancerului ovarian pe parcursul a 5 ani de supraveghere.

Rezultate și concluzii: În studiu a fost constatată micșorarea semnificativă a activității sistemului oxidului de azot la pacientele cu adenocarcinoma ovarelor, rezistentă la preparatele de platină, ceea ce este un indice al micșorării sanogenezei la aceste paciente. Starea sistemului oxidului de azot în organismul pacientelor influențează asupra sensibilității sau rezistenței tumorii la chimioterapia cu preparatele de platină.

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 из-

учению 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 составляет 63%, трехлетняя — 41%, пятилетняя — 35%. За последнее десятилетие отмечено 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 IV-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 случаев 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 клиничко-анамнестических 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. Исследование проводилось по схеме «случай-контроль». Критерием резистентности к препаратам платины служила регистрация рецидива РЯ путем выполнения компьютерной томографии органов малого таза и определения уровня СА-125 в крови в течение 5 лет наблюдения.

Состояние системы оксида азота оценивали по величинам его основного метаболита – NO₂- в плазме крови и моче. Определение проводили по методике, в основу которой положен способ определения конечного стабильного продукта неферментативного окисления NO, нитрит – аниона [NO₂-], образующегося в результате взаимодействия NO с водой, что дает возможность судить о качестве образованного оксида азота. Для обнаружения [NO₂-] использовали реактив Грисса (раствора сульфаниламида и N-нафтил этилендиамина дигидрохлорида в 30% ледяной уксусной кислоте) в качестве цветообразующего реагента (дает малиновое окрашивание при наличии NO₂ 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 NO₂- в биологических жидкостях рассчитывали по формуле:

$$\text{NO}_2 \text{ (мкмоль/л)} = \text{Еиссл.} \times \text{K}(\text{NaNO}_2) \text{ мкмоль/л:} \\ \text{ЕстNaNO}_2$$

Где, Еиссл. и Ест. – поглощение исследуемой пробы и стандартного образца соответственно;

К – 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-коричневое 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.

Средний возраст пациенток составил $55 \pm 8,1$ лет и достоверно не отличался между группами.

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

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 |
| IIВ | 5 (15,6%) | 4 (18,2%) | > 0,05 |
| IIС | 4 (12,5%) | 3 (13,6%) | > 0,05 |
| IIIA | 5 (15,6%) | 4 (18,2%) | > 0,05 |
| IIВВ | 7 (21,8%) | 4 (18,2%) | > 0,05 |
| IIIC | 6 (18,8%) | 3 (13,6%) | > 0,05 |

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

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 |

Таким образом, полученные данные позволяют говорить о том, что исследуемые группы были сформированы рандомизированно и могут быть сравнимы.

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 выяв-

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 |

ленного рецидива опухоли (чувствительных к препаратам платины) – 10,3±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±0,6 мкмоль/л, тогда как концентрация данного метаболита оксида азота в моче больных РЯ, чувствительных к платиновой химиотерапии, была равна 4,1±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.

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. В остальных 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

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 |

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 гистохимического исследования активности NO-синтазы показало следующее. В просвете сосудов и в лакунах определялись эритроциты желтовато-коричневой или коричневой окраски. Строма проявляла сероватую диффузную окраску, на фоне которой видны клетки с серовато окрашенной цитоплазмой, имеющей мягкий желтоватый оттенок. В деформированных клетках цитоплазма эпителиоцитов сероватой, но более густой, чем в строме, окраски, с легким розоватым оттенком. Обследование пациенток, у которых пролиферация яичниковой ткани дополнялась наличием полипозных разрастаний по внутренней оболочке капсулы, не выявило отличий активности NO-синтазы по отношению к вышеприведенному описанию. Единственной особенностью данных случаев было наличие в строме ткани яичников отдельных вытянутых

