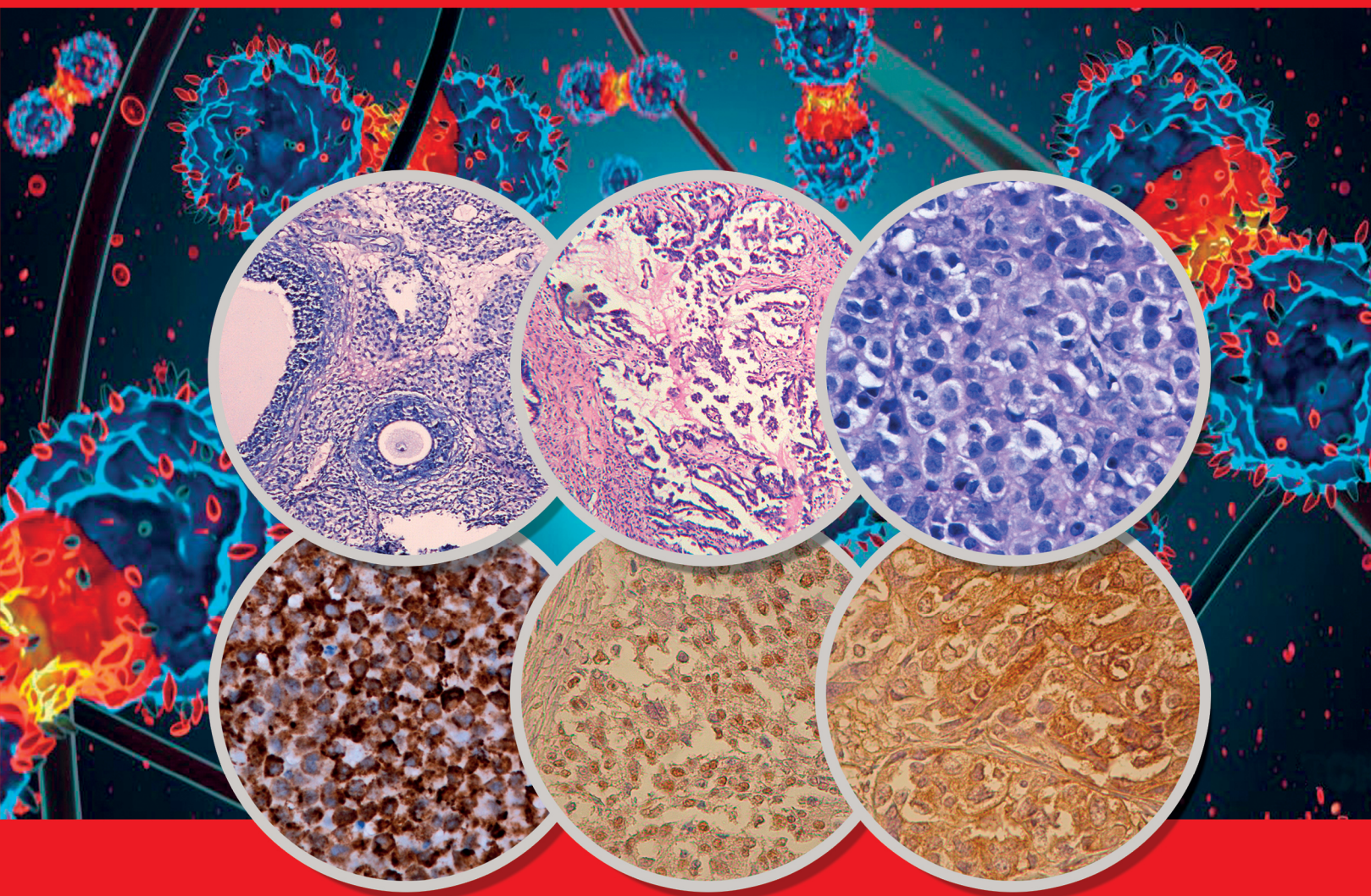


Ю. Г. Ткаля

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ГОРМОНАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ЯИЧНИКА



Ю. Г. Ткаля

**ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ГОРМОНАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ
ЯИЧНИКА**

2021

УДК 618.11-006.6-07-08

Ткаля Ю. Г. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ГОРМОНАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ЯИЧНИКА : монографія / Ткаля Ю. Г. – Львів : Кварт, 2021. – 212 с.

ISBN 978-617-7196-30-2

Монографія посвящена изучению гормонообусловленности, гормонозависимости и гормоночувствительности злокачественных опухолей яичника; клинической, прогностической и терапевтической значимости гормонального рецепторного статуса опухолевых клеток и его корреляции с клинико-морфологическими показателями злокачественных опухолей яичника.

Для специалистов в области фундаментальной и клинической онкологии, онкогинекологии и онкоморфологии, а также для широкого круга врачей, занимающихся вопросами диагностики и лечения злокачественных новообразований.

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

доктор медицинских наук, профессор **ПОЛИЩУК ЛЮДМИЛА ЗАХАРОВНА**,
Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого НАН Украины, ведущий научный сотрудник отдела мониторинга опухолевого процесса и дизайна терапии

доктор медицинских наук, профессор **КАРТАШОВ СЕРГЕЙ МИХАЙЛОВИЧ**,
Харьковская медицинская академия последиplomного образования, заведующий кафедрой онкогинекологии

*Утверждено на заседании Ученого совета Национального института рака.
Протокол № 3 от 21 февраля 2019 года*

I. G. Tkalia. **PATHOGENETIC BACKGROUND FOR HORMONAL THERAPY OF MALIGNANT OVARIAN TUMORS**

The monograph highlights studying hormonal causes, hormone dependence and hormone sensitivity of the malignant ovarian tumors; clinical, prognostic and therapeutic significance of hormonal receptor status in tumor cells and its correlation with clinical and morphological indicators of malignant ovarian tumors.

It is intended for specialists in the field of basic and clinical oncology, oncogynecology and oncomorphology, as well as for general practitioners dealing with the diagnostics and treatment of malignant neoplasms.

ISBN 978-617-7196-30-2

© Ткаля Ю. Г.
Кварт, 2021

Ткаля Юлия Георгиевна –
кандидат медицинских наук,
врач гинеколог-онколог высшей категории
отделения онкогинекологии
Национального института рака, г. Киев



Светлой памяти моих дорогих и прекрасных родителей

Творческим идеям, реализованных в монографии, благодарна учителям и наставникам доктору медицинских наук, профессору, **Воробьевой Людмиле Ивановне**; главному врачу Днепропетровского онкологического центра, заслуженному врачу Украины **Балашовой Ольге Ивановне**; заведующей онкогинекологическим отделением Днепропетровского онкологического центра **Хотиенко Елене Владимировне**

Автор выражает искреннюю признательность профессору В. С. Свинцицкому, академику НАН Украины В. Ф. Чехуну, профессорам Ю. А. Гриневичу и А. Н. Грабовому, д-ру биол. наук Н. Ю. Лукьяновой, канд. биол. наук И. Н. Тодору, кандидатам мед. наук М. С. Кротевичу, С. В. Неспрядько, **А. В. Турчаку**, И. В. Гончарук, А. А. Самохваловой, Т. А. Тарасовой, С. Е. Коротич, Д. Н. Красиленко, Е. В. Шляховой, О. В. Донцовой, О. А. Царенковой, ведущему инженеру информационно-аналитического отдела Национального института рака Л. Б. Куценко, коллективу врачей научно-исследовательского отдела онкогинекологии Национального института рака, коллективу ученых Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого НАН Украины, сотрудникам лаборатории «Синэво» за сотрудничество и профессионализм в онкологии.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ, ЕДИНИЦ, СОКРАЩЕНИЙ И ТЕРМИНОВ	6
ВСТУПЛЕНИЕ	7
ГЛАВА 1. ГОРМОНАЛЬНЫЙ КАНЦЕРОГЕНЕЗ И ГОРМОНАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ ЯИЧНИКА. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ	13
1.1. Роль нарушений гормонального гомеостаза в патогенезе злокачественных опухолей яичника	13
1.2. Гипотезы злокачественной трансформации эпителия яичника	31
1.3. Клиническое значение гормонального рецепторного статуса и молекулярные механизмы реализации гормонально-рецепторного сигнала в опухолевых клетках яичника.	37
1.4. Современные принципы применения гормональной терапии у больных злокачественными опухолями яичника	42
ГЛАВА 2. КЛИНИЧЕСКОЕ РЕТРОСПЕКТИВНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	45
РАЗДЕЛ 2.1. ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ЭНДОМЕТРИЯ КАК КРИТЕРИЙ НАРУШЕНИЯ ГОРМОНАЛЬНОГО ПРОФИЛЯ У БОЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ ЯИЧНИКА	51
2.1.1. Клиническая характеристика больных злокачественными опухолями яичника в зависимости от наличия или отсутствия гиперпластических процессов эндометрия	51
2.1.2. Оценка распространенности опухолевого процесса и выживаемости больных раком яичника в зависимости от наличия или отсутствия гиперпластических процессов эндометрия	59
РАЗДЕЛ 2.2. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ГОРМОНАЛЬНОГО РЕЦЕПТОРНОГО СТАТУСА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ЯИЧНИКА.	68
2.2.1. Характеристика больных злокачественными опухолями яичника разного гистогенеза по клинико-морфологическим и иммуногистохимическим показателям	69
2.2.2. Изучение степени экспрессии рецепторов стероидных гормонов в клетках злокачественных опухолей яичника	72
2.2.3. Изучение гормонального рецепторного статуса серозного рака яичника и его связь с клинико-морфологическими показателями	78
2.2.4. Оценка выживаемости больных серозным раком яичника в зависимости от гормонального рецепторного статуса опухолей и его прогностическое значение .	83
РАЗДЕЛ 2.3. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ HER-2/neu В КЛЕТКАХ СЕРОЗНОГО РАКА ЯИЧНИКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГОРМОНАЛЬНОГО РЕЦЕПТОРНОГО СТАТУСА ОПУХОЛЕЙ	92
2.3.1. Характеристика больных по HER-2/neu статусу и клинико-морфологическим показателям серозного рака яичника	93
2.3.2. Анализ выживаемости больных в зависимости от HER-2/neu статуса серозного рака яичника	96
2.3.3. Изучение экспрессии HER-2/neu в клетках опухоли в зависимости от гормонального рецепторного статуса серозного рака яичника	100
2.3.4. Анализ выживаемости больных в зависимости от экспрессии HER-2/neu и гормонального рецепторного статуса серозного рака яичника	102

РАЗДЕЛ 2.4.	
КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ VEGF В КЛЕТКАХ СЕРОЗНОГО РАКА ЯИЧНИКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГОРМОНАЛЬНОГО РЕЦЕПТОРНОГО СТАТУСА ОПУХОЛЕЙ	109
2.4.1. Характеристика больных по VEGF-статусу и клинико-морфологическим показателям серозного рака яичника	110
2.4.2. Анализ выживаемости больных в зависимости от VEGF-статуса серозного рака яичника	112
2.4.3. Исследование экспрессии VEGF в опухолевых клетках в зависимости от гормонального рецепторного статуса серозного рака яичника	115
2.4.4. Анализ выживаемости больных в зависимости от экспрессии VEGF и гормонального рецепторного статуса серозного рака яичника	116
РАЗДЕЛ 2.5.	
ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЙ СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КЛИНИЧЕСКОГО РЕТРОСПЕКТИВНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ С ПОМОЩЬЮ ЭКСПОНЕНЦИАЛЬНОЙ РЕГРЕССИОННОЙ МОДЕЛИ.	123
 ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКОЕ ПРОСПЕКТИВНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ	
МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ СЕРОЗНОГО РАКА И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ КИСТ ЯИЧНИКА. ГОРМОНАЛЬНЫЙ ГОМЕОСТАЗ У БОЛЬНЫХ С РЕЦИДИВОМ СЕРОЗНОГО РАКА ЯИЧНИКА	126
3.1. Характеристика больных по возрасту, морфологической структуре яичников и эндометрия.	129
3.2. Особенности гормонального рецепторного статуса, экспрессии HER-2/неи, VEGF в серозном раке и функциональных кистах яичника	133
3.3. Рецепторный статус серозного рака и функциональных кист яичника в зависимости от возраста больных	137
3.4. Гормональный гомеостаз у больных с рецидивом серозного рака яичника	144
 ГЛАВА 4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ <i>IN VIVO</i>	
ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ЦИСПЛАТИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АГОНИСТА ГОНАДОТРОПИН-РЕЛИЗИНГ ГОРМОНА И ИНГИБИТОРА АРОМАТАЗЫ НА МОДЕЛИ АСЦИТНОЙ ОПУХОЛИ ЯИЧНИКА	148
4.1. Первая группа крыс	161
4.2. Вторая группа крыс	163
4.3. Третья группа крыс.	165
4.4. Четвертая группа крыс	166
4.5. Пятая группа крыс	169
4.6. Шестая группа крыс	171
4.7. Седьмая группа крыс	173
4.8. Восьмая группа крыс	175
 ГЛАВА 5. АНАЛИЗ И ОБОБЩЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	181
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	192

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ, СИМВОЛОВ, ЕДИНИЦ, СОКРАЩЕНИЙ И ТЕРМИНОВ

CI	– confidence interval
HR	– hazard ratio
H & E	– гематоксилин и эозин
HER-2/neu	– epidermal growth factor receptor 2
VEGF	– vascular endothelial growth factor
Гн-РГ	– гонадотропин-рилизинг гормон
ГПЭ	– гиперпластические процессы эндометрия
ГРС	– гормональный рецепторный статус
ЗОЯ	– злокачественные опухоли яичника
ИГХ	– иммуногистохимическое исследование
КНАГЭ	– комплексная неатипическая гиперплазия эндометрия
ЛГ	– лютеинизирующий гормон
МКАТ	– моноклональные антитела
ОДЖОТ	– объемная доля жизнеспособной опухолевой ткани
ОСПТ	– опухоли стромы полового тяжа
ОЯ	– опухоль яичника
РГЖ	– рак грудной железы
РП	– рецепторы к прогестерону
РСГ	– рецепторы стероидных гормонов
РТ	– рецепторы к тестостерону
РЭ	– рецепторы к эстрогенам
РЯ	– рак яичника
СПЖ	– средняя продолжительность жизни
Т	– трипторелин
УПЖ	– увеличение продолжительности жизни
ФСГ	– фолликулостимулирующий гормон
ЦП	– цисплатин
Э	– экземестан
Э ₂	– эстрадиол

Известного фантаста Артура Кларка, автора футурологической работы “Черты будущего” спросили, чтобы он хотел узнать у инопланетян, обладающих высшим разумом, если бы ему представилась возможность. Он ответил: **“Конечны или бесконечны пространство и время? Всюду ли смерть сопутствует жизни? Впрочем, нет, прежде всего, я спросил бы о том, как победить рак...”**

ВВЕДЕНИЕ

Злокачественные опухоли яичника (ЗОЯ) являются одной из самых сложных проблем онкогинекологии, что обусловлено распространенностью опухолевого процесса, прогностически неблагоприятным агрессивным клиническим течением, развитием резистентности опухолей к цитотоксической терапии и самой высокой летальностью. ЗОЯ, большая часть из которых принадлежит к эпителиальным опухолям, представляют собой гетерогенную группу заболеваний с разнообразными клиническими и молекулярно-биологическими характеристиками [2, 19, 21, 28, 32, 41, 65, 82, 92, 96, 161, 176, 304, 366].

По экспертной оценке Международного агентства по изучению рака в мире ЗОЯ занимают восьмое место в структуре заболеваемости и смертности среди развитых стран и четвертое место в структуре этих показателей – среди стран со средним и низким индексом человеческого развития (рис. 1, 2). А в структуре опухолей женской репродуктивной сферы – соответственно четвертое (после рака грудной железы, тела и шейки матки) и второе место, уступая раку грудной железы (РГЖ). При этом показатель отношения смертности к заболеваемости ЗОЯ в структуре опухолей репродуктивных органов является самым высоким (рис. 3). Ежегодно в мире регистрируется около 295 тыс. новых случаев ЗОЯ и 180 тыс. женщин умирает (Global Cancer Statistics 2018, [\[goo.gl/mdu2oa\]\(https://goo.gl/mdu2oa\)\). Наивысшая заболеваемость наблюдается в развитых странах Европы и США, где стандартизованные показатели варьируют от 8,8 на 100 тыс. женского населения в США, 9,7 – в странах Южной Европы, до 13,7 – в странах Северной Европы. В Центральной и Южной Америке, Африке и Азии, включая такую индустриальную страну как Япония, эти показатели значительно ниже – 7 и менее на 100 тыс. женского населения. Однако отмечено повышение заболеваемости в странах с низким риском \(Япония, Индия, Сингапур\), а также в некоторых странах Восточной Европы. За последние 10 лет в странах постсоветского пространства отмечается прирост заболеваемости ЗОЯ на 8,5 % \[5, 18, 20, 26, 33, 37, 40, 44, 117, 140, 141, 197, 224, 229, 246, 264, 283, 312, 326, 399\].](https://</p></div><div data-bbox=)

Смертность женщин от ЗОЯ в разных странах мира за последние 10 лет имеет тенденцию к повышению. По данным популяционных канцер-регистров стран Европы однолетняя выживаемость больных ЗОЯ составляет 63 %; 3-летняя – 41 %; 5-летняя – 35 % [142–146, 224, 264, 283, 399]. Е. А. Eisenhauer [233] провел анализ показателей заболеваемости ЗОЯ в странах Северной Америки и Европы за последние 40 лет, отметив тенденцию снижения заболеваемости ЗОЯ за первые три десятилетия наблюдения на $\approx 1\text{--}2\%$ в год, за последнее четвертое десятилетие показатели

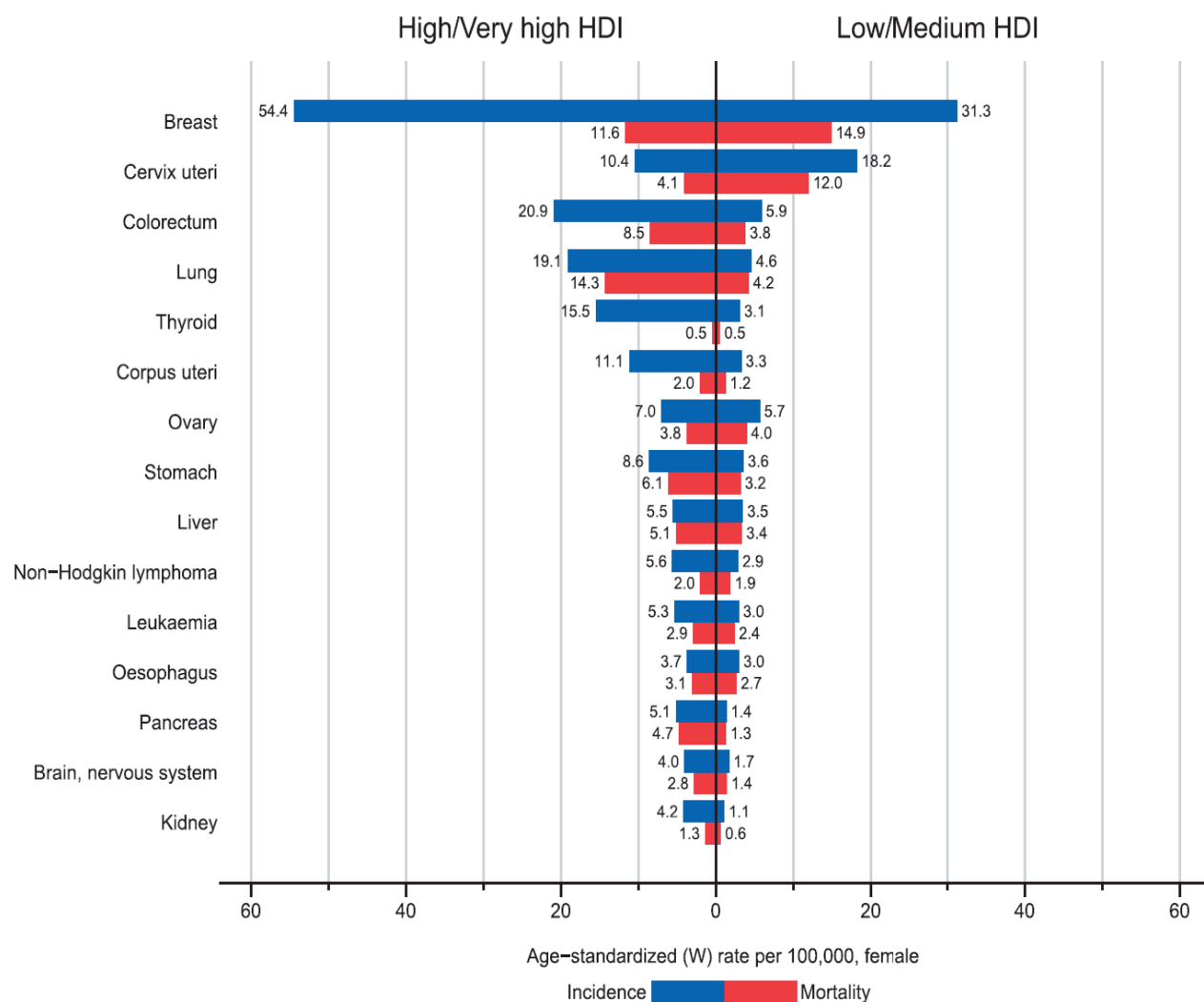


Рис. 1. Гистограмма стандартизованных показателей заболеваемости и смертности в странах с высоким и очень высоким индексом человеческого развития (ИЧР) по сравнению со странами с низким и средним ИЧР среди 15 самых распространенных нозологических форм рака (Global Cancer Statistics 2018, <https://goo.gl/mdu2oa>)

Примечание: HDI – Human Development Index – Индекс Человеческого Развития (ИЧР)

заболеваемости оставались стабильными. Подобная тенденция отмечена в показателях смертности от ЗОЯ. Автор предположительно объясняет этот факт применением оральных контрацептивов в репродуктивном периоде женщин и уменьшением использования заместительной гормональной терапии в менопаузе.

По данным Национального онкологического регистра в Украине показатели заболеваемости

и летальности от ЗОЯ за последние 6 лет (2012–2017 гг.) остаются стабильными – 11,5 и 5,5 на 100 тыс. женского населения соответственно. Не проживает и года после установления диагноза ЗОЯ 30–35 % впервые выявленных больных [142–146].