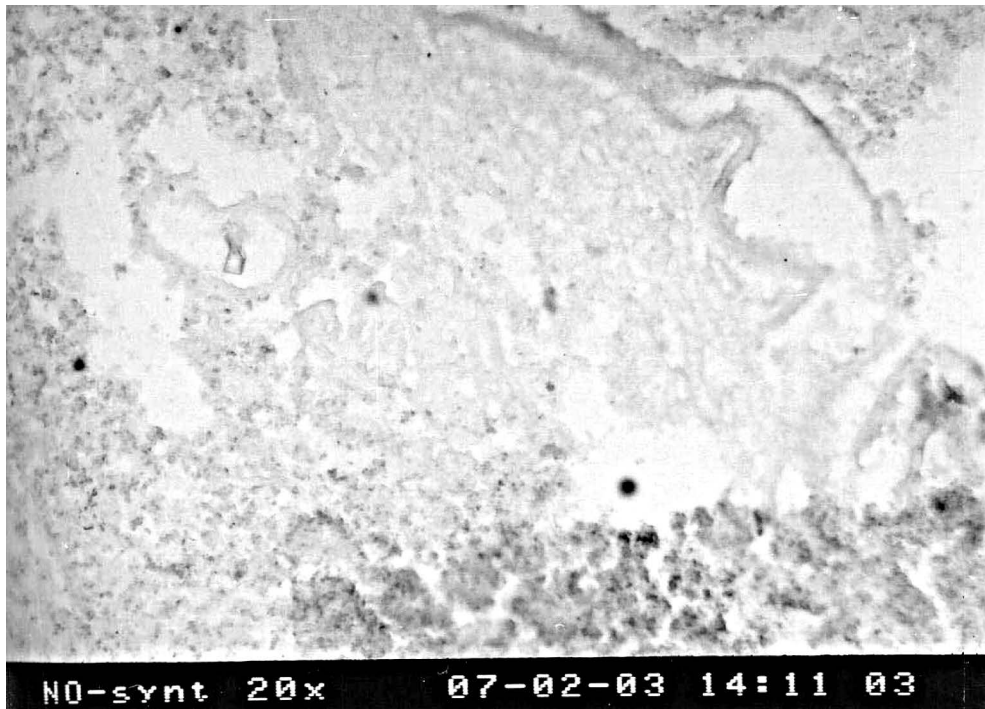


Рисунок 1. Активность оксида азота в ткани яичника платиночувствительной пациентки с РЯ.