К основным причинам низкой выживаемости больных ЗОЯ относят бессимптомное течение болезни на ранних стадиях,

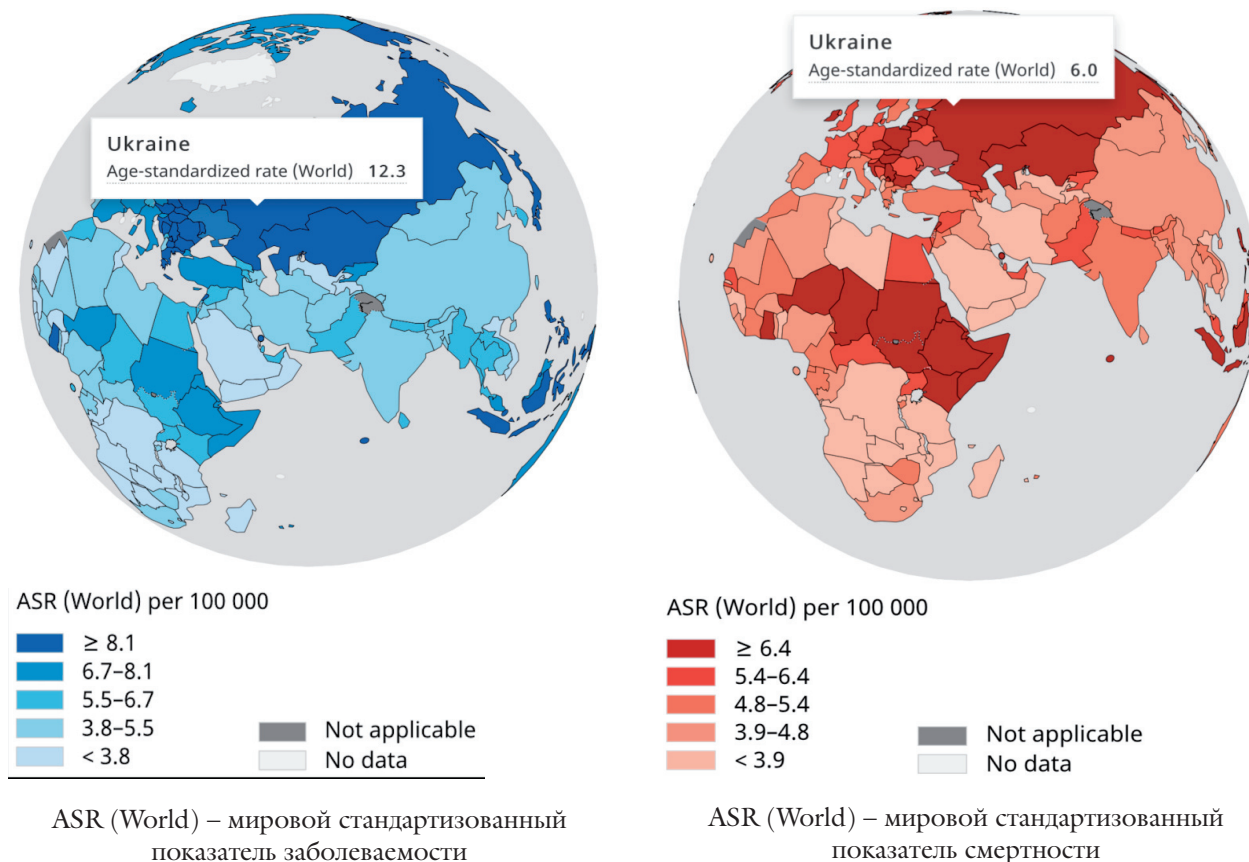


Рис. 2. Мировые стандартизованные показатели заболеваемости и смертности по ЗОЯ (GLOBOCAN 2018, <http://gco.iarc.fr>)

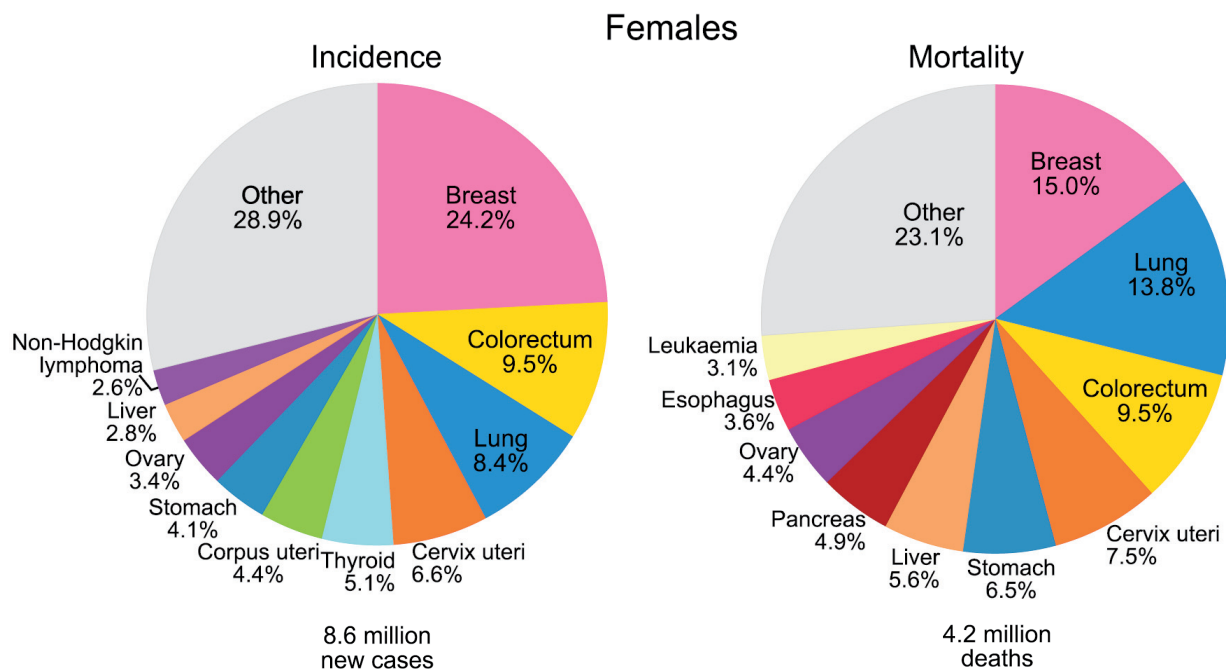


Рис. 3. Диаграммы распределения новых случаев и смертей для 10-ти самых распространенных нозологических форм рака за 2018 год в мире (Global Cancer Statistics 2018, <https://goo.gl/mdu2oa>)

отсутствие патогномичных симптомов, широкий диапазон заболевших женщин, вследствие чего ЗОЯ диагностируют в III–IV стадии у 75–80 % больных [33, 44, 107, 116, 141].

Неудачи ранней диагностики и высокая смертность от ЗОЯ обусловлены агрессивным клиническим течением опухолевого процесса и отсутствием научно обоснованной концепции этиопатогенеза данного заболевания. Прежде всего, это связано с низкой эффективностью воздействия на метастатические очаги, которые и являются основной причиной смерти. Поэтому понимание механизмов этиопатогенеза и метастазирования может быть «ключом» к улучшению общих результатов лечения больных [19, 26, 40, 61, 63, 80, 82, 102, 243, 246, 295].

В мультифакторном патогенезе определенную роль отводят гормональным факторам. К ним относят непрекращающуюся овуляцию вследствие сокращения числа беременностей и родов у женщин цивилизованных стран, бесплодие различного генеза, применение препаратов, стимулирующих овуляцию [18, 20, 41, 196, 229, 258, 322, 330, 338, 368, 369, 373, 411, 412].

Известно, что яичники не только продуцируют половые стероидные гормоны, но и выступают тканью-мишенью для гонадотропных, классических и неклассических стероидных гормонов, а также для гонадотропин-рилизинг гормона (Гн-РГ) [174, 185, 189, 223, 290, 422]. Эстрогены, прогестерон и тестостерон, как и рецепторы к ним являются промоторами многих гормонозависимых опухолей, в частности РГЖ и эндометрия [12, 14, 15, 20, 73, 149, 165, 233]. Однако гормональные факторы представляют собой только часть сложного механизма эндокринно-обменных и молекулярно-генетических нарушений. Поскольку особенности клиниче-

ского течения ЗОЯ определяются также молекулярно-биологической гетерогенностью опухолевых клеток и сложными их взаимоотношениями с многочисленными факторами микроокружения, что в совокупности и формирует опухолевый фенотип с выраженной индивидуальной вариабельностью [36, 61, 82, 93, 97, 101–103, 108, 158, 247, 269, 274, 402, 404].

Большая часть карцином яичника экспрессируют избыточное количество рецепторов семейства эпидермального фактора роста (EGFR, epidermal growth factor receptor), среди которых наиболее изучен EGFR-2 (HER-2/neu). Он кодирует трансмембранную тирозинкиназу, активация которой запускает каскадный механизм передачи сигнала к ядру, что определяет способность клетки к пролиферации, дифференцировке, апоптозу [41, 300, 303, 329, 340, 356, 391, 404].

Одним из видов микроокружения опухолевых клеток является ангиогенез, наиболее изученный ангиогенный фактор – фактор роста эндотелия сосудов (VEGF – vascular endothelial growth factor). Высокий уровень экспрессии VEGF обнаружен в гранулезных и тека-клетках яичника. Известно, что при мутации гена рецептора VEGF нарушается развитие желтого тела и снижается уровень прогестерона [130, 240, 241]. Повышенная экспрессия VEGF и его тирозинкиназных рецепторов (VEGFR-1 и VEGFR-2) регистрируется почти во всех опухолях яичника, при этом нарушение сигнальных путей регуляции ангиогенеза запускает процессы инвазии и метастазирования опухолевых клеток [80, 104, 147, 151, 245, 334, 350].

Под действием стероидных гормонов в клетках-мишенях изменяется скорость синтеза отдельных белков, в том числе HER-2/neu и VEGF, что ведет к модуляции клеточных сигнальных путей, изменению метаболических процессов в клетке, и, в конечном итоге, определяет способность ее

к пролиферации, дифференцировке, апоптозу, адгезии и ангиогенезу [170, 179, 189, 238, 266, 278, 319, 402]. Взаимодействие стероидных гормонов и многих других молекулярных маркеров с рецепторным аппаратом опухолевой клетки, а также механизмы реализации рецепторных сигналов в клеточном ядре, достаточно полно изучены при РГЖ. При этом заболевании, в отличие от ЗОЯ, уже определены стандартные диагностические и терапевтические критерии гормональной, цитотоксической и таргетной терапии [107, 119, 162–164, 173, 184, 222, 250, 275, 324, 363]. Эффективность лечения больных ЗОЯ в значительной степени зависит от молекулярно-биологических особенностей опухолей, однако последние требуют дальнейших исследований в связи с патогенетической и морфологической гетерогенностью опухоли одного и того же генеза [29, 30, 39, 40, 60, 69, 83, 94, 123, 151, 180, 193, 208, 210, 293, 304, 404].

В связи с индивидуальной гетерогенностью ЗОЯ, особого внимания заслуживает стратегия лечения таких больных, которая включает хирургический компонент и химиотерапию. Несмотря на усовершенствование методик хирургического лечения и применение современных схем химиотерапии, отдаленные результаты лечения больных распространенными ЗОЯ остаются неудовлетворительными: 5-летняя выживаемость больных ЗОЯ II стадии составляет 55–67 %, III стадии – 11–15 %, IV стадии – 0–5 % [33, 41, 85, 100, 116, 117, 191, 192, 230, 264, 283, 326, 399].

Развитие и внедрение молекулярно-биологических технологий способствовало появлению новой области науки – молекулярной эндокринологии, которая исследует основные регуляторные механизмы клеток, рецепцию гормонов, их биологические эффекты, реализацию гормональных сигналов и их взаимодействие на уровне функционирования клеток, тканей,

органов, организма. В связи с развитием этих технологий и возможностью выявления рецепторов к эстрогенам (РЭ), прогестерону (РП) и андрогенам в опухолевых клетках возрастает клинический интерес к гормональному лечению больных ЗОЯ [16, 59, 70, 123, 323, 344]. Однако гормонообусловленность, критерии гормонозависимости и гормоночувствительность ЗОЯ, а также применение гормональной терапии в комплексном лечении больных, как и прогноз болезни в зависимости от экспрессии рецепторов стероидных гормонов (РСГ), по-прежнему остаются дискутабельными. Гормональное лечение на протяжении многих лет назначалось эмпирически как «терапия отчаяния» больным с химиорезистентными и рецидивирующими ЗОЯ, когда остальные терапевтические методы себя исчерпали, имея низкий показатель эффективности [107, 140, 229, 231, 236, 263, 290, 307, 310, 384].

Национальными стандартами США (National Comprehensive Cancer Network Clinical Practice Guidelines in Oncology (**NCCN Guidelines**®) в течение многих лет (Version 2011–2020) рекомендовано назначение ингибиторов ароматазы, агонистов гонадотропин-рилизинг гормонов (Гн-РГ) и антиэстрогенов больным с химиорезистентными и рецидивирующими ЗОЯ, а также ослабленным пациентам с распространенным опухолевым процессом. С 2016 г. по 2020 г. **NCCN Guidelines**® (Version 2016–2020) рекомендовано применение гормональной терапии (ингибиторы ароматазы, лейпролида ацетат, тамоксифен) в адъювантном режиме I линии лечения или в качестве поддерживающей терапии больным серозным или эндометриоидным раком яичника (РЯ) высокой степени дифференциации, а также пациенткам с пограничными эпителиальными опухолями [181]. При этом уровень доказательности рекомендованно-

го гормонального лечения входит в категорию II В. И, самое главное, отсутствуют четкие критерии назначения эндокринной терапии на основании клинико-морфологических особенностей и молекулярно-биологического профиля ЗОЯ, в отличие от имеющихся на сегодняшний день стандартных диагностических и терапевтических критериев и принципов лекарственной терапии РГЖ.

На последней консенсусной конференции ESMO-ESGO по РЯ (Милан, 2018) учеными из Института онкологии им. Вальда Хеброна в Барселоне был представлен дизайн еще продолжающегося международного рандомизированного проспективного исследования по применению ингибитора ароматазы летрозолола в адъювантном режиме лечения больных серозным высокодифференцированным РЯ.

Прогностическое значение гормонального рецепторного статуса ЗОЯ изучается в течение многих лет. Результатами одних исследований показана высокая выживаемость больных РЯ при экспрессии РЭ и РП в клетках опухоли [183, 201, 203, 247, 260, 306, 378]. Данные других исследований свидетельствуют, что экспрессия РП и рецепторов к тестостерону (РТ) являются благоприятными факторами прогноза, а экспрессия РЭ связана с прогрессированием заболевания и коротким безрецидивным периодом [97, 174, 185, 207, 285, 293, 343, 365]. До настоящего вре-

мени окончательно не установлена взаимосвязь гормонального рецепторного статуса (ГРС) со степенью дифференциации опухолей, стадией заболевания, возрастом больных, а также влияние химиотерапии на экспрессию РЭ, РП, РТ в опухолевых клетках яичника [8, 52, 65, 70, 97, 247, 274, 344, 376, 404].

Таким образом, остается открытым вопрос о клиническом, прогностическом и терапевтическом значении гормонального рецепторного статуса ЗОЯ, его связи с клинико-морфологическим профилем опухолей яичника, экспрессией HER-2/neu и VEGF в опухолевых клетках. До настоящего времени не получено полного представления о гормональном гомеостазе больных ЗОЯ и механизмах реализации гормонально-рецепторного сигнала в клетках опухолей при воздействии различных половых гормонов, способных запускать процессы пролиферации, инвазии и метастазирования. Решение этих вопросов чрезвычайно важно и является глобальной задачей ученых всего мира, поскольку позволит не только уточнить патогенез ЗОЯ, прогноз заболевания, но обосновать показания и разработать критерии и принципы применения гормональной терапии не при рецидивах ЗОЯ, как «терапия отчаяния», а в качестве компонента I линии комплексного лечения больных с высоким уровнем доказательности.

ГОРМОНАЛЬНЫЙ КАНЦЕРОГЕНЕЗ И ГОРМОНАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ ЯИЧНИКА. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ

Основная причина неэффективного лечения больных ЗОЯ кроется в поздней их диагностике из-за отсутствия патогномичных симптомов, на что указывают гинекологи при первичном обращении женщин разного возраста. Сложность этой проблемы состоит в уникальности структуры яичника и его роли в женском организме. Многокомпонентное строение гонады, многообразие морфологических структур с различными функциями обуславливает широкий спектр гистологических форм и молекулярно-биологического профиля доброкачественных и злокачественных опухолей яичника.

Главная трудность заключается в том, что до настоящего времени нет окончательного научно обоснованного представления о патогенезе ЗОЯ, знание которого разрешило бы проблему ранней диагностики и проведения наиболее эффективного патогенетического лечения.

В свою очередь поздняя диагностика, крайне агрессивное клиническое течение, чрезвычайное разнообразие гистогенетических вариантов ЗОЯ, выраженная вариабельность молекулярно-биологических особенностей опухолей одного и того же генеза, и не такая высокая заболеваемость, как при РГЖ и эндометрия, затрудняют изучение патогенеза.

Тем не менее, благодаря интенсивным исследованиям ЗОЯ во многих странах мира, уже накоплено значительное количество экспериментальных, эпидемиологических и клинических фактов, которые свидетельствуют, что ведущая роль в общей гипотезе патогенеза ЗОЯ отводится взаимодействию сложных механизмов эндокринно-обменных и молекулярно-генетических нарушений [2, 19, 20, 24, 26, 29, 41, 61, 65, 83, 97, 104, 140, 158, 229, 262, 268, 269, 324, 354].

1.1. Роль нарушений гормонального гомеостаза в патогенезе злокачественных опухолей яичника

Известно, что регуляция функции репродуктивной системы определяется гипоталамо-гипофизарным звеном, которое, в свою очередь, посредством нейромедиаторов контролируется корой головного мозга.

Гипоталамус можно отнести к своеобразным биологическим часам с системой саморегулирования и автоматизации нейрорегуляторных процессов, которая реализует информацию, поступающую из внешней и внутренней среды организма, обеспечивая тем самым внутренний гомеостаз, необходимый для нормального течения физиологических процессов во всем организме. Именно гипоталамус является ключевым звеном, координирующим деятельность гипоталамо-гипофизарно-яичникового комплекса, функция которого регулируется как нейропептидами центральной нервной системы, так и яичниковыми стероидами по механизму обратной связи. Поэтому поддержание постоянства внутренней среды в организме осуществляется механизмом отрицательной обратной связи [27, 86, 130, 414].

Интеграция действия гормонов происходит в гипофизе, который контролирует активность всех эндокринных желез и воспринимает сигналы преимущественно гормонального характера, тогда как вся информация, поступающая через вегетативную нервную систему, реализуется в гипоталамусе – координаторе вегетативной и эндокринной деятельности. В свою очередь гипоталамо-гипофизарный комплекс регулирует влияние гормонов на органы

центральной нервной системы, что свидетельствует о роли регуляции гормонов в интегральной нейроэндокринной системе по механизму отрицательной обратной связи [46, 47].

Уникальность репродуктивной системы заключается, с одной стороны, в ее биологической надежности и устойчивости, с другой – в легкой лабильности, что приводит к срыву механизмов адаптации, поддерживающих гомеостаз в организме [86, 125]. Установлено, что нарушение функции гормонозависимого органа вызывает изменение гормонального баланса многих систем организма женщины. При этом следует стимуляция и активация резервов компенсации, направленных на восстановление нарушенного равновесия, в результате чего возникают компенсаторные хронические пролиферативные процессы в гормонозависимом органе [49, 154, 159].

Само явление гормонального рака представляет определенный парадокс для теории онкогена, поскольку она предполагает механизм трансформации за счет генотоксического действия канцерогенов, а гормоны негенотоксичны и осуществляют нормальные регуляторные функции в организме [154]. Почему же изменения режима введения гормона и его дозировки превращает не канцерогенные гормоны в канцерогены?

Механизм гормонального канцерогенеза условно делится на две фазы. Первая – связана с нейрогормональной регуляцией на уровне организма, нарушение которой, в конечном итоге, приводит к избыточной хронической пролиферации в гормонозависимой ткани. Этот этап в настоящее время изучен достаточно полно. Тайна гормонального рака, которая не раскрыта в теории онкогена, связана со второй фазой – событиями, которые следуют за изменением про-

лиферативного режима в клетках ткани, что и объясняют «онкологический смысл» гормональной стимуляции пролиферации клеток. Построить теорию гормонального рака с учетом всех современных достижений молекулярной онкологии означает выявить универсальный механизм трансформации, который бы на основе единого принципа объяснял как механизм трансформации гормональных нарушений, так и механизм негормональных опухолей [49, 159].

Механизм развития гормонального рака заключается в следующем: нарушение синтеза или инактивации гормонов периферической эндокринной железой приводит к прекращению тормозящего действия на гипофиз, опосредуемому гипоталамусом; синтез гормонов гипофиза активируется, происходит гиперстимуляция периферической железы. Таким образом, общая черта гормонального канцерогенеза – повышение содержания в крови гормона, стимулирующего пролиферацию клеток, которые вследствие этого претерпевают атипическую трансформацию [154, 159]. Еще экспериментальными работами Foulds (1956) было продемонстрировано, что опухоли возникают или непосредственно из нормальной ткани, или в предшествующих гиперпластических очагах. В этом вопросе представляет интерес результаты исследования РГЖ, который часто сочетается с пролиферативными изменениями эпителиальных клеток грудной железы, в которой наблюдаются последовательные изменения эпителия от нормального до злокачественного через гиперплазию различной степени (типичную или атипичную). Атипическая гиперплазия и пролиферация эпителия долек и протоков грудной железы наиболее часто выявляется при гормональном дисбалансе в организме женщин, который не только поддержи-

вает эти изменения, но и способствует прогрессии патологических процессов, вплоть до развития РГЖ (Page, 1978) (цит. по: [154]). Интересно, что еще в прошлом веке Б. Зумофф (1984) выявил закономерность: повышенный или искаженный гормональный профиль связан не только с природой гормонозависимых опухолей, но и оказывает влияние на течение заболевания [59].

Анализируя значение гормональных изменений в развитии пролиферативных и гиперпластических процессов в органах женской репродуктивной системы, нельзя не упомянуть о концепции «ановуляторно-лютеиновой» неадекватности, которая была сформулирована еще Grattarola (1964) на основании данных о морфологических изменениях в эндометрии женщин, заболевших РГЖ. При этом отмечалась высокая частота гиперплазии эндометрия в сочетании с гиперплазией протоков грудной железы. Был сделан вывод о том, что почти 1/3 женщин с РГЖ имели хроническую эстрогенную стимуляцию вследствие длительно повторяющихся ановуляторных циклов. Таким образом, в основе всех факторов риска лежит общий патофизиологический механизм – неадекватность лютеиновой фазы, которая является следствием ановуляции яичников (Sherman и Korenman, 1974, цит. по: [154]).

«Эстронная» гипотеза развития рака эндометрия была предложена и сформулирована в прошлом веке Siiterri (1974) (цит. по: [154]). Согласно этой гипотезе, при длительном воздействии эстрогена на эндометрий, в последнем возникает атипическая гиперплазия и рак.

На основании анализа большого клинического материала Я. В. Бохман (1963, 1972) выдвинул концепцию о двух основных патогенетических вариантах гиперпластических процессов и рака эндомет-

рия, первый из которых характеризуется не только «многообразием и глубиной гиперэстрогении», но и сочетается с нарушениями жирового и углеводного обменов [19, 20].