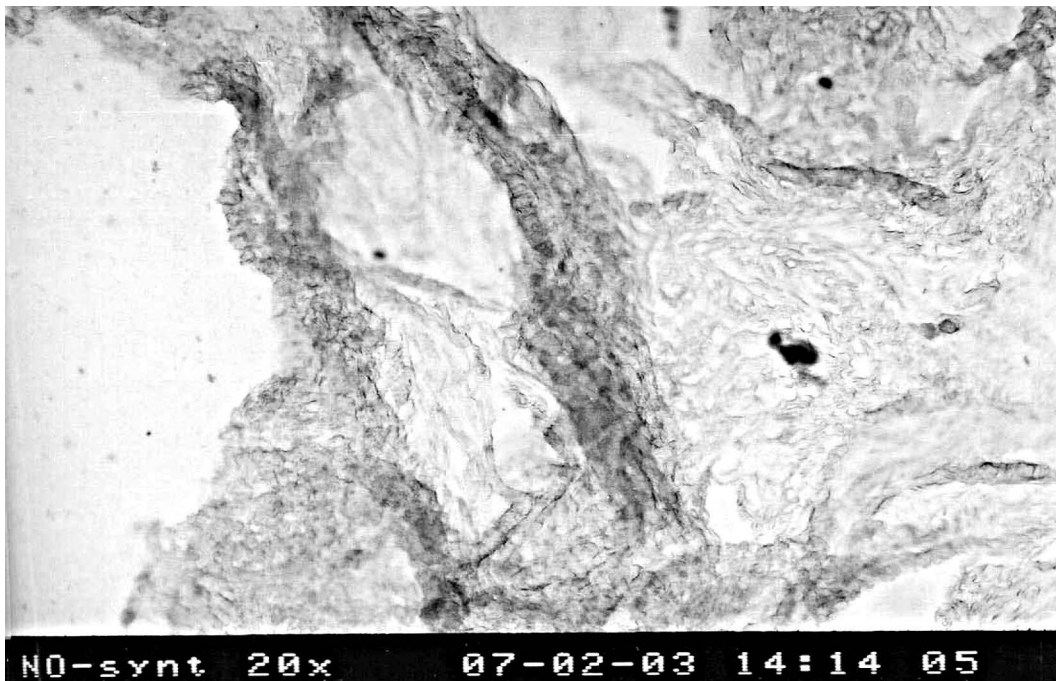


Рисунок 2. Активность оксида азота в ткани яичника платинорезистентной пациентки с РЯ.

клеток, цитоплазма которых имела диффузную, желтовато-коричневатую окраску цитоплазмы.

Выводы.

1. В исследуемых группах не было выявлено достоверной корреляции между стадией заболевания, клинико-анамнестическими характеристиками больных раком яичников и чувствительностью опухоли к препаратам платины.

2. 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.

3. Местная 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.

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

Список литературы.

1. Аксель М.А., Баринов В. В., Бокина Л. И. Лекции по онкогинекологии. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 425 с.
2. Бохман Я.В. Лекции по онкогинекологии. – М.: МИА, 2007. – 304 с.
3. Важенин А.В., Жаров А.В., Шимоткина И.Г. Актуальные вопросы клинической онкогинекологии М.: СТРОМ, 2010. – 128 с.
4. Винокуров В.Л. Рак яичников: закономерности метастазирования и выбор адекватного лечения больных. – СПб.: Фолиант, 2004. – 333с.
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. Клиническая онкогинекология / под ред. В.П. Козаченко. – М.: Медицина, 2005. – 376с.: ил.

9. Корман Д.Б. Основы противоопухолевой химиотерапии. – М.: Практическая медицина. – 2006. – 503с.

10. Онкология: национальное руководство / Под ред. В.И. Чиссова, М.И. Давыдова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 1072 с.

11. Переводчикова Н.И. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. – М.: Мед. – 2005. – 698с.

12. Урманчеева А. Ф., Тюляндина С. А., Моисеенко В. М. Практическая онкогинекология: избранные лекции. - СПб.: «ТОММ», 2008. – 400 с.

13. Химиотерапия злокачественных новообразований / Под ред. Э.Чу и В.Т. де Вита (перевод с англ.) – М.: Практика. – 2008. – 447с.

14. Щепотин И.Б., Бондарь Г.В., Ганул В.Л. Алгоритмы современной онкологии. – Киев: Книга плюс, 2006. - 304 с.

© А.С. Зыков, Е.Н. Бачман, И.А. Могилевкина

А.С. Зыков, Е.Н. Бачман, И.А. Могилевкина
ДИАГНОСТИКА ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО РАЗРЫВА ПЛОДНЫХ ОБОЛОЧЕК
*Кафедра акушерства, гинекологии и перинатологии ФИПО; Донецкий национальный
медицинский университет им.М.Горького, Донецк, Украина,
Областной перинатальный центр, Хмельницкий, Украина*

SUMMARY

PREMATURE RUPTURE OF THE MEMBRANES DIAGNOSIS.

Keywords: pregnancy, premature rupture of the membranes, sensitivity and specificity, “fern” test, protein-1, insulin-like growth factor binding.

Objective. Calculation of predictive value, sensitivity and specificity of the diagnostic test ActimPROM for premature rupture of membranes detection.

Material and methods. In prospective study 27 pregnant women between 24 and 41 gestational weeks who have been admitted to the Donetsk Regional Center for Maternal and Child Protection during June 1- August 1, 2011 with suspected premature rupture of the membranes (PROM) without uterine contractions were included. “Fern” test and ActimPROM have been used. The tests diagnostic capabilities were calculated in comparison to final clinical diagnosis of PROM. Both tests prognostic values were compared. Sensitivity, specificity and predictive value of the tests were evaluated by statistical package MedStat (Lyakh J.E., Gurianov V.G., 2004-2012) using logistic regression and constructing ROC - curve. $p < 0,05$ was considered statistically significant.