В настоящее время нарушения в системе гипоталамус-гипофиз-яичники характеризуются термином «ановуляторная дисфункция яичников», которая приводит к персистенции фолликулов, абсолютной или относительной гиперэстрогении при неполноценном желтом теле, и гиперпластическим процессам в эндометрии. Кроме того, при ановуляторной дисфункции яичников возможна относительная или абсолютная гиперандрогения, связанная с персистенцией множества малых антральных (андрогенных атретичных) фолликулов, в которых превалирует образование андрогенов и снижена продукция эстрогенов. Ановуляторная дисфункция яичников является результатом различных патологических состояний, которые в настоящее время относят к некоторым факторам риска заболеваний грудных желез и матки: стрессы, гормональные сдвиги, обусловленные прерыванием беременности, неблагополучные роды, некоторые соматические и эндокринные заболевания, включая синдром поликистозных и склерокистозных яичников, метаболический синдром, сахарный диабет, гипотиреоз, различные типы гиперпролактинемии, аденогенитальный синдром [86, 125, 130, 414].

Согласно теории, сформулированной В. М. Дильманом, в каждом организме есть три эндокринологических гомеостата – репродуктивный, адаптационный, энергетический. Онтогенетические изменения в этих системах создают предрасположенность к развитию гормонозависимых злокачественных опухолей, в основе чего лежит сочетанное нарушение на уровне «центра и периферии». Изменения со стороны «центра» – воз-

растное снижение чувствительности гипоталамо-гипофизарной системы к ингибирующему действию периферических половых гормонов и гормональных регуляторов, таких как ингибин [46–49]. Кроме того, снижение синтеза последних происходит в результате генетически запрограммированного физиологического уменьшения фолликулярного пула яичников [112, 125, 130, 414]. Вследствие этого возникает компенсаторная продукция гонадотропинов по механизму обратной связи, что может приводить к компенсаторному усилению функции яичников в течение определенного времени – это изменения со стороны «периферии». Однако повышения уровня периферических стероидных гормонов по механизму отрицательной обратной связи не приводит к снижению активности гипоталамуса в результате все продолжающегося снижения порога чувствительности к их ингибирующему влиянию. Таким образом, увеличивается «мощность» репродуктивной системы, но при этом сохраняется механизм саморегуляции, свойственный гомеостатической системе. Поэтому, чем более выражены будут компенсаторные механизмы, тем более поздно будет наступать менопауза, то есть чем дольше яичники будут синтезировать половые гормоны, тем больше будут способствовать преодолению тенденции к размыканию механизма саморегуляции в репродуктивном гомеостате. Таким образом, повышение порога чувствительности гипоталамо-гипофизарного комплекса к стимулирующему действию стероидов вначале приводит к возрастному включению, а затем к возрастному выключению репродуктивной функции. Более того, чем интенсивней будет компенсация, тем более выраженными будут побочные изменения, вызываемые избыточным действием половых гормонов на органы репродуктивной системы [46–49].

С точки зрения ученого, гормоны не являются канцерогенами, а выступают в роли промоторов канцерогенеза, они не вызывают необратимых стойких изменений в генетическом аппарате клеток, которые необходимы для возникновения злокачественной трансформации. Функциональное состояние трех систем – система регуляции репродуктивной функции, регуляции энергетического обмена и адаптации – подвергается наибольшим возрастным изменениям, при этом половые стероиды (в частности, эстрогены), оказывая значительное воздействие на их функционирование (активность симпатoadреналовой системы, липидный и углеводный, водно-электролитный обмен), являются одним из пусковых факторов гормонального канцерогенеза [46–49].

Автор выделил 2 типа гормонального канцерогенеза, которые отличаются по механизму действия: промоторный (физиологический) и генотоксический. Первый тип ассоциируется с усиленной гормональной стимуляцией, поскольку гормон создает условия для увеличения числа опухолевых клеток. Второй тип характеризуется повышенным образованием свободных радикалов в процессе метаболизма гормонов, что приводит к окислительному повреждению клеточных мембран, формированию ковалентных аддуктов ДНК с гормонами, ослаблению репарации ДНК [46–49]. Последнее согласуется с теорией В. В. Фролькиса (1975) [148], согласно которой процесс старения организма рассматривается как следствие накопления случайных мутаций в хромосомах в результате «изнашивания» механизмов репарации ДНК, что приводит к ослаблению иммунологической реактивности организма. Поэтому первый тип гормонального канцерогенеза (промоторный) характерен для женщин позднего репродуктивного периода и перименопаузы, при котором проис-

ходит усиленная пролиферация клеток под воздействием гормонов на фоне случайной мутации или воздействия какого-либо канцерогенного агента [10–13].

Представленные данные свидетельствуют, что гормональный канцерогенез – это сложный процесс, в котором задействован комплекс глобальных факторов: возраст; состояние функциональных резервов системы гипоталамус-гипофиз-яичники, следствием чего является избыточный синтез гонадных и внегонадных половых стероидов; ослабление репарации ДНК; снижение иммунологической реактивности организма.

Известно, что в репродуктивном периоде женщин стероидпродуцирующими структурами яичников являются клетки гранулезы, внутренней теки и в меньшей степени – строма, тогда как в менопаузе основным источником гонадного синтеза гормонов является строма. Гранулезные, тека-клетки, а также клетки стромы яичника синтезируют прогестерон, тестостерон, дигидротестостерон, эстрон и эстрадиол [317]. Среди всех эстрогенов (эстрадиол, эстрон, эстриол), наиболее биологически активным является эстрадиол, 95 % которого образуется в фолликуле, уровень его в крови является показателем созревания фолликула. Эстрадиол (E_2) секретируется преимущественно клетками гранулезы, а также, в небольшом количестве, желтым телом. Эстрон (E_1) образуется путем периферической ароматизации эстрадиола. Основным источником эстриола (E_3) является гидроксилирование эстрадиола и эстрона в печени [414].

Физиологическая роль стероидных гормонов женского организма заключается в следующем. Секретируемые в кровь эстрогены конъюгируются сексостероидсвязывающими глобулинами (СССГ) и в меньшей степени альбуминами крови. СССР иначе называются эстради-

ол-тестостерон-связывающими глобулинами, имеющими повышенное сродство к андрогенам. Уровень глобулинов, связывающих половые гормоны, в сыворотке крови женщин почти в 2 раза выше по сравнению с их концентрацией в крови мужчин. Эстрогены и их метаболиты конъюгируются в печени с глюкуроновой и серной кислотами и экскретируются с желчью и мочой [126]. Кроме влияния на половые органы, гипофиз и гипоталамус, эстрогены обладают анаболическим свойством, усиливают обмен костной ткани и ускоряют созревание костей скелета. В больших дозах эстрогены способствуют задержке натрия и воды в организме вплоть до развития отеков, влияют на обмен липидов, снижая уровень холестерина в крови [130]. Кроме того, эстрогены, несмотря на наличие стероидной структуры, являются модуляторами мембранных функций многих клеток [125].

Прогестерон секретируется желтым телом, а также корой надпочечников, где используется как предшественник для биосинтеза кортикостероидов и андрогенов. Прогестагены и глюкокортикоиды имеют сходную химическую структуру, поэтому прогестероновые и глюкокортикоидные рецепторы имеют перекрёстно-связывающие свойства. В сыворотке крови прогестерон связывается транскортином, который связывает и глюкокортикоиды. По данным некоторых исследований, способность прогестерона связываться транскортином даже превышает соответствующую у кортикостероидов. В печени прогестерон связывается глюкуроновой кислотой и в конъюгированном состоянии экскретируются с мочой [317].

Андрогены у женщин секретируются клетками стромы яичников и надпочечниками, главным образом в виде андростендиона, при этом в надпочечниках его образуется в 3 раза больше, чем в яич-

никах. Андростендион в периферических тканях конвертируется в тестостерон. Приблизительно около 1/4 тестостерона, секретируемого в организме женщины, продуцируется в яичниках. Остальное его количество секретируется надпочечниками или образуется в тканях на периферии путем конверсии из андростендиона. Кроме того, в яичниках в незначительных количествах образуется также дигидротестостерон, дегидроэпиандростерон [86, 414].

Анализ химической структуры основных половых стероидных гормонов показывает, что все они являются производными прогестерона, при этом эстрогены отличаются между собой количеством имеющихся в их структуре гидроксирадикалов (рис. 1.1).

Субстанцией для всех стероидных гормонов является холестерин липопротеидов низкой плотности (ЛПНП). В стероидогенезе участвуют гонадотропины (фолликулостимулирующий и лю-

теинизирующий гормоны), а также ферментные системы (ароматазы). Вначале образуется прегнанолен в результате отщепления боковой цепи холестерина. В дальнейшем возможно два пути метаболических превращений прегнанолена, заканчивающихся образованием тестостерона, получивших по положению двойной ненасыщенной связи в образующихся соединениях названия $\Delta 4$ - и $\Delta 5$ -путей метаболизма. Преимущественное образование половых стероидов происходит по $\Delta 5$ -пути. В его ходе образуются последовательно 17 α -гидроксипрегнанолен, дегидроэпиандростерон (ДГЭА), андростендион. По $\Delta 4$ -пути образуются прогестерон, 17 α -гидроксипрогестерон, андростендион. Замыкает оба пути $\Delta 4,5$ -изомераза. Далее происходит ароматизация тестостерона или андростендиона с образованием, соответственно, эстрадиола или эстрона (рис. 1.2).

Большинство стероидогенных ферментов, превращающих холестерин в предше-

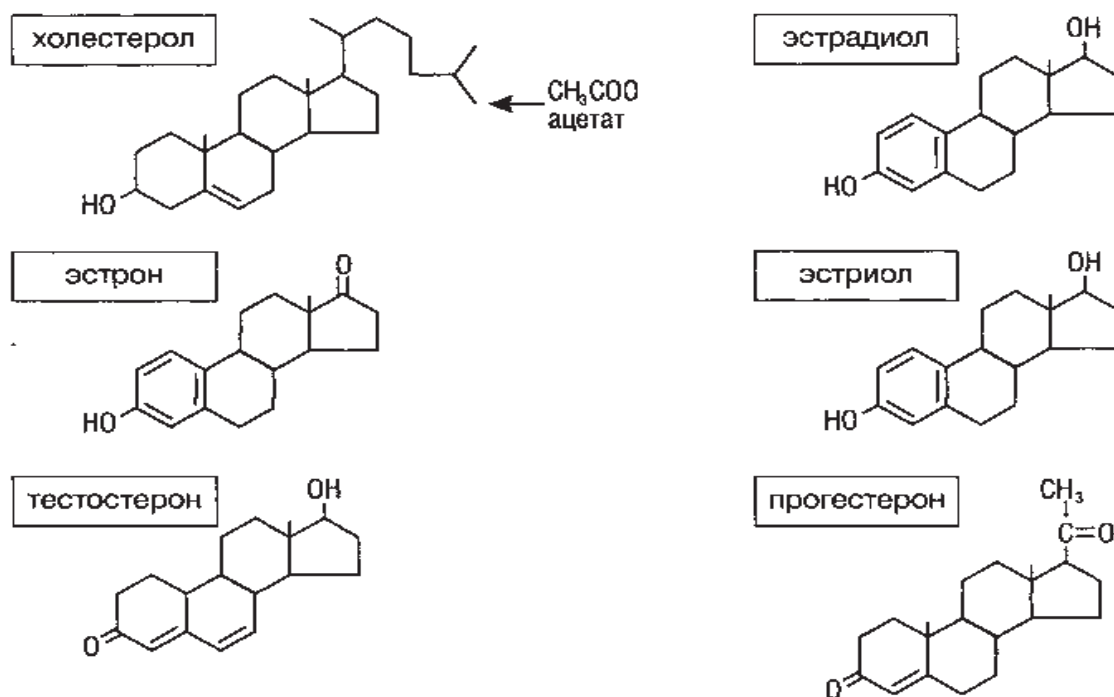
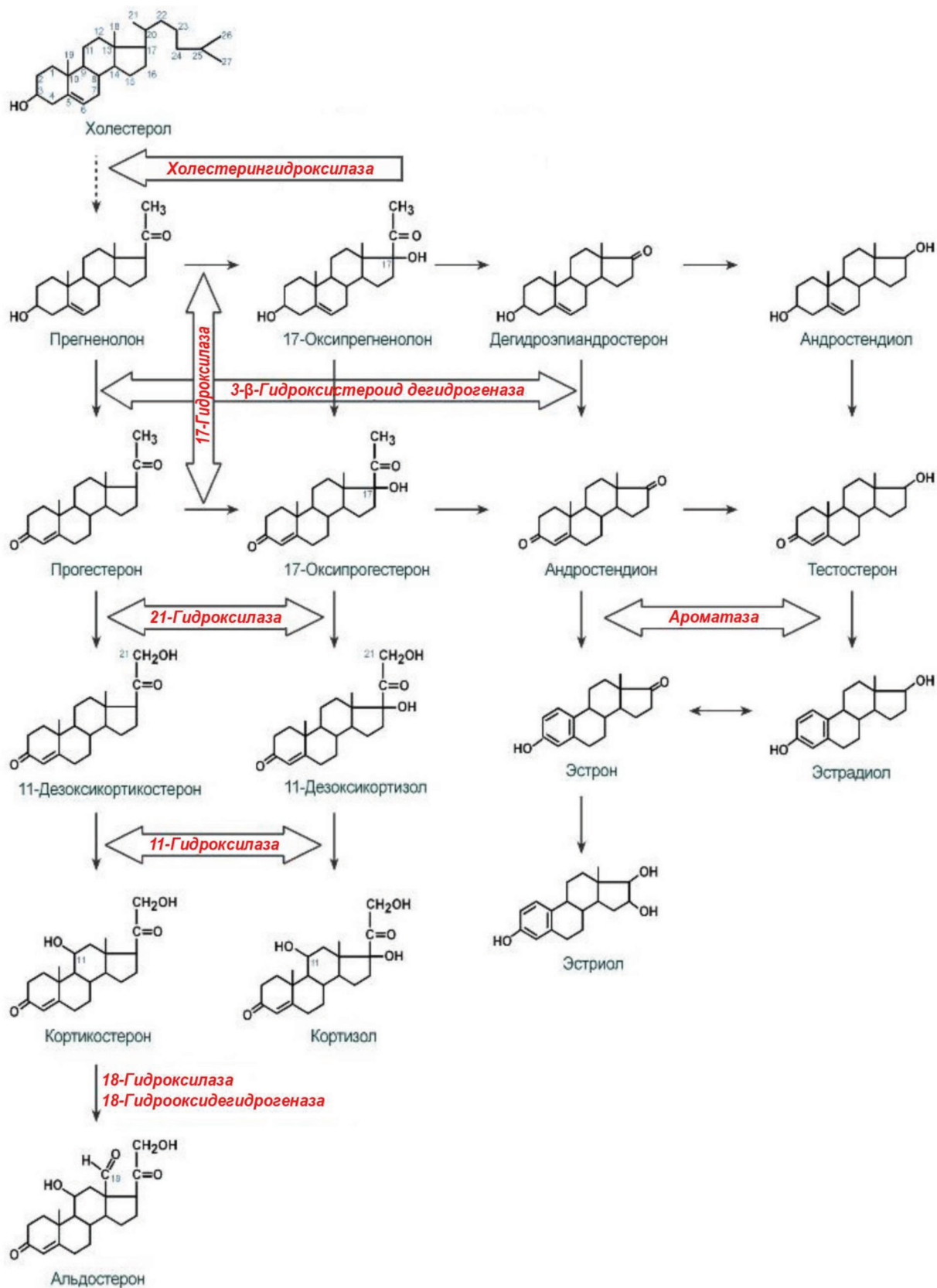
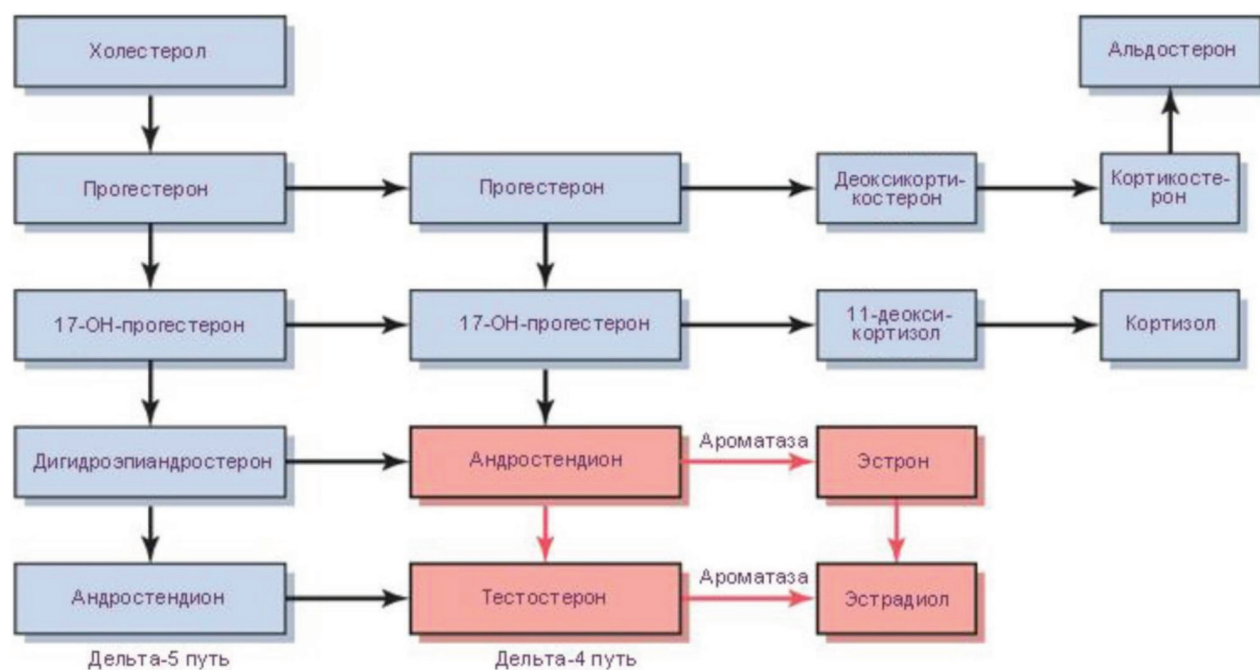


Рис. 1.1. Химическая структура стероидных гормонов [199]



А – Биохимический синтез стероидных гормонов



Б – Схема синтеза стероидных гормонов

Рис. 1.2. Биосинтез стероидов в женском организме [199]

Примечания:

А – биохимический синтез стероидных гормонов – окислительное расщепление боковой цепи холестерина с последующим регио- и стереоселективным гидроксилированием, которое осуществляется цитохромами P450: P450_{scc}, P450_{c17}, P450_{c21}, P450_{c11}, P450_{c18}, P450_{c19};

Б – схема синтеза стероидных гормонов, дельта 4- и 5-пути метаболизма.

ственники и в биологически активные стероиды, входят в группу цитохромов P450. Цитохром P450 – это генерический термин для многих окислительных ферментов. Существует около 200 типов цитохромов, из них в процесс стероидогенеза вовлечены шесть (табл. 1.1) [130].

Биологическое действие стероидов в тканях-мишенях связано с наличием

в них специфических внутриклеточных рецепторов цитоплазмы и ядра. Количество молекул рецепторов для различных стероидных гормонов колеблется от 5000 до 20000 на клетку [414]. Впервые о существовании рецепторов к стероидным гормонам сообщили в 1962 г. Е. Jensen и соавт. (цит. по: [130]), обнаружившие, что органы, чувствительные к эстрогенам

Таблица 1.1

Ферменты P450, участвующие в процессе стероидогенеза [199]

P450 – новое название	Старое название
P450 _{scc}	20,22-десмолаза/холестерингидроксилаза
P450 _{c17}	17,10-десмолаза/17-α гидроксилаза
P450 _{c21}	21-гидроксилаза
P450 _{c11}	11β-гидроксилаза
P450 _{c18}	18-гидроксилаза/альдостеронсинтаза
P450 _{c19}	Ароматаза

(матка, грудные железы), способны накапливать и удерживать 17β -эстрадиол, меченый тритием. На основании этих результатов было высказано предположение о наличии в клетках этих органов рецепторного механизма специфического связывания эстрогенов. В это же время было обнаружено специфическое связывание эстрогенов, меченых тритием, и в клетках РГЖ [73]. Следовательно, стероидные рецепторы представляют собой белки с относительно большой молекулярной массой, которые способны распознавать определенные гормоны (лиганды), связывать их и реагировать на это взаимодействие конформационными изменениями и трансдукцией сигнала внутри клетки [126].

В течение длительного времени считалось, что основным местом связывания стероидного гормона с рецептором яв-

ляется цитозоль клетки. Попад в клетку путем диффузии, гормон связывается в цитоплазме с определенным специфическим белком – рецептором, образуя гормон-рецепторный комплекс, который транслируется из цитоплазмы в ядро, где вызывает активацию транскрипционных факторов и включение определенных участков ядерной ДНК. Следствием этого является синтез специфической иРНК, которая выходит из ядра и способствует синтезу на рибосомах специфических ферментов, обуславливающих конечный эффект гормонов на соответствующую ткань (рис. 1.3). Таким образом, этот механизм обеспечивает трансформацию гормонального сигнала в биохимический ответ клетки в репродуктивных и не репродуктивных органах-мишенях [118, 126].

По мнению исследователей прошлого века [73], предполагалось, что образовав-

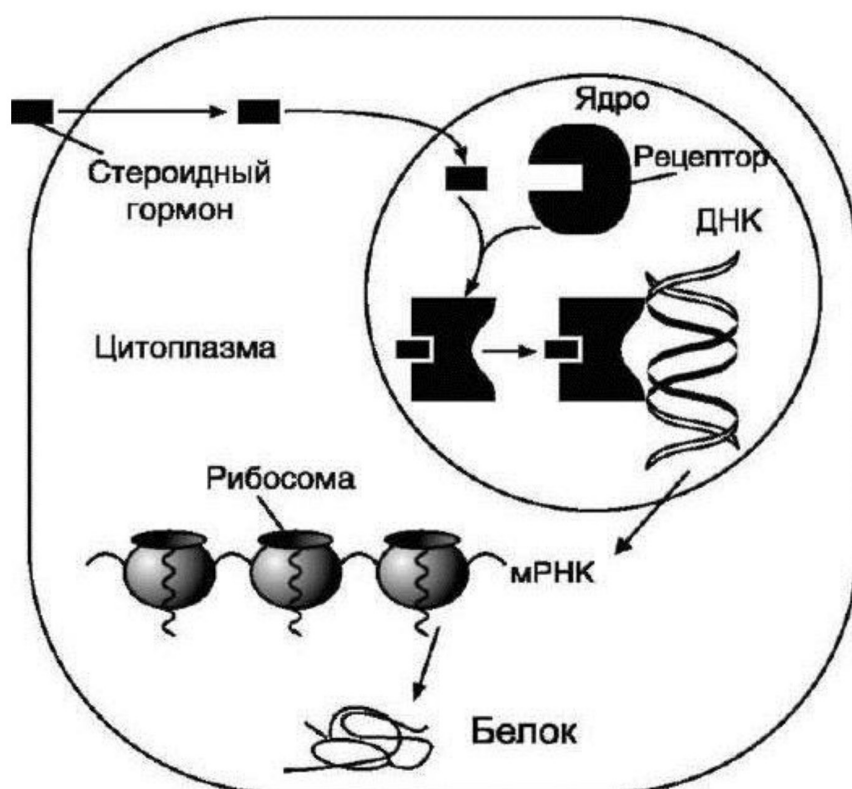


Рис. 1.3. Механизм передачи стероидного гормонального сигнала через внутриклеточные рецепторы (РСГ могут находиться в цитоплазме и ядре) [118]

шейся цитозольный лиганд-рецепторный комплекс после транслокации в ядро связывается с ядерными рецепторами, после чего включается механизм транскрипции ДНК.

В последние годы развилось другое представление (ставшее доминирующим), согласно которому рецепторы гормонов (эстрогенов, прогестерона, андрогенов) локализованы в основном в ядре, где находятся в латентном состоянии до контакта с лигандом (гормоном), связывание с которым приводит к их активации. В соответствии с этим стероидные рецепторы представляют собой транскрипционные факторы, активируемые появлением в среде (изменением концентрации) соответствующего гормона. Таким образом, РСГ – это гормон-активируемые транскрипционные факторы, которые индуцируют или усиливают транскрипцию генов [10, 12].

Однако имеется ряд данных, которые ставят под сомнение концепцию преимущественной локализации рецепторов в ядре. Как отмечалось выше, первоначально РЭ были обнаружены в цитозоле клетки различными биохимическими методами. Один из них, использующий меченый ^3H эстрадиол, стал применяться на практике для определения рецепторного статуса РГЖ. Результаты клинических исследований подтвердили информативность метода выявления в опухоли РЭ более 10 фмоль/мг белка, что стали трактовать как рецепторопозитивный РГЖ. Эффективность гормональной терапии в этих случаях была существенно выше, чем при опухолях с меньшим содержанием рецепторного белка. Исходя из этих данных, была предложена концепция, в соответствии с которой эстроген-рецепторный комплекс образуется в цитоплазме и затем транслоцируется в ядро [73].

Появление моноклональных антител к рецепторным белкам и развитие имму-

ногистохимического метода (существенно более простого и доступного по сравнению с биохимическим) привели к представлению о том, что свободный РЭ локализован в ядре, и содержание именно ядерного рецептора определяет гормоночувствительность опухоли. Поэтому рецепторный статус РГЖ стали характеризовать по результатам иммуногистохимического исследования, который, как показали клинические данные, коррелирует с эффективностью гормональной терапии [250].

Тем не менее, имеются факты, согласно которым трудно объяснить позицию концепции исключительно ядерной локализации РЭ. Образование рецепторного белка происходит в цитоплазме, и поэтому допускается, что после образования он проникает в свободном виде в ядро. Однако рецепторный белок может проникать через ядерную мембрану только в виде активного лиганд-рецепторного комплекса [109]. Нельзя исключить, что с помощью иммуногистохимического метода в ядре определяется не сам рецептор, а эстроген-рецепторный комплекс, транслоцированный из цитоплазмы, возможно, уже связанный с ДНК. Ряд авторов считает, что РЭ равномерно распределены между цитоплазмой и ядром. После связывания с лигандом это равновесие сдвигается в сторону ядра [252]. Тем не менее, все эти предположения несколько не умаляют практической значимости иммуногистохимического определения гормонального рецепторного статуса в клетках органов репродуктивной системы.

К настоящему времени обнаружено два типа рецепторов эстрогенов – α и β (каждая субъединица связывает молекулу гормона). РЭ- α был открыт в 1962 г. и клонирован из человеческих клеток РГЖ в 1986 г., это белок с молекулярной массой 66 kDa, в состав которого входит 595 аминокис-

лот. РЭ-β клонирован в 1996 г. из ткани предстательной железы и яичников крыс, позже был обнаружен в различных тканях человека; молекулярная масса составляет 54,2 KDA, в состав входит 530 аминокислот. Ген РЭ-α находится в длинном плече хромосомы 6 (локус q24–27), тогда как ген РЭ-β расположен в локусе q21–22 хромосомы 14. Локализация РЭ-α и РЭ-β в организме человека представлена в таблице 1.2 [73, 126].

Таблица 1.2

**Локализация РЭ-α и РЭ-β
в организме человека [126]**

Орган	РЭ-α	РЭ-β
Матка	+	+
Яичники	+	+
	клетки теки	гранулезные клетки
Влагалище	+	+
Плацента	+	–
Сердце	+	+
Сосуды	+	+
Кости	+	+
Мозг	+	+
	аркуатные и вентра-медиальные ядра гипоталамуса	нейроны супраоптических и паравентрикулярных ядер гипоталамуса
Грудные железы	+	+
Жировая ткань	+	+
Кожа	+	+
Печень	+	–
Легкие	–	+
Мышцы	–	+
Кишечник	–	+
Мочевой пузырь	–	+
Предстательная железа	+	+
Яички	+	–

РЭ-α и РЭ-β обладают большой гомологичностью и, как все рецепторы для стероидных гормонов, являются транскрипционными факторами, имеющими центры связывания с регуляторными участками ДНК (промоторами, энхансерами). В структуре РЭ выделяют 6 отдельных функциональных доменов, обеспечивающих связь рецептора с гормоном и ДНК, а также индуцирование процессов транскрипции (рис. 1.4) [331].

Некоторыми учеными показано, что снижение уровня эстрогенов в крови, в частности в менопаузе, приводит к повышению экспрессии РЭ в тканях, что подтверждается данными клинических исследований – в менопаузе в ткани РГЖ частота обнаружения РСГ и уровень их экспрессии значительно выше, чем в опухолях больных репродуктивного периода. Следовательно, эстрогены способны выступать в роли индукторов экспрессии рецепторов стероидных гормонов [10, 12].

Рецептор прогестерона является продуктом гена, индуцированного эстрогеном, и его присутствие в клетке указывает на интактные сигнальные пути, зависящие от РЭ. Рецептор прогестерона человека образован двумя субъединицами: РП-α – белок, состоящий из 568 аминокислот, и РП-β – белок – 786 аминокислот. Оба рецептора кодируются одним и тем же геном, и их экспрессия в различных тканях регулируется эстрогенами [383, 409]. В рецепторе прогестерона, так же как в рецепторах других стероидных гормонов, различают несколько доменов, отвечающих за связывание с лигандом, приводящее к конформационным изменениям, димеризации и соединением с ДНК, с последующей активацией транскрипции соответствующих генов [73].

Рецепторы андрогенов впервые были описаны в 1969 г., клонированы в 1988 г., содержат 910–919 аминокислотных остатков и имеют молекулярную массу 98 KDA. Рецепторы андрогенов также входят в су-

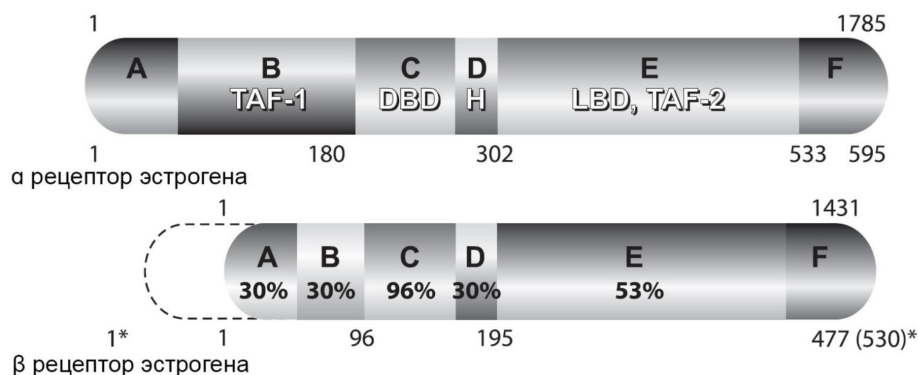


Рис. 1.4. Строение РЭ-α и РЭ-β [331]

Примечания:

Домен А/В – центр активации транскрипции в N-конце молекулы рецептора;
домен С – центр связывания с ДНК;
домен D – центр, определяющий локализацию РЭ в ядре;
домен E – центр связывания с лигандом, кофактором;
домен F – центр активации транскрипции в C-конце молекулы рецептора.

персемейство лигандзависимых ядерных транскрипционных факторов, отличаются от рецепторов других половых гормонов тем, что их ген локализован не на соматической, а на половой хромосоме в виде единственной копии [392]. В рецепторах андрогенов выделяют 4 функциональных домена: amino-концевой регуляторный домен; ДНК-связывающий домен; домен, определяющий локализацию рецептора в ядре; лиганд-связывающий домен, расположенный в карбоксил-концевом участке рецептора. Экспрессия рецепторов андрогенов также регулируется эстрогенами, в частности эстрадиол способен повысить ее в несколько раз [73].

Механизм активации всех РСГ аналогичен и представляет собой классический геномный лигандзависимый путь. Однако в настоящее время изучены так называемые неклассические пути активации рецепторов эстрогенов. А поскольку именно эстрогены среди всех половых стероидов выполняют наиболее значимую митогенную роль в клетках органов мишеней, имеет смысл рассмотреть эти неклассические пути эстроген-рецепторных сигналов в клетке.

Итак, классический геномный лигандзависимый механизм действия эстрогенов осуществляется следующим образом (рис. 1.5).



Рис. 1.5. Лигандзависимая активация РЭ. Классический путь передачи сигнала в клетке [252]

Молекула эстрогена посредством пассивной диффузии попадает в цитоплазму клетки-мишени и связывается с РЭ [126]. Рецептор диссоциирует от своих цитоплазматических шаперонов, стабилизирующих рецептор в неактивном состоянии или маскирующих ДНК-связывающий домен. Комплекс эстроген-рецептор перемещается к ядру. Молекула эстрогена может попадать непосредственно в ядро и связываться с ядерным рецептором. В ядре происходит димеризация рецептора с образованием гомо- (РЭ- α -РЭ- α ; РЭ- β -РЭ- β) или гетеродимера (РЭ- α -РЭ- β). Димер связывается с определенной регуляторной областью гена-мишени, известной как ответный элемент для эстрогенов (ERE, «estrogen-response element») выполняющей роль энхансера [200].

После конформационных изменений рецептора, эстроген-рецепторный комплекс связывается со специфическими белками, способными активировать общий транскрипционный аппарат; формируется мультибелковый комплекс, содер-

жащий РНК-полимеразу II, что приводит к транскрипции. Белки, связанные с РЭ, включают белки-коактиваторы, которые собирают (рекрутируют) белки основного транскрипционного аппарата, и общие интеграторы транскрипции [273]. Таким образом, осуществляется геномный эффект эстрогенов.

Существует альтернативный путь активации РЭ, в основе которого лежит лиганд-независимая активация транскрипции. Ряд факторов роста (эпидермальный фактор роста, трансформирующий фактор роста- α , инсулиноподобный фактор роста-1), инсулин, дофамин, цАМФ и другие могут активировать протеинкиназные каскады и приводить к активации РЭ через фосфорилирование его сериновых или тирозиновых остатков. В данном случае не связанный с лигандом, но активированный рецептор будет осуществлять свое геномное действие (рис. 1.6) [286].

Малоизученным, но очевидным является осуществление геномного и негеномного

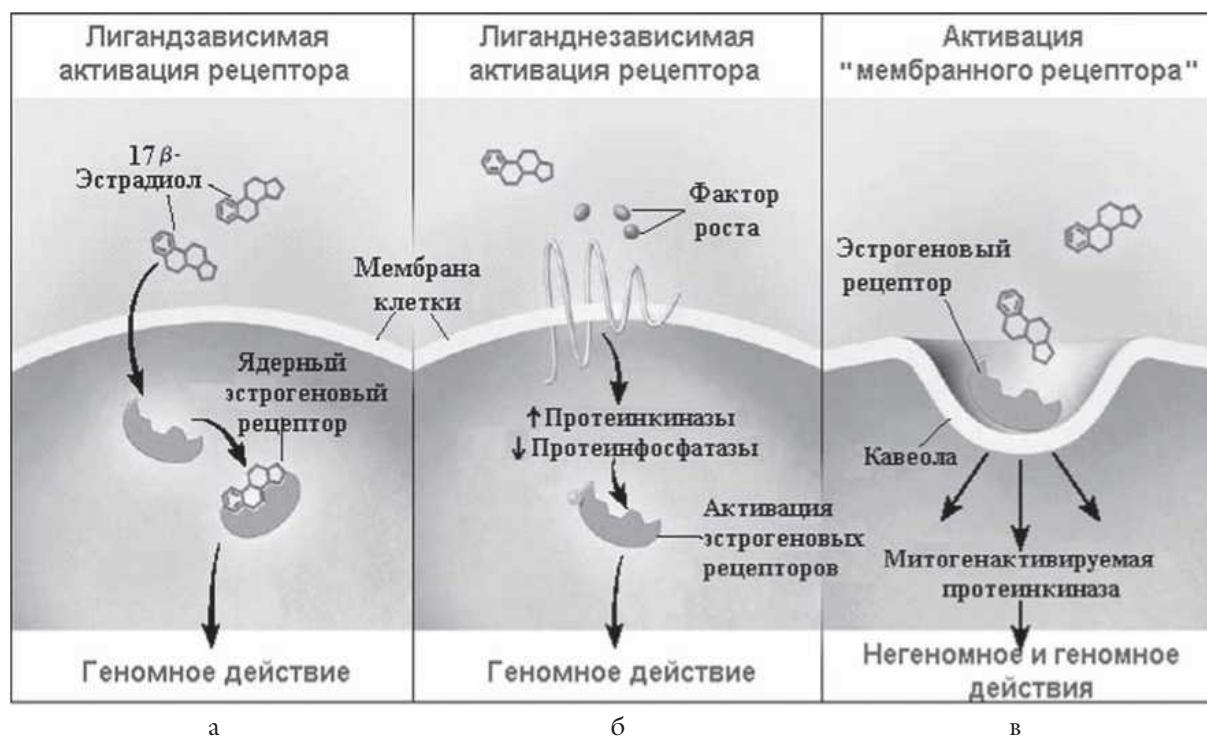


Рис. 1.6. Различные виды активации РЭ в клетке [252]

го эффектов эстрогенов через модуляцию функций мембран клеток (рис. 1.6 в). Предполагаемые мембранные рецепторы могут располагаться в инвагинациях клеточных мембран, называемых кавеолами. Возможное взаимодействие эстрогенов с мембраной приводит к активации ряда мембранных и цитозольных белков (в частности, митоген-активируемой протеинкиназы), что приводит к быстрым, негеномным

эффектам. Однако негеномные эффекты эстрогенов могут непрямым способом влиять на генную экспрессию (рис. 1.7). Функции многих транскрипционных факторов регулируются фосфорилированием протеинкиназами. Активированные транскрипционные факторы будут регулировать генную экспрессию и в отсутствие ответных элементов для эстрогенов (ERE). Таким образом, возможен перекрест меж-

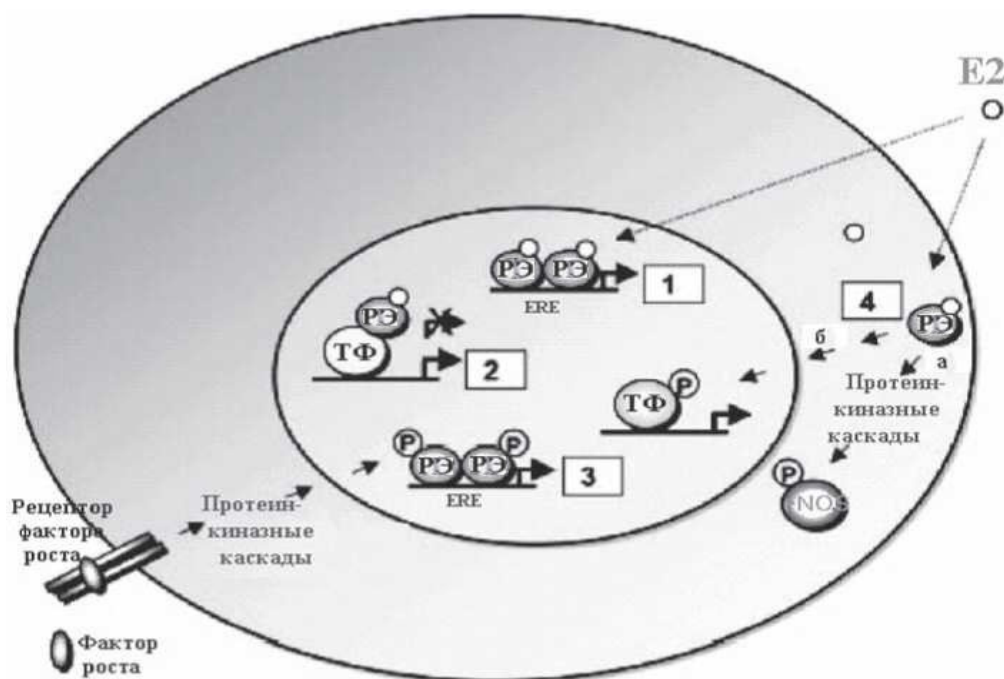


Рис. 1.7. Геномные и негеномные сигнальные механизмы рецепторов эстрогенов в клетке [188]

Примечания:

- 1 – Классический механизм действия РЭ. Ядерный димер РЭ, связанных с лигандами – эстрадиолом (E_2), связывается непосредственно с ответным элементом для эстрогенов (ERE, «estrogen-response element») в гене-мишени. Активируется транскрипция.
- 2 – Геномные действия, не зависящие от ответного элемента для эстрогенов. В этом случае ядерные комплексы E_2 -РЭ связываются через белок-белковые взаимодействия с комплексом транскрипционных факторов (ТФ), который будет взаимодействовать с промотором гена-мишени и в отсутствие ответного элемента для эстрогенов (ERE). В результате также осуществляется геномное действие.
- 3 – Лиганднезависимое геномное действие. Фактор роста активирует протеинкиназные каскады, что приводит к фосфорилированию (P) и активации ядерных РЭ на ответных элементах для эстрогенов (ERE). Происходит влияние на экспрессию генов.
- 4а – Мембранные комплексы E_2 -РЭ активируют протеинкиназные каскады, что приводит к изменению функций мембранных и цитоплазматических белков, в частности, к активации NO-синтазы (eNOS). Таким образом, осуществляется быстрое негеномное действие.
- 4б – Активация данных протеинкиназных каскадов может привести к фосфорилированию (P) и активации транскрипционных факторов (ТФ), в результате чего будет происходить регуляция генной экспрессии и в отсутствие ответных элементов для эстрогенов (ERE). Будет осуществляться геномное действие.

ду негеномными и геномными эффектами эстрогенов [188, 299]. Существуют данные, что ряд клеточных ответов на селективные модуляторы РЭ связан с негеномными действиями, которые приводят к геномным эффектам [299].

Следует отметить, что активация эстрогенами клеток до конца окончательно не изучена и может происходить и при отсутствии их классических рецепторов, модулируя множество внутриклеточных сигнальных каскадов, что приводит к специфическому, зависящему от типа клеток ответу. Это связано с наличием недавно открытого рецептора, сопряженного с G-белком (GPR30 – G-protein coupled receptor 30). Он отвечает на стимуляцию эстрогенов в клетках, в которых классические рецепторы эстрогенов могут отсутствовать, вызывая активацию быстрых клеточных сигнальных путей. В литературе описано модулирующее действие эстрогенов на мембраны клеток, что вызывает изменение функции ряда мембранных и внутриклеточных белков и, в свою очередь, может приводить к быстрым негеномным эффектам (например, к кратковременной вазодилатации коронарных артерий; быстрому инсулинотропному действию эстрадиола на β -клетки поджелудочной железы; быстрой активации связанных с факторами роста сигнальных путей в нейрональных клетках) [73, 126, 335].

Таким образом, представленные данные литературы свидетельствуют о сложности и взаимосвязанности процессов, ассоциированных с действием гормонов на клетки органов и тканей человека и формировании ответного сигнала клеток. Очень перспективными для будущих исследований представляются геномные и негеномные механизмы действия гормонов, их влияние на рецепторный аппарат клеток, особенно в гормонозависимых органах репродуктивной системы женщин в норме и при

развитии таких сложных по патогенезу патологических процессов как рак эндометрия, РЯ, РГЖ.

В постменопаузе усиливается периферический синтез неклассических эстрогенов (фенолстероидов, катехолэстрогенов (4-гидрокси-эстрадиол и 4-гидрокси-эстрон), и их дериватов из класса хинонов и семихинонов), которые обладают менее выраженным, чем классические эстрогены, ингибиторным действием на гипоталамо-гипофизарную систему, а повышение продукции гонадотропинов обуславливает гиперплазию тека-ткани яичников. Постменопаузальный яичник – это андрогенный яичник, строма которого является единственным источником гонадной гормонопродукции в этом возрастном периоде, что подтверждается данными иммуногистохимического исследования с определением фермента стероидогенеза 3β -стероиддегидрогеназы. Неклассические фенолстероиды и эстрон – основные гормоны в постменопаузе, образуются в результате ароматизации из андростендиона (секреция которого в менопаузе осуществляется в большей степени надпочечниками и в меньшей – яичниками). Фенолстероиды являются мощными агонистами эстрадиола, активность этих метаболитов превышает активность последнего в несколько раз (в частности, 16- α гидроксид-эстрон – в 8 раз), они образуют стойкие связи со специфическими рецепторами клеток различных тканей [6, 10, 27, 46–49, 86, 112].

Доказано, что превращение андростендиона в эстрон в процентном отношении коррелирует с весом женщин. Увеличение продукции постменопаузальных эстрогенов по мере нарастания веса связано с участием жировой ткани в процессе ароматизации андрогенов, при этом повышение уровня эстрогенов в организме не ограничивается только жировой тканью. Этим свойством обладают почти все ткани организма.

Внегонадное эстрогенообразование служит источником дополнительной эстрогенной стимуляции. Оценка уровня гормонов в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста, как показали исследования, не дает полной информации о возможных вариантах развития патологических процессов, так как для реализации гормонального эффекта необходимо наличие достаточного уровня рецепторов в клетках тканей-мишеней. Более того, эстрогенизация у женщин постменопаузального периода определяется большей частью не уровнем гормонов в сыворотке крови, а локальной их концентрацией во всех тканях организма [6, 10, 27, 86].

На сегодня доказана взаимосвязь между особенностями метаболизма эстрогенов, неклассических фенолстероидов, образующихся путем конверсии андрогенов, а также экзогенных ксеноэстрогенов, и риском возникновения гормонозависимых опухолей, в частности РГЖ и рака эндометрия, а по данным последних исследований и РЯ [13, 15, 140, 324, 354, 375].

По данным многочисленных исследований, ожирение повышает риск возникновения РЯ, особенно у женщин в раннем репродуктивном периоде и перименопаузе, и течение заболевания имеет более агрессивный характер у больных с высоким индексом массы тела [268, 345, 346, 374]. При наличии возрастных эндокринно-обменных изменений у женщин, проявляющихся ожирением, инсулинорезистентностью и гиперинсулинемией, образование неклассических эстрогенов и действие их на специфические рецепторы различных тканей усиливается. При этом активизируется система инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1) и цитохрома P450c17, которые приводят к андрогенозависимым гиперпролиферативным процессам в яичниках и эндометрии [27, 47, 49, 86, 284, 324, 354, 411]. М. Hoffmann

и J. Gogola в исследовании *in vitro* показали, что адипонектин, который повышает чувствительность тканей к инсулину в организме и имеет антиатерогенный эффект, реверсирует пролиферативные свойства 17β -эстрадиола и IGF-1 путем подавления экспрессии их рецепторов, при этом ингибируется рост клеток в человеческих линиях РЯ OVCAR-3 и SKOV-3 [269]. Усиленное образование свободных радикалов в процессе метаболизма гормонов приводит к повреждению клеточных мембран и ослаблению репарации ДНК, вследствие чего и повышается риск возникновения спорадических форм РЯ и гиперпролиферативных процессов в эндометрии при I патогенетическом варианте [10–13, 140].

Неблагоприятное в прогностическом отношении клиническое течение рака гормонозависимых органов (РГЖ, рака эндометрия, РЯ) связано с переходом промоторного типа гормонального канцерогенеза в генотоксический, изменяя при этом структуру опухоли в менее гормонозависимую. Кроме того, исследования ученых показали влияние эстрогенного профиля на дикий и мутантный ген *BRCA1* в зависимости от возраста и менструального статуса женщин. У молодых женщин эстрогены, активируя дикий *BRCA1*, способствуют генетической стабильности и индуцируют дифференциацию клеток в тканях, предупреждая возникновение злокачественных образований. В менопаузальном периоде эта функция ослабевает, что связывают с нарушением процессов метилирования ДНК по мере старения организма. У носительниц мутаций *BRCA1* эстрогены в любом возрасте способны повышать риск РГЖ и РЯ, увеличивая нестабильность генома на фоне нарушенной репарационной способности *BRCA1*. Менопаузальные генотоксические эстрогены (катехол-дериват 4-ОН-Е2) угнетают экспрессию дико-

го *BRCA1*, при выключении которого активизируется ароматазный комплекс и система IGF-1, переключая промоторный на генотоксический тип гормонального канцерогенеза, с чем связывают более агрессивное течение рака в гормонозависимых органах (в частности РГЖ), поэтому мутантный *BRCA1* рассматривают как модулятор эндокринно-генотоксических переключений. Несмотря на эстрогенозависимость, рак эндометрия при носительстве мутантного *BRCA1* возникает реже, чем РГЖ и РЯ [10–15, 140, 421]. На сегодняшний день доказано, что *BRCA1* ассоциированный РЯ морфологически относится к серозному типу, диагностируется у более молодых женщин и проявляет большую чувствительность к химиотерапии, особенно к платиносодержащим препаратам. Вопрос о прогнозе у женщин с *BRCA1* ассоциированным РЯ до настоящего времени остается открытым [41, 61, 140, 295].

Особенностью ЗОЯ различного морфологического строения является их нередкое сочетание с патологией эндометрия: у каждой 2-й пациентки диагностируют ту или иную внутриматочную патологию. Изменения эндометрия, с одной стороны, могут быть вторичным процессом, с другой – результатом влияния общих факторов риска и звеньев патогенеза [112, 125]. Факторы риска ЗОЯ включают раннее менархе (до 11 лет), позднюю менопаузу (после 55 лет), отсутствие родов, бесплодие с сохраненной овуляцией, эндокринное бесплодие, сопровождающиеся гиперандрогемией, длительный прием препаратов, стимулирующих овуляцию, хроническое воспаление придатков матки, а по данным последних исследований – ожирение [175, 295].

Аналогичные факторы риска, согласно эстрогенной концепции патогенеза патологических процессов матки, установлены для различных пролиферативных со-

стояний эндометрия. К таким факторам относят отсутствие родов, поздняя менопауза, эндокринное бесплодие с частыми ановуляторными циклами, ожирение, при котором отмечается усиленный синтез внегонадных эстрогенов, инсулинорезистентность/гиперинсулинемия, поликистоз/склерокистоз яичников, для которых характерно избыточное образование андростендиона. Все вышеперечисленные факторы являются основой развития I патогенетического варианта как гиперпластических процессов, так и рака эндометрия, частота которых составляет 70 %. Как видно из представленного, в патогенезе опухолей яичника и гиперпластических процессов эндометрия лежат общие факторы риска и механизмов патогенеза, среди которых кардинальная роль отводится гормональным [19, 20, 140, 324, 354].

Результатами многочисленных исследований, показано, что у женщин с началом постменопаузы в клетках тканей-мишеней происходит достаточно интенсивное снижение экспрессии РЭ в грудных железах, вульве и эндометрии, однако у некоторых – сохраняется высокая экспрессия РЭ независимо от продолжительности постменопаузы. В связи с этим, исследователи выделили 2 вида гормонально-рецепторного статуса клеток тканей-мишеней у женщин в постменопаузе [6, 287, 298, 357]:

- при первом – происходит достаточно интенсивное снижение экспрессии РЭ в течение первых 5–10 лет постменопаузы;
- при втором – вне зависимости от продолжительности постменопаузы в клетках тканей-мишеней сохраняется высокая экспрессия РЭ.

Таким образом, в постменопаузе наряду с выключением овуляторной функции яичников происходит мощное включение ряда компенсаторных механизмов, обеспе-

чивающих достаточный уровень и разнообразный спектр биологически активных метаболитов, и при определенных факторах имеются все необходимые условия для избыточной продукции эстрогенов и стимуляции ими органов-мишеней.

Еще в 60-е годы прошлого столетия И. А. Алов, О. И. Елифанова, С. С. Лагучев [1, 56, 78], изучая механизмы регуляции размножения клеток с помощью метода ауторадиографии, пришли к выводу, что гормоны являются митогическими регуляторами. Анализируя роль пролиферативного эффекта гормонов, И. П. Терещенко и А. П. Кашулина (1983) [67] сделали вывод, что все пролиферативно активные гормоны в определенных условиях могут стать причиной нарушения регуляторных механизмов клеточного деления и дифференциации, приводящих к малигнизации ткани.

На начальных вехах истории изучения роли клеточной пролиферации, как фактора канцерогенеза, Е. М. Самунджан (1973) [114] выявила следующие корреляции:

- развитие дисгормональных опухолей вызывают лишь те гормоны, которые стимулируют пролиферативные процессы в нормальных тканях;
- установлена связь между развитием РГЖ, рака тела матки и длительной гиперэстрогенией; между возникновением опухоли яичника и семенников и повышением уровня гонадотропных гормонов гипофиза; между образованием опухолей надпочечников и щитовидной железы и высоким содержанием адренокортикотропного и тиреотропного гормонов гипофиза;
- повышенная гормональная активность надпочечников, особенно секреция ими эстрогенов, вызывает усиленную пролиферацию клеток грудной железы у кастрированных мышей, что создает условие для возникновения РГЖ.

Представляют интерес классические опыты [160], в которых под капсулу селезенки кастрированной самки крысы пересаживали яичники другого животного. Они приживлялись и продуцировали эстрогены, которые попадали в воротную вену и сразу разрушались в печени, не достигая гипофиза. В результате нарушалась координация функций обеих желез по механизму обратной связи, что приводило к гиперпродукции гипофизом гонадотропных гормонов, а это в свою очередь – к постоянной стимуляции пролиферации клеток фолликулярного аппарата яичников. Уже через 157 дней в трансплантате появились неопластические клетки желтого тела, превратившиеся в лютеому на протяжении 300 дней. Основным выводом этого исследования – влияние гормонов на процессы клеточного деления зависит как от продолжительности действия, так и от их концентрации.

Согласно точке зрения известного французского онколога прошлого столетия Ж. Матэ (1983) [87], чрезмерная стимуляция гормонами размножения клеток является причиной канцерогенеза в качестве условия наряду с мутацией или вирусом, то есть гормоны выступают в роли промотора. При этом опухолевая трансформация вначале обратима и зависит от уровня гормональной стимуляции. Ученый объединил факторы с митогенным и канцерогенным воздействием, приводящие к гибели клеток, поскольку ткань отвечает на эти воздействия однотипной реакцией – компенсаторной пролиферацией.

В процессе хронической пролиферации происходит постепенная репопуляция клеточного состава: дифференцированные клетки заменяются на недифференцированные. Нормальное функционирование гомеостаза обеспечивается при условии поддержания правильной струк-

туры – определенной пропорции между стволовыми, коммитированными и дифференцированными клетками. Эта пропорция может колебаться до определенного уровня, превышение которого приводит к нарушению отрицательной обратной связи, контролирующей деление стволовых клеток, поскольку соотношение факторов роста/кейлоны зависит от соотношения стволовых и дифференцированных клеток. Эмбрионализация ткани выступает в качестве негативного, деструктивного фактора, прогрессия которого в ходе канцерогенного воздействия и повышенной пролиферации выводит тканевую регуляцию из строя. Этот механизм имеет динамическую количественную сторону, которая прогрессирует при высокой пролиферации, соответствующей канцерогенному профилю. Какие-либо специфические признаки начальных стадий оказываются размытыми, неотличимыми от неопухолевых регенераторных процессов, поскольку накопление количественных изменений долгое время может не влиять на функционирование гомеостаза. Это обуславливает незаметность, неспецифичность перехода от одного качественного состояния к другому. В данном случае качественный скачок определяется количественным накоплением низкодифференцированных клеток, то есть к неконтролируемому росту низкодифференцированных клоногенных клеток [154].

В процессе опухолевой прогрессии происходит увеличение клеточной анаплазии, следствием которой является изменение рецепторного статуса клеток, поэтому прогрессирующая эмбрионализация ткани приводит к снижению экспрессии рецепторов стероидных гормонов в опухолевых клетках.

Схематично механизм гормонального канцерогенеза можно изобразить так [154]:

- гормональный дисбаланс;
- повышенное митогенное воздействие;

- ускоренная пролиферация;
- обратимая блокировка дифференциации;
- прогрессирующая эмбрионализация ткани и изменение гормонального рецепторного статуса опухолевых клеток;
- нарушение структуры и функции тканевого гомеостаза;
- нарушение контроля пролиферации;
- неконтролируемый злокачественный рост низкодифференцированных клоногенных клеток с активизированными онкогенами;
- инвазия, метастазирование.

Таким образом, в теории гормонального рака учитывается не только качественная сторона канцерогенного фактора, но и количественная — интенсивность и режим воздействия, сочетание которых должно вызывать такой уровень эмбрионализации ткани, который превышает восстановительную способность тканевого гомеостаза [154].

1.2. Гипотезы злокачественной трансформации эпителия яичников

Предложено несколько гипотез, объясняющих повышение риска злокачественной трансформации эпителия яичников в 90 % случаев, при которых не обнаруживаются известные предрасполагающие генетические факторы (мутации генов *BRCA1* и *BRCA2* или генов, отвечающих за репарацию ДНК) [205, 243, 246]. Возможные предрасполагающие факторы развития РЯ представлены в таблице 1.3.

Овуляторная гипотеза была предложена М. F. Fathalla (1971) [239], постулирующая, что риск развития РЯ находится в прямой зависимости от числа овуляторных циклов на протяжении жизни женщины. Предполагается, что во время овуляции происходит погружение и повреждение клеток поверхностного

Таблица 1.3

Возможные механизмы предрасположенности к возникновению РЯ [295]

Факторы	Предполагаемый механизм	Подтверждения
Постоянная овуляция (овуляторная гипотеза Fathalla)	ПЭЯ повреждается во время овуляции, а восстановительные процессы повышают подверженность к мутациям	Риск РЯ снижается при уменьшении числа овуляторных циклов (при беременности, завершившейся родами; кормлении грудью; приеме пероральных контрацептивов)
Стимуляция гонадотропинами	ФСГ и ЛГ стимулируют рост опухоли, клеточное деление и мутагенез	Повышение риска РЯ при эндокринном бесплодии (СПКЯ, аденогенитальный, метаболический синдром), эндометриозе яичников; снижение риска при приеме прогестагеновых препаратов; ФСГ повышает экспрессию многих онкогенов и стимулирует опухолевый рост (экспериментальные данные)
Стимуляция периферическими стероидными гормонами	Высокие концентрации андрогенов в микроокружении опухоли стимулируют канцерогенез, в то время как прогестагены снижают риск РЯ	Состояния, сопровождающиеся гиперандрогенией (нейроэндокринные синдромы, СПКЯ), характеризующиеся атрезией и персистенцией множества антральных фолликулов, в которых превалирует образование андрогенов; применение прогестагенов снижает риск РЯ и запускает апоптоз в клетках ПЭЯ
Воспаление	Повреждение ПЭЯ при овуляции вызывает воспаление, которое стимулирует перестройку ткани и повышает подверженность к мутациям	Возможность снижения риска РЯ при приеме НПВС. Подтверждением этого факта является наличие высокого содержания воспалительных медиаторов в опухолях яичника

Примечания:

- ПЭЯ – поверхностный эпителий яичников;
 ФСГ – фолликулостимулирующий гормон;
 ЛГ – лютеинизирующий гормон;
 СПКЯ – синдром поликистозных яичников;
 НПВС – нестероидные противовоспалительные средства.

эпителия яичника (из которого развивается большинство опухолей, в частности эпителиальные), а последующие репаративные процессы в таких клетках повышают риск возникновения мутаций с малигнизацией. В соответствии с этой гипотезой риск РЯ ниже у женщин, имевших много родов, долго кормивших грудью и применявших пероральные контрацептивы [221, 258, 338, 366, 368, 369, 411]. В рандомизированном исследовании, проводившемся

под эгидой ВОЗ, относительный риск развития РЯ у женщин, когда-либо принимавших пероральные контрацептивы, составил 0,75 %, при этом среди женщин с мутацией в генах *BRCA1/2* снижался на 14 % [141, 229, 410, 411]. Имеются также экспериментальные подтверждения овуляторной гипотезы, полученные в опытах на приматах и других животных [244, 294]. Однако против данной гипотезы свидетельствует то, что прогестагеновые препараты

не всегда могут подавлять овуляцию, но при этом не менее эффективны в профилактике РЯ, чем контрацептивы, подавляющие ее [369]. Кроме того, при синдроме поликистозных яичников риск РЯ повышается, хотя число овуляторных циклов у этих женщин снижено [373]. Этому утверждению противоречат результаты последних некоторых исследований, которыми установлено, что РЯ развивается чаще при трубном бесплодии, при котором сохраняется овуляция, тогда как у женщин с эндокринным бесплодием, у которых овуляция отсутствует, а гормональные нарушения сочетаются с изменениями метаболизма, РЯ практически не развивается [65, 156].

Гипотеза о роли гонадотропинов, согласно которой стимуляция поверхностного эпителия яичников фолликулоформирующим (ФСГ) и лютеинизирующим (ЛГ) гормонами может повышать риск его малигнизации. А. S. Whittemore и соавт. [411] провели исследования по типу «случай-контроль», результаты которых показали, что у бесплодных женщин, получавших препараты, стимулирующие овуляцию, риск развития РЯ оказался выше в 2,8 раза, а пограничных опухолей – в 4 раза по сравнению с бесплодными женщинами, не получавшими препараты для повышения фертильности. Однако в последующих исследованиях выявлено непостоянство связи между применением гонадотропинов и РЯ [196]. Рецепторы к ФСГ и ЛГ выявляют у 100 % нормальных клеток поверхностного эпителия яичников и у 60–100 % клеток РЯ [191, 422]. Результаты исследований показали, что ФСГ, ЛГ и хорионический гонадотропин человека могут стимулировать пролиферацию клеток РЯ и активировать митоген-активируемую протеинкиназу (МАРК) [217]. Кроме того, не только ФСГ и ЛГ, но и рецепторы к ним *in vitro* способны вызывать гиперэкспрессию EGFR, в частности HER-2/neu,

и через ERK $\frac{1}{2}$ –PI3K/Akt путь стимулировать пролиферативную активность клеток РЯ [214, 215, 217]. Активация сигнального тирозинкиназного пути приводит к стимуляции циклооксигеназы 1 и 2 (COX-1, COX-2), увеличивая миграционный потенциал и инвазивную способность опухолевых клеток [301].

J. Wang и соавт. [407] в своих исследованиях наблюдали индукцию экспрессии VEGF в серозном РЯ, *in vitro* и *in vivo*, под воздействием повышенных уровней ФСГ и ЛГ, предположив, что высокие уровни гонадотропных гормонов в менопаузе у больных РЯ после операции могут ускорить прогрессирование и рецидив заболевания. А. Chudecka-Glaz и соавт. [218] выявляли более высокие уровни ФСГ и ЛГ у больных РЯ в аспирате из брюшной полости, чем у женщин с доброкачественными опухолями яичников.

К возможным онкогенам, экспрессия которых повышается при воздействии ФСГ и ЛГ *in vitro*, относятся β -катенин, Meis-1, циклин G2, IGF-1 и интегрин β -1 [284, 393]. В экспериментах с трансплантацией опухолей животным, гонадотропные препараты ускоряли рост опухоли и ангиогенез, усиливая экспрессию VEGF и адгезию опухолевых клеток [371, 372, 407]. Тем не менее, пока ни в одном исследовании не доказано, что воздействие гонадотропинов способно индуцировать злокачественную трансформацию поверхностного эпителия яичников. Этой гипотезе противоречат результаты других исследований. М. А. McSorley и соавт. [330] установили корреляцию повышенного уровня ФСГ в сыворотке крови с отсутствием риска развития ЗОЯ у женщин контрольной группы по сравнению с больными РЯ. Более того, J. Cui и соавт. [221] показали, что при сокультивировании ЛГ с клетками РЯ линии SCOV-3, имеющих гиперэкспрессию рецепторов к ЛГ, про-

исходит активация многих клеточных сигнальных путей, приводящих к уменьшению пролиферативных свойств опухолевых клеток. Однако G. Zhuandi и соавт. [423] в экспериментальном исследовании *in vivo*, отметили, что ингибирование рецепторов к ФСГ и РЭ-β снижает фолликулогенез в яичниках животных, что приводит к блокированию механизмов канцерогенеза РЯ. Кроме того, Y. Huang и соавт. [277] в экспериментальном исследовании *in vitro*, на клеточных линиях SCOV-3, наблюдали снижение противоопухолевого действия цисплатина при его комбинированном использовании с ЛГ, предположив потенциальную способность ЛГ вызывать резистентность клеток РЯ к цисплатину. M. Zhang и соавт. [420] *in vitro* обнаружили, что блокирование рецепторов к ФСГ, ингибирует пролиферирующие свойства опухолевых клеток линий РЯ. Другие ученые не выявили связи между сывороточными уровнями ФСГ, ЛГ и риском развития РЯ [172, 182]. S. Kramer и соавт. [292] при сравнении пациентов с доброкачественными кистами яичников и больных серозным РЯ, не установили различий в сывороточных уровнях ФСГ и ЛГ. Эти данные свидетельствуют, что гонадотропные гормоны могут стимулировать прогрессию РЯ, но не подтверждают их этиологической роли.

Гипотеза стимуляции яичников периферическими стероидными гормонами. Данные эпидемиологических исследований свидетельствуют, что прогестерон, его производные и комбинированные пероральные контрацептивы в одинаковой степени снижают риск РЯ, однако исследования *in vitro* и *in vivo* не выявили явного подавления роста опухолевых клеток при воздействии прогестагенов [369, 370]. Состояния, сопровождающиеся повышенным уровнем ан-

дрогенов (синдром поли-/склерокистозных яичников, аденогенитальный, метаболический синдром и др.), повышают риск развития РЯ [373]. Наивысшая концентрация тестостерона создается внутри фолликулов, подвергшихся атрезии. Высокая системно-локальная концентрация андрогенов вызывает гиперплазию тека-клеток и стромы яичников [295], однако на сегодня не доказано, что воздействие андрогенов вызывает злокачественную трансформацию клеток.

Некоторые ученые [84, 115], сравнивая гормональный гомеостаз у больных РЯ и здоровых женщин, показали, что у больных РЯ до лечения и через 24 месяца после отмечалась абсолютная гиперэстрогемия и гиперандрогемия на фоне выраженной абсолютной гипопрогестеронемии. А в случаях с ранним рецидивом заболевания уровни эстрогенов и тестостерона в сыворотке крови увеличивались на фоне уменьшения уровня ФСГ и увеличения ЛГ. Ю. С. Сидоренко и соавт. [120], исследуя содержание стероидных половых гормонов в опухоли и сыворотке крови больных РЯ, отметили относительную гиперэстрогемию у больных репродуктивного возраста I стадии заболевания и пациенток перименопаузы с распространенным РЯ, обосновывая наличие гиперэстрогенизации у последних усилением внегонадного синтеза гормонов.

Этим данным противоречат результаты исследований других ученых. S. Rinaldi и соавт. [367], анализируя данные большого европейского исследования (192 больных РЯ и 346 здоровых женщин), а также A. Lukanova и соавт. [320] не установили статистически значимых различий в уровнях тестостерона, андростендиона, дегидроэпиандростендиона и его сульфата, эстрона, секс-связывающего глобулина в сыворотке крови больных РЯ и здоровых женщин.

Многие ученые утверждают, что для

прогрессии опухолевого процесса приобретает значение локальная концентрация эстрогенов и андрогенов в тканях, уровень которых особенно повышается в перименопаузальный и постменопаузальный период женщин.

Гипотеза воспаления. Связь между воспалением и злокачественной трансформацией клеток отметил еще в XIX веке Р. Вирхов, основываясь на фактах, что появлению опухоли часто предшествует хроническое воспаление в той или иной ткани.

Эпидемиологические данные, накопленные за два последних десятилетия, свидетельствуют, что хроническое воспаление, индуцированное биологическими, химическими и физическими факторами, способствует развитию до 15 % случаев всех форм рака, в том числе и уrogenитальной системы. Материальной основой взаимосвязи процессов воспаления и канцерогенеза является экспрессия нормальными эпителиальными клетками, с одной стороны, рецепторов к цитокинам, хемокинам, иммунорегуляторным и ростовым факторам, с другой — конститутивная экспрессия этими же клетками цитокинов, эйкозаноидов, эндотелинов, молекул межклеточных взаимодействий, оксида азота. Благодаря чему эпителиальные клетки вступают в кооперацию с «профессиональными» индукторами и эффекторами воспаления и иммунитета, активно участвуют в каскадных и сетевых взаимодействиях, определяющих развитие названных процессов. В свою очередь медиаторы и продукты воспаления могут способствовать инициации канцерогенеза, выступать как мощный промотирующий фактор, стимулировать опухолевую прогрессию, а в последующем усиливать пролиферацию, повышать выживаемость, инвазию, миграцию опухолевых клеток, воздействовать на рост первичной опухоли и на способность ее

клеток колонизировать метастатическую нишу. Воспаление влияет на микроокружение опухоли, процессы неоангиогенеза, может изменять ответ опухоли на терапевтические вещества и гормоны. На молекулярном уровне реактивные формы кислорода и азота, а также альдегиды, продуцируемые при хронической инфекции эффекторами воспаления, могут индуцировать в эпителиоцитах повреждение ДНК, генные мутации, посттрансляционные модификации ключевых белков, связанных с канцерогенезом. Другие продукты воспаления (цитокины, иные флогенные медиаторы, факторы роста) контролируют экспрессию некоторых супрессорных генов и онкогенов, а также усиливают экспрессию и активируют сигнальные молекулы, вовлеченные в воспаление и в опухолевый процесс. К таким молекулам, в первую очередь, относится система ядерного фактора транскрипции NF- κ B, а также сигнальный трансдуктор, активатор транскрипции STAT3 и гипоксия-индуцибельный фактор 1 α (HIF-1 α). Существенная активация системы NF- κ B может стимулировать злокачественную трансформацию, обеспечивая антиапоптотические и пролиферативные сигналы. Мишенями указанных факторов являются вместе с тем и гены цитокинов, острофазных белков, ферментов воспаления (синтазы оксида азота iNOS, COX-2). Таким образом, трансформированные клетки, в свою очередь, продуцируют медиаторы и ферменты воспаления, генерируя этим воспалительное микроокружение. Продемонстрирована связь между активацией определенных онкогенов и формированием воспалительного микроокружения опухолевых клеток. В частности, активация генов семейства RAS и путей передачи сигнала, включающих RAS-RAF, сопровождается повышением продукции промотируемых опу-

холевым ростом провоспалительных цитокинов и хемокинов. Гиперэкспрессия онкогена MYC способствует ремодуляции опухолевого микроокружения: продукции провоспалительных цитокинов, хемокинов (тучные клетки), неоангиогенезу. Перечисленные эффекты мутации RAS и гиперэкспрессии MYC установлены в исследованиях на мышинной модели рака поджелудочной железы. Уровень медиаторов воспаления могут регулировать и продукты генов-супрессоров, например VHL, TGF- β , PTEN. Кроме того, взаимодействие воспалительного и опухолевого процессов связывают со способностью воспалительных цитокинов, продуцируемых макрофагами микроокружения (IL-1 β , IL-6), изменять регуляцию активности рецепторов половых стероидных гормонов в гормонозависимых опухолях. Таким образом, независимо от молекулярного класса и механизма действия продукты онкогенов и генов-супрессоров координируют «воспалительную транскрипционную программу», а трансформированные клетки генерируют воспалительное микроокружение. То есть формируется типичный порочный круг взаимоусиления воспалительного и опухолевого процесса [157].

R. B. Ness и C. Cottreau [339] изучали этиологическую роль воспаления в канцерогенезе РЯ, которое сопровождает каждую овуляцию и приводит к высвобождению цитокинов, медиаторов воспаления, факторов роста и как следствие – к клеточным и тканевым перестройкам, что predisposes клетки поверхностного эпителия к генетическим повреждениям и злокачественной трансформации. Гипотеза подтверждается снижением риска РЯ у женщин, регулярно принимающих нестероидные противовоспалительные средства, в частности ацетилсалициловую кислоту и парацетамол. Конечными мишенями

сигнальной системы, запускаемой нестероидными противовоспалительными средствами, служат NO-синтаза, COX-2, VEGF и транскрипционный фактор (NF- κ B), которые вовлечены в механизмы канцерогенеза [175].

В этиологии неэпителиальных опухолей, в частности герминогенных, поражающих женщин преимущественно молодого возраста и детей, основная роль отводится неблагоприятным факторам в период эмбриогенеза. В развитии гранулезоклеточных опухолей отмечена связь с гиперстимуляцией яичников кломифен цитратом или гонадотропинами при лечении бесплодия [141, 229].

В категорию опухолей стромы полового тяжа (ОСПТ) входит примерно 90 % гормонально-активных новообразований яичников, которые сопровождаются физиологическими и патологическими симптомами избытка эстрогенов и/или андрогенов, и могут выражаться в преждевременном половом созревании, гирсутизме, гиперпластических процессах эндометрия с маточными кровотечениями и риске РГЖ. ОСПТ одинаково часто встречаются как в репродуктивном возрасте, так и в менопаузе, однако пик заболеваемости приходится на перименопаузальный период. Приблизительно у трети пациенток с гранулезоклеточной опухолью яичника выявляют атипическую гиперплазию эндометрия, у 10 % – высокодифференцированную аденокарциному, что указывает на единый патогенетический механизм заболеваний яичника и эндометрия [19, 20, 141, 229].

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о существовании многих гипотез относительно патогенеза опухолей яичника, при этом в канцерогенезе РЯ может участвовать любой из выше описанных механизмов или их комплекс, однако на сегодня нет достоверных дока-

зательств их связи с развитием заболевания. Это требует дальнейшего изучения связи механизмов сложных нейро-обменно-гормонально-рецепторных нарушений на фоне генетических и эпигенетических изменений в клетках таких органов-мишеней как яичники.

1.3. Клиническое значение гормонального рецепторного статуса и молекулярные механизмы реализации гормонально-рецепторного сигнала в опухолевых клетках яичника

Известно, что яичники не только продуцируют половые стероидные гормоны, но и выступают тканью-мишенью для гонадотропных, классических и неклассических стероидных гормонов, а также для гонадотропин-рилизинг гормона [189, 223, 290]. РЯ характеризуется выраженной гетерогенностью молекулярно-биологических маркеров опухолевых клеток и их сложными взаимодействиями с факторами микроокружения, что в совокупности формирует опухолевый фенотип с выраженной вариабельностью [101–104, 158, 262, 402, 404]. Доказано, что РЯ имеет высокую частоту позитивной экспрессии всех рецепторов стероидных гормонов [174, 247]. Под действием половых гормонов в клетках-мишенях изменяется скорость синтеза отдельных белков, что ведет к модуляции клеточных сигнальных путей, изменению метаболических процессов в клетке, и, в конечном итоге, определяет способность ее к дифференцировке и пролиферации или апоптозу, адгезии и ангиогенезу [103, 147, 290, 365, 402]. Взаимодействие стероидных гормонов и многих других молекулярных маркеров с рецепторным аппаратом опухолевой клетки, а также механизмы реализации рецепторных сигналов в клеточном ядре, достаточно полно изучены при

РГЖ [171, 184, 238, 404], на основании чего определены стандартные диагностические и терапевтические критерии и принципы гормональной, цитотоксической и таргетной терапии [107, 162]. В отличие от РГЖ до настоящего времени не получено полного представления о прогностическом значении гормонального рецепторного статуса ЗОЯ, его связи с клинико-морфологическими особенностями опухолей яичника и механизмах реализации гормонально-рецепторного сигнала в опухолевых клетках, запускающих каскадные процессы пролиферации, инвазии и метастазирования.

Изучению гормонального рецепторного статуса яичников посвящены многочисленные исследования. Еще А. Каурпила и А. Bergqvist (цит. по: [8]) в своих работах показали, что образцы морфологически не измененного яичника, с доброкачественной и злокачественной опухолью экспрессировали все РСГ. При этом частота экспрессии РЭ была достоверно выше в ЗОЯ по сравнению с таковой в доброкачественной опухоли и морфологически не измененных яичниках, а для РП и РТ зафиксировано обратное соотношение. D. Willcocks и соавт. (цит. по: [8]) в морфологически не измененных яичниках наблюдали низкую степень экспрессии РЭ (22 %) и высокую экспрессию РП (75 %). M. Galli и соавт. (цит. по [8]) установили фенотип опухоли РЭ+РП+РТ+ у 44 % больных РЯ, и не выявили такового фенотипа у пациенток с доброкачественной опухолью; при этом позитивное окрашивание клеток морфологически не измененных яичников для РЭ отмечено в 46 % случаев, для РП – у 54 % и для РТ – у 85 % больных.

Л. С. Бассалык [8] в собственных исследованиях установил одинаковую частоту экспрессии РЭ и РП в клетках РЯ и доброкачественных опухолей яичника, тогда как рецепторы к андрогенам в последних

встречались в 15 раз чаще, чем в клетках РЯ. По данным В. К. Кондратюк [72], установлено отсутствие экспрессии РЭ и РП в клетках фолликулярных и параовариальных кист яичника, а также низкий рецепторный статус в клетках эндометриоидных кист и кист желтого тела. Q. Meng и соавт. [332] в своих работах, показали достоверно высокую частоту и уровень экспрессии РЭ-а, рецепторов к андрогенам, VEGF и COX-2 в клетках РЯ, чем в клетках эндометриоидных кист яичника. В. В. Баринов и соавт. [7], сопоставляя гормональный рецепторный статус клеток морфологически не измененных яичников и аденокарциномы эндометрия у больных раком эндометрия, отметили высокую частоту выявления РП (83,7 %) и низкую – РЭ (26,1 %) в яичниках. При этом средний уровень экспрессии РП в клетках аденокарциномы эндометрия в 2 раза превышал таковой в яичниках, а РЭ – в 3 раза. Кроме того, уровень экспрессии РЭ в клетках яичника не зависел от возраста больных раком эндометрия.

Результатами многочисленных исследований показано, что самой высокой экспрессией РСГ обладает серозный РЯ [8, 16, 52, 201, 247, 378]. Другими авторами, напротив, установлено, что экспрессия РЭ и РП в эндометриоидном РЯ выше, чем в опухолях других гистотипов, при этом экспрессия РЭ наблюдалась более высокой в низкодифференцированных опухолях (цит. по [8]) [378]. По данным S.-М. Но [267], позитивная экспрессия РЭ-а отмечалась у 97 % больных серозным РЯ, у 100 % – эндометриоидным РЯ, у 70 % – муцинозным РЯ и 0 % – светлоклеточным РЯ, тогда как позитивная экспрессия РЭ-β наблюдалась в клетках серозного РЯ у 41 % больных, муцинозного РЯ – у 30 % пациенток, эндометриоидного РЯ – в 75 % и светлоклеточного РЯ – в 39 % случаев. Кроме того, ученый, изучая экспрессию РСГ в клетках РЯ,

выявил позитивное их окрашивание у 86 % больных для РЭ, у 50 % – для РП и 45 % – для РЭ и РП. Представленные данные свидетельствуют о достаточно высокой экспрессии РСГ в клетках РЯ.

Q. Meng и соавт. [332] отметили высокий уровень экспрессии VEGF, РЭ, рецепторов к андрогенам и низкий уровень РП в опухолевых клетках эндометриоидного РЯ по сравнению с клетками эндометриом и морфологически не измененных яичников, в которых, напротив, выявили низкий уровень экспрессии VEGF, РЭ, рецепторов к андрогенам и высокую экспрессию РП, обосновав протекторное действие последнего. Т. Noguchi и соавт. (цит. по [8]) также наблюдали высокую экспрессию РП в пограничных опухолях, тогда как в РЯ отмечалась низкая экспрессия РП или полное ее отсутствие.

P. Schwarts и H. Cafflez (цит. по [8]) не установили достоверной корреляционной связи между частотой экспрессии РСГ в клетках РЯ и стадией заболевания, возрастом больных и степенью радикальности хирургического лечения. В тоже время другие исследователи отметили, что частота выявления и средний уровень РЭ и РП в клетках больших неоперабельных опухолей ниже, чем в относительно небольших операбельных опухолях. Кроме того, наблюдали более высокий уровень экспрессии РЭ и РП в клетках РЯ у больных III–IV стадии, чем в опухолях больных I–II стадии. Этим данным противоречат результаты J. Spron и соавт. (цит. по [8]): частота рецепторпозитивных опухолей для эстрогенов и прогестерона у больных I–II стадии составила 42,6 %, а III–IV стадии – 29,5 %. Более того, отмечена обратная корреляционная связь между степенью экспрессии РСГ в серозном РЯ и стадией заболевания [70].

Результатами исследований В. П. Козаченко и Е. Е. Маховой [70] показано, что

средние уровни экспрессии РЭ, РП, рецепторов к андрогенам в опухолевых клетках достоверно не различались у менструирующих женщин и находящихся в постменопаузе, однако частота РП-позитивного РЯ у менструирующих больных была выше и составила 83 %.

С. М. Карташов [65], анализируя гормонально-рецепторный статус в опухолях яичника, отметил, что фенотип опухоли РЭ+РП+ регистрировался достоверно чаще в серозном РЯ, чем в серозных цистаденомах яичника. При этом средние уровни экспрессии РЭ и РП были также достоверно выше в клетках серозного РЯ. Оценивая зависимость экспрессии РЭ и РП в опухолях яичника от возраста больных, исследователь показал, что положительный ГРС серозного РЯ у больных менопаузального периода наблюдался чаще (52,2 %), чем у больных репродуктивного (37,5 %). Подобная тенденция отмечена и у пациенток с серозной цистаденомой яичника.

В исследованиях по изучению зависимости экспрессии рецепторов стероидных гормонов от степени дифференциации опухолей А. С. Дудниченко [52] и L. G. Buchynska [201] наблюдали в высокодифференцированном РЯ самую высокую частоту и уровень экспрессии половых стероидных рецепторов, с тенденцией к уменьшению в умеренно дифференцированном, и самой низкой частотой и уровнем экспрессии – в низкодифференцированном РЯ. Противоречат этим данным результаты работ других ученых, которыми установлено отсутствие связи экспрессии РСГ в клетках РЯ и степени его дифференциации, в тоже время другими исследователями отмечена прямая корреляция экспрессии РСГ со степенью дифференциации опухолей яичника (цит. по [8]).

Е. Е. Новичков и А. А. Вотинцев [97] наблюдали более высокую эффективность

химиотерапии у больных РЯ с высокой экспрессией РП и РТ в опухолевых клетках. Некоторые исследователи [52, 65], показали изменение ГРС РЯ при воздействии химиотерапии: в высокодифференцированной опухоли степень экспрессии РСГ снижалась, а в умеренно- и низкодифференцированном РЯ отмечалась тенденция к повышению экспрессии стероидных рецепторов.

Многочисленные исследования были посвящены изучению прогностического значения гормонального рецепторного статуса РЯ. Результатами многих ученых показано, что экспрессия РЭ в клетках РЯ связана с коротким безрецидивным периодом и низкой выживаемостью больных, а экспрессия РП и РТ являются благоприятными факторами прогноза [97, 174, 185, 207, 285, 293, 343, 365, 402]. Другие исследователи напротив, наблюдали более благоприятное течение заболевания и прогноз у пациенток с РЯ при высокой экспрессии РЭ (в частности РЭ-а) и РП в опухолевых клетках [183, 201, 203, 247, 260, 306, 378]. N. Liu и соавт. [316] выделили РЯ, в клетках которого отсутствовала экспрессия РЭ, РП и HER/2-пеп, – «тройной отрицательный» РЯ, показав, что такой тип РЯ имеет агрессивное течение и неблагоприятный прогноз, подобный «тройному отрицательному» РГЖ [163, 163].

По результатам Н. Arias-Pulido [178] 5-летняя выживаемость больных РЯ в зависимости от гормонально-рецепторного фенотипа опухоли составила: 83 % при фенотипе РЭ–РП+, 79 % – при РЭ+РП–, 61 % – при РЭ+РП+, 48 % – при РЭ–РП–; полученные результаты имели статистическую достоверность.

С. Е. Bulun и соавт., S. Patel и P. R. Manna [202, 324, 354] наблюдали выраженную экспрессию рецепторов ароматазы в клетках РГЖ, эндометрия и РЯ, аргументируя определенное значение гиперэкспрессии

указанных рецепторов в развитии и прогрессировании этих заболеваний.

Таким образом, несмотря на многочисленные исследования по изучению гормонального рецепторного статуса ЗОЯ, полученные результаты достаточно противоречивы, что можно объяснить небольшими выборками больных и выраженной гетерогенностью молекулярно-биологических маркеров в клетках ЗОЯ, а также выраженной вариабельностью молекулярно-биологического профиля опухолей одного и того же генеза [248, 274, 290, 365].

На сегодня доказана митогенная роль эстрогенов в клетках РЯ *in vitro* и *in vivo*. Однако каскадный сигнальный механизм пролиферации в результате действия эстроген-рецепторного комплекса в клетках РЯ включает в себя множество путей, которые еще не полностью изучены [73, 118, 126, 189, 290, 328, 402].

Действием ядерного эстроген-рецепторного комплекса активируется экспрессия таких генов как C-мус, VEGF, Bcl-2, IGF-1, TGF- α , регулирующих клеточную пролиферацию. РЭ являются фосфолипидами, и поэтому возможна их эстроген-независимая активация в результате фосфорилирования сериновых и тирозиновых участков молекулы рецептора под действием МАРК, активируемых факторами роста. Возможность такого пути активации РЭ (так называемая взаимная активация, cross-talk) показана только *in vitro* под действием высоких уровней экспрессии EGFR, TGF- α , IGF-1 [73, 216, 382, 404]. Кроме того, эстрадиол проявляет свою активность в результате взаимодействия с внеядерными цитоплазматическими и мембран-связанными РЭ. Имеются данные о прямом независимом взаимодействии между РЭ и рядом других сигнальных молекул, локализованных в клеточных мембранах, включая EGFR, в том числе HER-2/neu, что также ве-

дет к активации PI3K/Akt сигнальных путей, вызывающих выраженную пролиферацию опухолевых клеток. Прямая взаимная активация между мембранными РЭ и сигнальным каскадом, опосредованным МАРК, вызывает выраженную пролиферацию и эндотелиальных клеток [73, 252, 262, 302, 328, 364]. G. N. Armaiz-Rena и соавт. [179] продемонстрировали, что 17- β эстрадиол повышает экспрессию VEGF в РЯ, адгезию, миграционный и митогенный потенциал РЭ-позитивных опухолевых и эндотелиальных клеток через МАРК, а прогестерон, напротив, оказывает антипролиферативное действие *in vivo* и вызывает апоптоз опухолевых клеток *in vitro*.

Схема механизма реализации гормонально-рецепторных сигналов в клетке РЯ представлена на рисунке 1.8.

Эстрогены способны регулировать экспрессию не только собственных рецепторов, но и рецепторов андрогенов, в частности повышать ее [73]. Ныне доказано, что андроген-регулируемые гены стимулируют экспрессию EGFR, VEGF и циклин-зависимых киназ 2 и 4. При этом оказывают репрессирующее действие на экспрессию ТФР- β и Bcl-2 [237], а дигидротестостерон в клеточных линиях РЯ и РГЖ вызывает репрессию p27 [380]. Кроме того, M. Nourbakhsh и соавт. [342] наблюдали активацию теломеразы тестостероном и андростендионом в клеточных линиях РЯ, увеличивая жизнеспособность опухолевых клеток. Результаты многих исследований показано, что выраженная экспрессия рецепторов к андрогенам наблюдается как в клеточных линиях (OVCAR3, OSEC2), так и в инвазивном РЯ, а гиперандрогения может быть риском возникновения и прогрессирования этого заболевания [313, 377, 408]. Более того, результатами когортного проспективного исследования 900 тыс. датских женщин в возрасте 50–79 лет

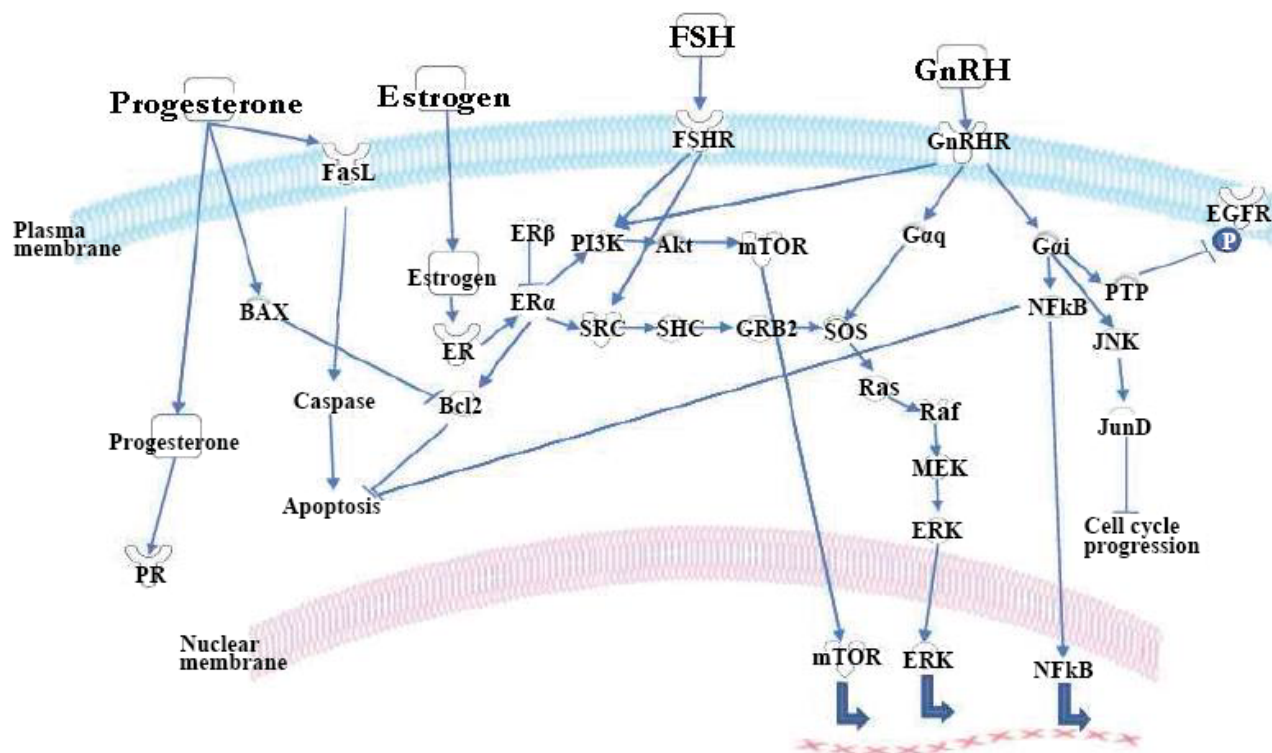


Рис. 1.8. Схема механизмов реализации гормонально-рецепторных сигналов в клетке РЯ [290]

(1995–2009), получивших в качестве заместительной гормонотерапии тиболон – синтетический стероид с эстрогенным, прогестагенным и андрогенным действием, показано, что применение последнего повысило риск развития серозного РЯ и рака эндометрия I типа (гормонозависимого) [318].

Роль прогестерона и его рецептора на сегодня однозначно не определена. Эстрадиол стимулирует образование РП, тогда как прогестерон снижает уровень экспрессии РЭ в репродуктивных органах [73, 126, 130]. С экспрессией РП в клетках РЯ связывают как благоприятный, так и неблагоприятный прогноз заболевания [97, 98, 185]. Имеются данные, что прогестерон-рецепторный комплекс может обеспечивать взаимодействие стероидной и пептидной сигнальной систем в клетке, вследствие чего повышается чувствительность трансформированных клеток к эпидермальному и инсулиноподобному факторам роста [222]. Однако многими

учеными показана антипролиферативная и апоптотическая активность прогестерона в клетках РЯ *in vitro* и *in vivo* [179, 190, 332, 390]. Тем не менее, экспериментальные и клинические исследования, применившие прогестерон при РЯ, не доказали перспективности, более того, отмечен высокий риск побочных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы [302, 327].

Механизмы реализации гормонально-рецепторных сигналов в клетке РЯ при действии гонадотропинов освещены выше, в подразделе «**гипотеза о роли гонадотропинов**».

Рецепторы к Гн-РГ обнаружены в клетках РЯ различного гистологического типа в 80 % случаев. Гиперэкспрессию рецепторов Гн-РГ связывают с активацией EGFR [337]. В более ранних исследованиях показана антипролиферативная активность Гн-РГ и способность блокировать клеточный цикл в фазе G_0/G_1 . Механизм антипролиферативного действия Гн-РГ окон-

чительно не изучен, однако большинство исследователей связывали его с регуляцией MAPK/ERK $\frac{1}{2}$ путей в клетке [253, 288, 289, 386]. Результаты исследования М. Miyazaki и соавт., и некоторых других ученых [323, 333] установлена антипролиферативная активность Гн-РГ в клетках РЯ *in vivo*, сравнимая с эффективностью доксорубицина, при этом не выявлено токсического действия этого гормона. J. Guo и соавт. [257] наблюдали выраженное антипролиферативное и апоптотическое действие антагониста Гн-РГ в клеточных линиях РЯ CaOV-3 и SCOV-3 только при наличии выраженной экспрессии EGFR через EGFR–PI3K/Akt путь, отметив при этом и снижение уровня экспрессии EGFR. Позже S. Fister и соавт. [242] в своих исследованиях показали, что агонист Гн-РГ (трипторелин) в клеточных линиях РЯ (EFO-21 и EFO-27) вызывает активацию ядерного фактора NF- κ B и, таким образом, уменьшает апоптоз, индуцированный цитотоксиком доксорубицином. Кроме того, также наблюдалось протекторное действие агонистов Гн-РГ на гонады у животных и молодых пациенток с РГЖ, получивших цитотоксики (паклитаксел, цисплатин и циклофосфан), с сохранением фолликулярного резерва яичников [226, 305, 309, 347]. Такие противоречивые результаты связывают с наличием различных типов рецепторов к Гн-РГ, вследствие чего запускаются различные пусковые механизмы сигнальных проводящих путей, которые определяют пролиферативную или антипролиферативную активность действия Гн-РГ в клетках РЯ *in vitro* и *in vivo* [211, 386]. Позже выявлено, что антипролиферативное действие агонистов или антагонистов Гн-РГ связано не с активацией рецепторов Гн-РГ I типа, а со стимуляцией рецепторов Гн-РГ II типа, которые обнаружены в клеточных линиях и в первичных культурах РЯ. Взаимодействие Гн-РГ с рецептором II типа имеет более мощный

антипролиферативный эффект, предположительно через MAPK/ERK $\frac{1}{2}$ путь [253]. Эти данные свидетельствуют, что существуют четкие различия в передаче сигнала в клетке по двум рецепторам Гн-РГ. Однако, какой тип рецепторов к Гн-РГ, и какой сигнальный механизм приводит к пролиферативной или антипролиферативной активности клеток РЯ при воздействии Гн-РГ, остается малоизученным [386].

1.4. Современные принципы применения гормональной терапии у больных злокачественными опухолями яичника

Вопрос о применении гормональной терапии в лечении данного контингента больных на протяжении многих лет и на сегодня остается дискуссионным. Экспериментально показана выраженная противоопухолевая активность агониста Гн-РГ сурфагона при лечении индуцированных опухолей яичника у крыс, а при комбинации сурфагона с тию-тэфом или циклофосфаном противоопухолевый эффект значительно повышался. Так, при введении сурфагона в сочетании с тию-тэфом регрессия индуцированных опухолей яичников составила 72 %, а при введении одного тию-тэфа в той же дозе – 56 % [23].

А. Ф. Урманчеева [140] рекомендует после проведенного стандартного лечения назначать тамоксифен больным РЯ независимо от стадии, у которых в дальнейшем отмечался повышенный уровень СА-125 как единственный признак болезни.

Е. В. Симончук применяла депо-провера и тамоксифен в адьювантном режиме комплексного лечения больных эндометриоидным РЯ в зависимости от уровня экспрессии РЭ и РП в опухолевых клетках. Целенаправленная гормональная терапия в комплексном лечении больных позволила повысить 2-летнюю общую выжива-

емость при I стадии на 12 %, при II – на 10,5 %, III–IV стадии – на 33,3 % [122].

G. Emons и K. Schulz [236] в нерандомизированном исследовании назначали лейпролид больным с платинорезистентным РЯ, из них 9 % пациенток достигли объективной ремиссии и 26 % – стабилизации процесса. При использовании трипторелина у больных с прогрессирующим РЯ отмечена стабилизация только у 16 % [231]. Антагонист Гн-РГ цетрореликс, который характеризуется большей антипролиферативной активностью *in vitro* в сравнении с агонистами, у 35 % больных с платинорезистентным РЯ привел к стабилизации опухолевого процесса до 62 месяцев. J. Hasan et al. [263] провели нерандомизированное исследование с применением комбинации гозерилина и тамоксифена у 26 больных с прогрессирующим РЯ: у 50 % пациенток отмечен общий ответ, средний период стабилизации составил 4 месяца, медиана общей выживаемости – 13,6 месяцев. Четыре пациентки продолжали лечение в течение 2-х лет. Применение гозерилина и бикалутамида у больных РЯ с целью поддерживающей терапии не привело к увеличению безрецидивного периода [307].

Результатами многих исследований показана взаимосвязь между особенностями метаболизма эстрогенов, образующихся путем ароматизации андрогенов, и риском развития РЯ, что давно доказано в патогенезе гормонозависимых РГЖ и рака эндометрия. Ингибиторы ароматазы применяются при лечении эстрогензависимого РГЖ у женщин в постменопаузе, однако, их роль при лечении РЯ и гормонозависимого рака эндометрия остается не определенной [324, 354, 404]. Н. Hirakawa и соавт. [266] и многие другие ученые наблюдали, *in vitro* и *in vivo*, снижение экспрессии VEGF и РЭ при лечении ингибиторами ароматазы и антиэстрогенами РЭ-позитивный РЯ, отме-

тив уменьшение пролиферации и апоптоз опухолевых клеток [319, 406]. При лечении больных РЯ ингибиторами ароматазы Y. F. Li и соавт. [310] выявили положительный ответ у 35,7 % пациенток, стабилизацию болезни – у 42 %. При использовании летрозолола у больных с рецидивным РЯ A. Bowman и соавт. [195] в нерандомизированном исследовании наблюдали стабилизацию опухолевого процесса в течение 12 недель только у пациенток с РЭ-позитивной опухолью. J. F. Smyth и соавт. [385] применяли летрозол в течение 6 месяцев у 44 больных с рецидивным РЭ-позитивным РЯ: у 9 % пациенток отмечена частичная регрессия, у 26 % – стабилизация опухолевого процесса в течение этого срока, у 42 % – стабилизация в течение 12 недель, на 3 года была продлена жизнь некоторых пациенток. Исследователи показали прямую корреляцию эффективности лечения от уровня экспрессии РЭ в клетках РЯ. Y. Pan и M. S. Kao [351] достигли положительного эффекта летрозолола в качестве поддерживающей терапии у больных РЯ в течение 30 месяцев.

L. Paleari, A. DeCensi и соавт. [348, 349] проанализировали результаты 53-х клинических исследований, в которых приняли участие 2490 больных с рецидивным и рефрактерным РЯ, получившие различные эндокринные препараты, с оценкой клинической эффективности гормональной терапии: у 41,0 % больных наблюдался общий ответ при лечении различными эндокринными препаратами, у 43,0 % – при лечении тамоксифеном, у 39,0 % – ингибиторами ароматазы, у 37,0 % – прогестинами. Кроме того, авторы отметили, что для РЭ+РП+ опухолей клиническая эффективность гормонотерапии составила 46,0 %, против 37,0 % для опухолей с неизвестным гормонально-рецепторным статусом; для платиночувствительных опухолей эффективность гормонотерапии

наблюдалась у 55,0 % больных, против 40,0 % – при платинорезистентном РЯ.

Такие скромные результаты гормонотерапии у больных РЯ многие исследователи связывают с применением ее при химиорезистентных и рецидивных формах РЯ как «терапии отчаяния», когда остальные терапевтические методы себя исчерпали. Более того, гормональное лечение в большинстве случаев назначается эмпирически, при отсутствии данных о фенотипе первичной и рецидивной опухоли.

Имеющиеся в настоящее время достижения в области онкомамологии, которые раскрывают гормональный канцерогенез РГЖ и свидетельствуют об эффективности гормонального лечения этих больных в зависимости от рецепторного статуса опухолевых клеток, вселяют надежду относительно перспектив проведения гормональной терапии больным с такой тяжелой формой онкологической патологии как РЯ.

РЕЗЮМЕ

Исходя из выше изложенного, можно заключить, что многие вопросы гормонообусловленности, гормонозависимости ЗОЯ, в частности РЯ, и применения гормональной терапии у данной категории больных в течение многих лет остаются дискуссионными.

В свою очередь, поздняя диагностика, крайне агрессивное клиническое течение, чрезвычайное разнообразие гистогенетических вариантов ЗОЯ, а также не такая высокая заболеваемость как при РГЖ и раке эндометрия, затрудняют изучение патогенеза. На сегодня доказано, что ЗОЯ имеют все рецепторы половых стероидных гормонов. Однако клиническая, прогностическая и терапевтическая значимость гормонального рецепторного статуса опухолевых клеток, его корреляция с клинико-морфологическими показателями опухолей яичника и связь с экспрессией HER-2/neu и VEGF в клетках ЗОЯ остаются не определенными.

До настоящего времени не получено полного представления о гормональном гомеостазе больных ЗОЯ, механизмах реализации гормонально-рецепторных сигналов в опухолевых клетках яичника при воздействии различных половых гормонов, способных запускать процессы пролиферации, инвазии и метастазирования. В связи с недостаточным научным представлением о гормонообусловленности, гормонозависимости и гормоночувствительности ЗОЯ, вопрос целесообразности гормональной терапии остается открытым, что требует продолжения исследований в этом направлении.

ГЛАВА 2

КЛИНИЧЕСКОЕ РЕТРОСПЕКТИВНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Материалом исследования служили результаты ретроспективного анализа историй болезни 303 больных ЗОЯ, I–IV стадии, которые находились на стационарном лечении в научно-исследовательском отделении онкогинекологии (руководитель – д.мед.н., профессор Л. И. Воробьева) Национального института рака (директор – д.мед.н., профессор И. Б. Щепотин) в период 2001–2009 гг. Всем больным проведено лечение по радикальной программе: хирургическое, комбинированное и комплексное; согласно стандартам диагностики и лечения онкологических больных, утвержденным Приказами МЗ Украины от 27.07.1998 г. № 226 и от 17.09.2007 г. № 554 [90, 91].

Комбинированное лечение заключалось в проведении циторедуктивной операции с последующей химиотерапией в адьювантном режиме или в комбинации с неoadьювантной химиотерапией. Комплексное лечение включало оперативное вмешательство, химиотерапию и лучевое лечение.

Возраст больных ЗОЯ колебался от 16 до 82 лет, составляя в среднем $51,3 \pm 0,8$ год. Анализ данных проводили в зависимости от возрастных периодов пациенток. Согласно классификации ВОЗ (1980) выделили ре-

продуктивный период – до 45 лет, перименопаузу – 46–55 лет, раннюю постменопаузу – 56–60 лет и позднюю постменопаузу – ≥ 61 год (табл. 2.1).

Из таблицы 2.1 видно, что количество женщин, заболевших ЗОЯ, в репродуктивном, перименопаузальном и позднем постменопаузальном периоде было сопоставимым (29,7 %, 28,4 и 27,1 %, соответственно) в раннем постменопаузальном периоде – в 2 раза меньшим (14,8 %). Общее число больных в постменопаузальном периоде было наибольшим и составило 41,9 %, что согласуется с данными литературы [141, 229]. Отмечено 3 возрастных пика заболевания в интервале 40–69 лет, при этом наибольшее количество больных было в возрасте 50–59 лет (рис. 2.1).

Клинический диагноз во всех случаях верифицирован с помощью морфологического исследования операционного материала согласно гистологической классификации опухолей яичника ВОЗ (2009, 2013) (научно-исследовательское отделение патологической анатомии и гистологии Национального института рака, руководитель – д.мед.н., профессор А. Н. Грабовой). Стадию опухолевого процесса оценивали по международной классификации FIGO (табл. 2.2) [110].

Таблица 2.1

Распределение больных ЗОЯ по возрастным периодам

Возрастной период, годы	Количество больных		Средний возраст, колебания, годы
	n	%	
Репродуктивный (16–45)	90	29,7	$34,4 \pm 0,9$ / 16–45
Перименопауза (46–55)	86	28,4	$50,5 \pm 0,3$ / 46–55
Постменопауза (56 и >)	127	41,9	$62,5 \pm 0,3$ / 56–82
Ранняя постменопауза (56–60)	45	14,8	$57,9 \pm 0,2$ / 56–60
Поздняя постменопауза (≥ 61)	82	27,1	$67,0 \pm 0,4$ / 61–82
Всего	303	100,0	$51,3 \pm 0,8$ / 16–82

Таблица 2.2

Международная классификация рака яичников (FIGO, 2010)

Стадия	Показатели
I	Опухоль ограничена яичниками
IA	Опухоль ограничена одним яичником, капсула не повреждена, нет опухолевых разрастаний на поверхности яичника, нет злокачественных клеток в асцитической жидкости или смывах из брюшной полости
IB	Опухоль ограничена двумя яичниками, их капсулы не повреждены, нет опухолевых разрастаний на поверхности яичников, нет злокачественных клеток в асцитической жидкости или смывах из брюшной полости
IC	Опухоль ограничена одним или двумя яичниками и сопровождается любым из следующих факторов: разрыв капсулы, наличие опухолевых разрастаний на поверхности яичников, наличие злокачественных клеток в асцитической жидкости или смывах из брюшной полости
II	Опухоль поражает один или два яичника с распространением на малый таз
IIA	Врастание и/или метастазирование в матку и/или в одну или обе трубы, нет злокачественных клеток в асцитической жидкости или смывах из брюшной полости
IIB	Распространение на другие ткани малого таза, нет злокачественных клеток в асцитической жидкости или смывах из брюшной полости
IIC	Распространение в пределах таза с наличием злокачественных клеток в асцитической жидкости или смывах из брюшной полости
III	Опухоль поражает один или оба яичника с микроскопически подтвержденными внутрибрюшинными метастазами за пределами таза и/или метастазами в регионарных лимфатических узлах. Метастазы в капсуле печени
IIIA	Микроскопически подтвержденные внутрибрюшинные метастазы за пределами таза
IIIB	Макроскопические внутрибрюшинные метастазы за пределами таза до 2 см включительно в наибольшем измерении
IIIC	Внутрибрюшинные метастазы за пределами таза более 2 см в наибольшем измерении и/или метастазы в регионарных лимфатических узлах (подчревных, общих/наружных подвздошных, боковых крестцовых, парааортальных или паховых)
IV	Отдаленные метастазы (исключая внутрибрюшинные метастазы). Паренхиматозные метастазы в печени. Плеврит с цитологически обнаруживаемыми опухолевыми клетками

Распределение больных в зависимости от гистологического типа опухолей представлено в таблице 2.3 и рисунке 2.2. Наибольшую группу составили больные с эпителиальными ЗОЯ (268/88,5 %), среди них преобладали пациентки с серозным РЯ (232/76,6 %) и только у 25 (8,3 %) диагностирован муцинозный РЯ. Недифференцированный (6/2,0 %), светлоклеточный (3/1,0 %) и эндометриоидный РЯ (2/0,7 %) наблюдались в единичных случаях. ОСПТ выявлены у 27 (8,9 %) больных, среди них преобладали пациентки с гранулезоклеточной

опухолью (19/6,3 %). Наименьшую группу составили больные с герминогенными ЗОЯ (8/2,6 %).

Распределение больных в зависимости от гистологического типа опухолей яичника и распространенности опухолевого процесса представлено на рисунке 2.3 и в таблице 2.4. Анализ распространенности ЗОЯ показал, что количество больных с III стадией было наибольшим для эпителиальных (209/78,0 %) и герминогенных опухолей (3/37,5 %), тогда как среди больных с ОСПТ преобла-

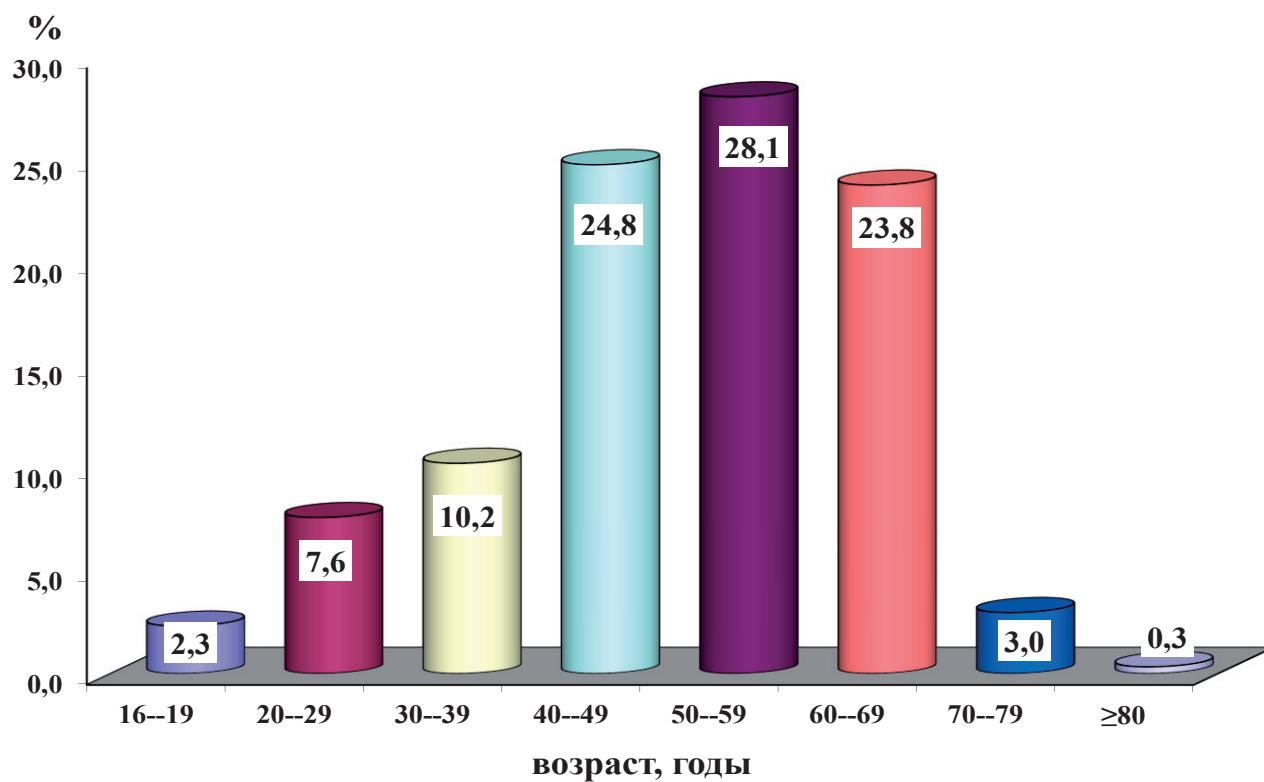


Рис. 2.1. Распределение больных ЗОЯ I–IV стадии по возрасту

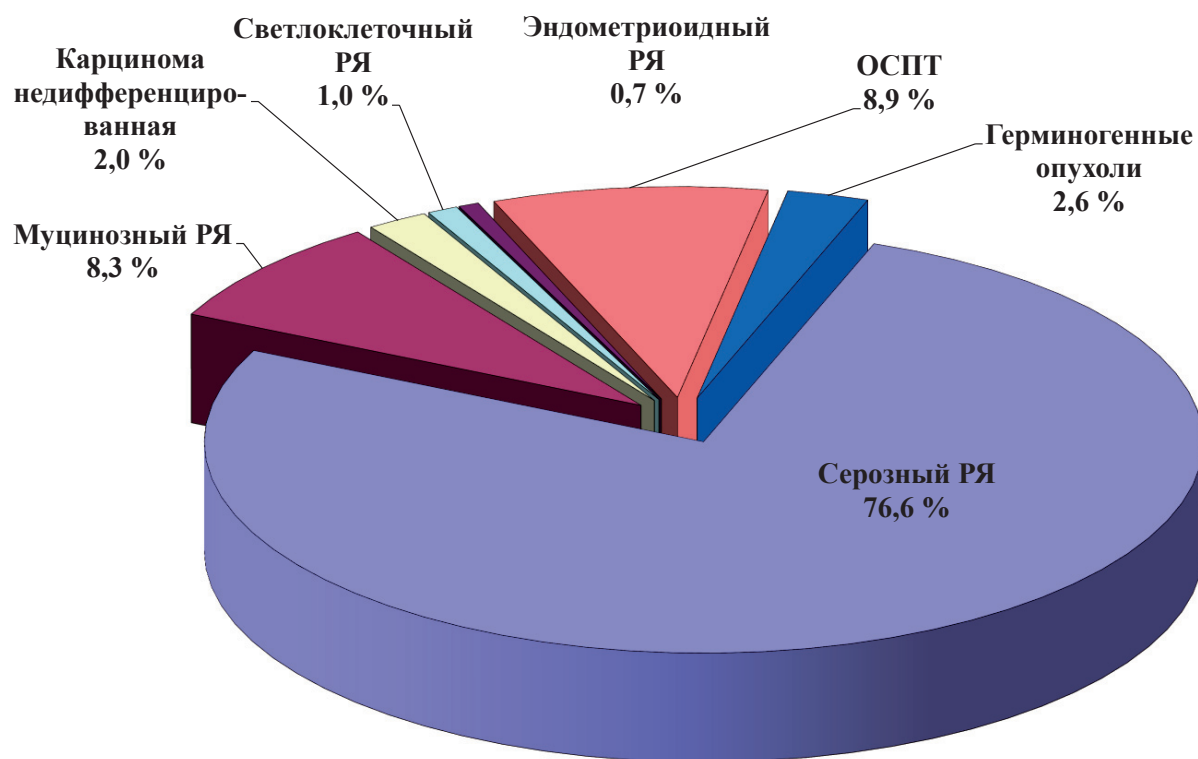


Рис. 2.2. Распределение больных ЗОЯ по гистологическому типу опухолей

Таблица 2.3

**Распределение больных в зависимости
от гистологического типа злокачественных опухолей яичника**

Гистологический тип ЗОЯ	Количество больных	
	п	%
Рак яичника (всего)	268	88,5
серозный	232	76,6
муцинозный	25	8,3
недифференцированный	6	2,0
светлоклеточный	3	1,0
эндометриоидный	2	0,6
ОСПТ (всего)	27	8,9
гранулезоклеточная	19	6,3
текома злокачественная	6	2,0
андробластома	2	0,6
Герминогенные ЗОЯ	8	2,6
Всего	303	100,0

Таблица 2.4

**Распределение больных в зависимости
от гистологического типа опухолей и распространенности опухолевого процесса**

Гистологический тип ЗОЯ	Стадия ЗОЯ								Всего	
	I		II		III		IV			
	п	%	п	%	п	%	п	%	п	%
Рак яичника (всего)	29	10,8	17	6,3	209	78,0	13	4,9	268	100,0
серозный	23	9,9	13	5,6	185	79,7	11	4,7	232	100,0
муцинозный	6	24,0	4	16,0	14	56,0	1	4,0	25	100,0
недифференцированный	0	0,0	0	0,0	5	83,3	1	16,7	6	100,0
светлоклеточный	0	0,0	0	0,0	3	100,0	0	0,0	3	100,0
эндометриоидный	0	0,0	0	0,0	2	100,0	0	0,0	2	100,0
ОСПТ (всего)	15	55,6	2	7,4	10	37,0	0	0,0	27	100,0
гранулезоклеточная	10	52,6	2	10,5	7	36,8	0	0,0	19	100,0
текома злокачественная	5	83,8	0	0,0	1	16,7	0	0,0	6	100,0
андробластома	0	0,0	0	0,0	2	100,0	0	0,0	2	100,0
Герминогенные ЗОЯ	2	25,0	1	12,5	3	37,5	2	25,0	8	100,0
Всего	46		20		222		15		303	

дали пациентки с I стадией заболевания (15/55,6 %). IV стадия наблюдалась только у 13 (4,9 %) больных с эпителиальными и 2 (25,0 %) пациенток с герминогенными ЗОЯ.

Среди больных ЗОЯ у 177 (58,4 %) установлен рецидив заболевания. Частота

выявления рецидивов ЗОЯ в зависимости от возрастного периода женщин представлена в таблице 2.5. Наибольшее количество рецидивов наблюдалось у больных ЗОЯ постменопаузального периода (77/43,5 %), среди них преобладали пациентки поздней постменопаузы

Таблица 2.5

**Частота выявления рецидивов заболевания
в зависимости от возрастных периодов больных ЗОЯ (n=177)**

Возрастной период больных ЗОЯ	Рецидив заболевания	
	п	%
Репродуктивный	39	22,0
Перименопауза	61	34,5
Постменопауза	77	43,5
Ранняя	28	15,8
Поздняя	49	27,7
Всего	177	100,0

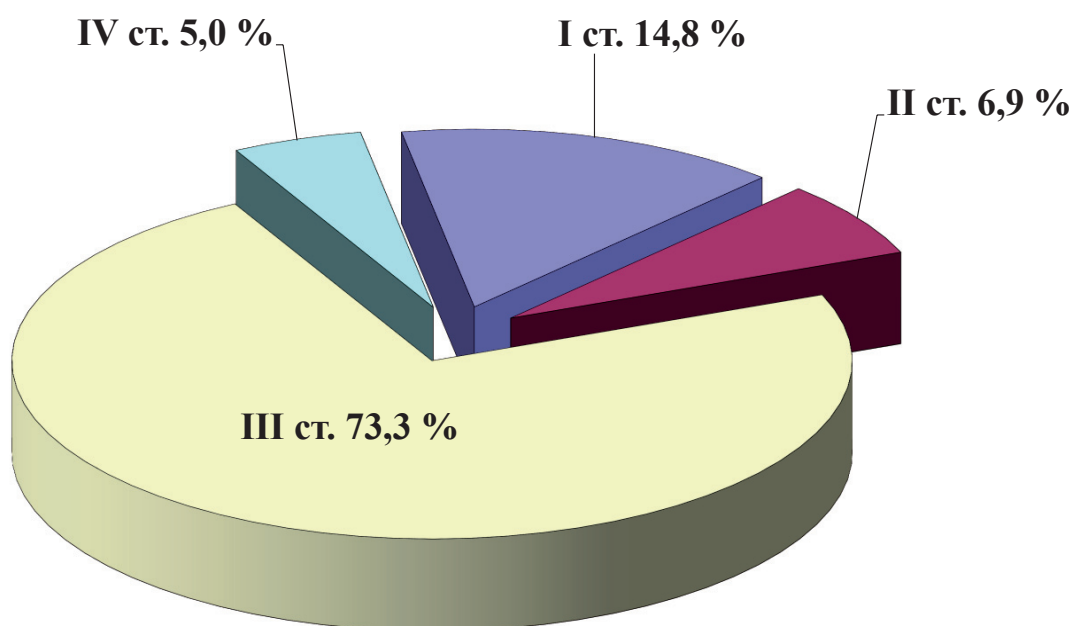


Рис. 2.3. Распределение больных в зависимости от стадии ЗОЯ

(49/27,7 %), на втором месте по частоте встречаемости были пациентки перименопаузального периода (61/34,5 %). Наименьшее количество рецидивов отмечено у больных репродуктивного возраста (39/22,0 %).

Анализируя результаты морфологического исследования операционного материала, мы выявили сопутствующие гиперпластические процессы эндометрия (ГПЭ) у 178 из 303 больных. Морфологическую структуру ГПЭ характеризовали, используя

Международную гистологическую классификацию ВОЗ (1994):

- простая неатипическая гиперплазия эндометрия;
- комплексная неатипическая гиперплазия эндометрия;
- простая атипическая гиперплазия эндометрия;
- комплексная атипическая гиперплазия эндометрия;
- аденокарцинома эндометрия.

Результаты этого исследования представлены в разделе 2.1.

Для статистической обработки полученных результатов использовано MS Excel 2010–2013.

Первичная обработка данных включала отбор, стандартизацию базы данных для проведения анализа, оценку однородности выборок, определения типа распределения.

Для статистического анализа цифровых данных использован пакет программы STATISTICA 6.0 for Windows, Stat Soft, Inc., USA. Применяли параметрические и непараметрические статистики, включая метод t-критерия Стьюдента и U-критерий Манна-Уитни. Достоверность межгрупповых различий проводили с помощью критерия χ^2 и Краскела-Уоллиса.

Корреляционную зависимость оценивали с помощью ранговых корреляций Гамма и парных корреляций Пирсона. Показатели выживаемости больных анализировали графически с использованием метода Каплана-Мейера, для парных сравнений применялся log-rank критерий, для множественных межгрупповых различий – критерий χ^2 .

Анализ прогностических факторов проводили с использованием Кокс-регрессионной модели и экспоненциальной регрессионной модели с помощью графика остатков. Статистически достоверными считали данные при $p < 0,05$.

РАЗДЕЛ 2.1

ГИПЕРПЛАСТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ЭНДОМЕТРИЯ КАК КРИТЕРИЙ НАРУШЕНИЯ ГОРМОНАЛЬНОГО ПРОФИЛЯ У БОЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ ЯИЧНИКА

Гиперпластические процессы эндометрия принадлежат к распространенной патологии, частота которой возрастает с нарушениями гормонального профиля у женщин в репродуктивном и перименопаузальном периодах. Цель данного исследования – изучить частоту сопутствующих гиперпластических процессов эндометрия у больных ЗОЯ и оценить их клиническое значение. Материалом исследования служил ретроспективный анализ историй болезни 303 больных ЗОЯ разного гистогенеза I–IV стадии. Нами учитывался комплекс клинических факторов: возраст больных, особенности менструальной и репродуктивной функции, гистологический тип ЗОЯ, степень их дифференциации, распространенность опухолевого процесса, наличие сопутствующих гиперпластических процессов эндометрия и их гистологический тип, рецидивы заболевания. Особое внимание уделили частоте выявления синхронного РЯ и рака эндометрия, метасинхронного РЯ и РГЖ у исследуемых больных.

2.1.1. Клиническая характеристика больных ЗОЯ в зависимости от наличия или отсутствия гиперпластических процессов эндометрия

По данным морфологического исследования операционного материала выявлены сопутствующие ГПЭ у 178 из 303 больных, что послужило основанием для разделения всех больных ЗОЯ на 2 группы: группа I – 178 (58,7 %) пациенток с сопутствующими ГПЭ, группа II – 125 (41,3 %) больных без ГПЭ.

Клиническая характеристика больных и гистологическая форма ЗОЯ

представлены в таблице 2.6. Согласно данным этой таблицы, в группе I отмечена тенденция к увеличению количества больных в репродуктивном, перименопаузальном периодах, тогда как во II группе – относительно количества пациенток в постменопаузе (особенно в позднем постменопаузальном периоде).

Данные о менструальном статусе больных были сопоставимыми и соответствовали физиологическим нормам, репродуктивный потенциал был низким в обеих группах, что не противоречит «овуляторной» гипотезе M.F. Fathalla [239].

Анализ распространения ЗОЯ показал, что у больных обеих групп преобладала III стадия опухолевого процесса, частота которой составила соответственно 68,5 и 80,0 % у больных с ГПЭ и без них. Ранние стадии заболевания отмечены в 2 раза чаще у больных I группы (с ГПЭ).

Морфологическое изучение опухолей выявило, что наиболее часто наблюдались опухоли эпителиального генеза – 268 (88,4 %) случаев, из них – 152 (85,4 %) у больных группы I и 116 (92,8 %) у пациенток группы II. Среди всех опухолей яичника преобладал серозный рак – 76,4 и 76,8 %, соответственно (см. табл. 2.6). Опухоли неэпителиального генеза (ОСПТ и герминогенные) в 2 раза чаще регистрировали у больных группы I (14,6 %), чем у пациенток группы II (7,2 %). Этот факт объясняется тем, что эти опухоли обладают высокой гормональной активностью и проявляются симптомами гиперэстрогении и/или гиперандрогении в виде различных ГПЭ и повышенного риска развития РГЖ [19, 20, 229].

Таблица 2.6

**Клиническая характеристика больных ЗОЯ I–IV стадии
с сопутствующими ГПЭ (I группа) и без них (II группа)**

Показатель	Группа I		Группа II	
	n	%	n	%
Количество больных (n=303)	178	100,0	125	100,0
Репродуктивный период	63	35,4	27	21,6
Перименопауза	54	30,3	32	25,6
Постменопауза	61	34,3	66	52,8
Ранняя постменопауза	16	9,0	29	23,2
Поздняя постменопауза	45	25,3	37	29,6
Менструальный статус (M±m / колебания)				
Менархе, годы	13,6±0,1 / 11-19		13,8±0,1 / 11-20	
Менструальный цикл, дни	27,9±0,1 / 18-36		28,1±0,1 / 20-30	
Длительность менструаций, дни	5,1±0,1 / 2-14		4,8±0,08 / 3-7	
Репродуктивный потенциал на 1 больную (M±m / колебания)				
Роды	1,4±0,07 / 0-5		1,6±0,1 / 0-6	
Аборты	1,5±0,15 / 0-10		1,6±0,2 / 0-8	
Выкидыши	0		0,1±0,1 / 0-4	
Гистологический диагноз				
Рак яичника (n=268)	152	85,4	116	92,8
серозный	136	76,4	96	76,8
муцинозный	11	6,2	14	11,2
недифференцированный	3	1,7	3	2,4
светлоклеточный	0	0,0	3	2,4
эндометриоидный	2	1,1	0	0,0
ОСПТ (n=27)	20	11,2	7	5,6
гранулезоклеточные	13	10,4	6	4,8
текома злокачественная	6	4,8	0	0,0
андробластома	1	0,1	1	0,8
Герминогенные ЗОЯ (n=8)	6	3,4	2	1,6
Стадия заболевания				
I	35	19,6	10	8,0
II	14	7,9	7	5,6
III	122	68,5	100	80,0
IV	7	3,9	8	6,4
Рецидивы, n=177/100 %				
Репродуктивный период	14	7,9	25	14,1
Перименопауза	27	15,3	34	19,2
Постменопауза	32	18,1	45	25,4
Ранняя постменопауза	11	6,2	17	9,6
Поздняя постменопауза	21	11,9	28	15,8
Всего (n=177)	73	41,2	104	58,8

ОСПТ наблюдали во всех возрастных периодах с пиком заболеваемости в постменопаузе, герминогенные опухоли были диагностированы у девочек и женщин молодого возраста.

Общее число рецидивов у больных двух групп составило 177 (58,4 %), из которых 73 (41,2 %) были у женщин с ГПЭ, а 104 (58,8 %) – у пациенток без них, что свидетельствует о большей (на 17,6 %) частоте рецидивирования ЗОЯ у женщин без гиперпластических изменений слизистой матки.

Интерес представили результаты анализа частоты рецидивов у больных ЗОЯ разного генеза. В обеих группах пациенток наибольшее количество рецидивов болезни отмечено в перименопаузальном (15,3 и 19,2 %, соответственно) и постменопаузальном периоде (18,1 и 25,4 %, соответственно), особенно в поздней постменопаузе (11,9 и 15,8 %, соответственно). Частота рецидивов в репродуктивном периоде была наименьшей: в группе I – 7,9 %, в группе II – 14,1 % (см. табл. 2.6). Эти данные позволяют заключить, что в перименопаузе и постменопаузе ЗОЯ имеют агрессивное и неблагоприятное клиническое течение, что может быть связано с нарушением гормонального профиля у женщин этих возрастных периодов.

По результатам морфологического исследования операционного материала 303 больных ЗОЯ у 178 (58,8 %) выявлены различные гиперпластические процессы матки. Эту группу составили 154 (50,8 %) больных с ГПЭ, 10 (3,3 %) – раком эндометрия и 14 (4,6 %) пациенток, которые ранее были прооперированы по поводу миомы матки, как известно эта доброкачественная опухоль в 90 % случаев сочетается с различными ГПЭ [27]. Сопутствующие гиперпластические процессы матки у больных ЗОЯ диагностиро-

ваны во всех возрастных периодах с одинаковой частотой: в репродуктивном – 35,4 %, перименопаузальном и постменопаузальном – 30,3 и 34,3 %, соответственно (рис. 2.4).

Эти данные указывают на определенное значение общих патогенетических механизмов развития гиперпластических процессов матки и ЗОЯ независимо от возраста женщин.

При анализе морфологической структуры ГПЭ у больных ЗОЯ (n=154) отмечено (табл. 2.7), что комплексная неатипическая гиперплазия эндометрия (КНАГЭ), которая по данным литературы и клинических наблюдений является результатом хронической абсолютной или относительной гиперэстрогемии и/или гиперэстрогении, диагностирована у 65,0 % больных. Именно с этим фактором в лечении данных видов ГПЭ с успехом применяется гормональная терапия [51, 57, 131, 133, 134]. На втором месте по частоте отмечена простая неатипическая гиперплазия эндометрия (17,5 %), которая является результатом кратковременной гиперэстрогемии.

Известно, что полипы эндометрия (железисто-кистозные, железисто-фиброзные и атипические), которые выявлены у 22 (14,3 %) пациенток, являются результатом хронического продуктивного воспаления эндометрия, в ходе которого противовоспалительные цитокины и факторы роста (EGFR, IGF I, фактор некроза опухоли α), являясь паракринными медиаторами, опосредуют влияние эстрогенов на рецепторы клеток эндометрия, усиливая при этом дисбаланс между пролиферацией и апоптозом [57, 62, 132].

У 8 (5,2 %) из 154 больных группы I диагностированы атипическая гиперплазия и атипические полипы эндометрия, которые по данным литературы

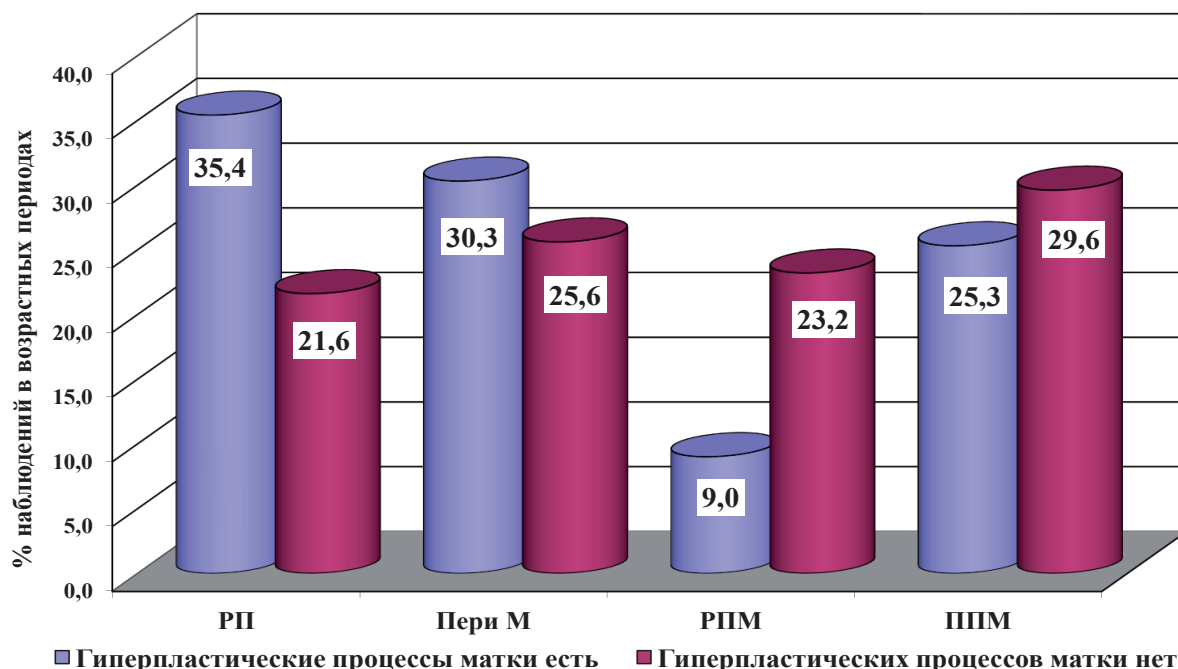


Рис. 2.4. Распределение больных ЗОЯ с сопутствующими гиперпластическими процессами матки в зависимости от возрастного периода

Примечания:

РП – репродуктивный период;

ПериМ – перименопауза;

РПМ – ранняя постменопауза;

ППМ – поздняя постменопауза.

Таблица 2.7

Характеристика ГПЭ у больных ЗОЯ разного гистогенеза (n=154)

Гиперпластические процессы эндометрия	Количество больных	
	п	%
Простая неатипическая гиперплазия	27	17,5
Комплексная неатипическая гиперплазия	100	65,0
Простая атипическая гиперплазия	1	0,7
Комплексная атипическая гиперплазия	4	2,6
Полипы железисто-кистозные, железисто-фиброзные	19	12,3
Полипы атипические	3	1,9
Всего	154	100,0

в 30–50 % случаев, независимо от возраста женщин, являются результатом микросателлитной нестабильности, способствующей прогрессии атипических изменений в эндометриоидную карциному, при этом такие изменения эндометрия

в основном не являются гормонозависимыми [57, 165].

Следует отметить, что у 10 (5,6 %) больных группы I установлен РЯ и синхронный рак эндометрия, что может свидетельствовать о сходстве их пато-

генеза как гормонозависимых опухолей. Средний возраст больных составил $54,7 \pm 0,9$ года, показатели менархе, менструального цикла и длительности менструаций соответствовали физиологическим нормам, средний показатель родов – 1,7, аборт – 1,1. Средний возраст пациенток с физиологической менопаузой составил $49,6 \pm 1,2$ лет, хирургической – $44,8 \pm 1,4$ года. РЯ имел гистологическое строение серозного рака, рак эндометрия – аденокарциномы эндометрия разной степени дифференциации. У 6 больных рак эндометрия развился на фоне КНАГЭ, у 1 пациентки – в полипе эндометрия, у 5 – диагностирована лейомиома матки, что также свидетельствует о наличии общих гормональных нарушений у больных РЯ и раком эндометрия.

Кроме того, у 7 (2,3 %) из 303 пациенток выявлен метакронный РЯ и РГЖ, средний возраст этих больных составил $53,9 \pm 1,1$ года. Менструальный статус пациенток был без особенностей. Средний показатель родов – 1,4, аборт – 1,3. Средний возраст физиологической менопаузы – $52,7 \pm 1,3$ года, хирургической – $43,3 \pm 2,3$ года. У этих больных диагностирован низкодифференцированный серозный РЯ. Морфологическая структура РГЖ была вариабельной: инфильтративный дольковый рак ($n=3$), инфильтративный протоковый рак ($n=2$), низкодифференцированный скirroзный рак ($n=2$). Представленные результаты также свидетельствуют об общих факторах риска и одинаковых патогенетических механизмах развития РЯ и РГЖ.

Распределение больных в зависимости от гистогенеза ЗОЯ и морфологической структуры сопутствующих ГПЭ представлено в таблице 2.8.

Из данных таблицы 2.8 следует, что среди больных ЗОЯ с сопутствующими ГПЭ, преобладали пациентки с КНАГЭ

(100/65,0 %), что было отмечено нами выше; из них преобладали больные серозным РЯ (81/52,6 %) и с ОСПТ (12/7,9 %). При этом среди пациенток с серозным РЯ сопутствующая КНАГЭ наблюдалась в 69,2 % случаев (рис. 2.5–2.8), а среди больных с ОСПТ – в 66,7 %. Кроме того, КНАГЭ диагностирована у всех пациенток с недифференцированным РЯ (3/100 %) и у 37,5 % больных муцинозным РЯ. Простая комплексная неатипическая гиперплазия эндометрия отмечена почти у всех больных ЗОЯ: 12,0 % пациенток с серозным РЯ; 37,5 % – с муцинозным РЯ; 50,0 % – с эндометриоидным РЯ; 22,2 % – с ОСПТ; 83,3 % – с герминогенными ЗОЯ. Эти данные убедительно свидетельствуют о наличии общих гормональных нарушений при неатипических гиперплазиях эндометрия и ЗОЯ независимо от гистологического генеза последних.

Учитывая тот факт, что только КНАГЭ является отражением хронической гиперэстрогении в организме женщин, дальнейший анализ проведен для пациенток ЗОЯ с сопутствующей КНАГЭ. Распределение этих больных в зависимости от возрастного периода представлено в таблице 2.9, из которой следует, что количество пациенток с сопутствующей КНАГЭ в репродуктивном, перименопаузальном и постменопаузальном периодах было сопоставимым – 33,0 %, 36,0 и 31,0 %, соответственно. Представленные данные также подтверждают общие факторы риска и патогенетические механизмы развития ЗОЯ и КНАГЭ независимо от возрастного периода женщин.

Далее мы оценили и сравнили общую выживаемость пациенток с наличием КНАГЭ (группа I) и отсутствием ГПЭ (группа II) независимо от генеза опухолей (рис. 2.9). Как свидетельствуют данные рисунка 2.9, выживаемость боль-

Таблица 2.8

**Частота и морфологические особенности сопутствующих ГПЭ
в зависимости от гистогенеза ЗОЯ (n=154)**

ЗОЯ, n=154	Морфологические особенности сопутствующих гиперпластических процессов эндометрия (n=154)											
	ПНАГЭ		КНАГЭ		ПАГЭ		КАГЭ		П ЖК и ЖФ		ПА	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Серозный рак, n=117	14	9,1	81	52,6	1	0,7	4	2,6	14	12,3	3	1,9
Муцинозный рак, n=8	3	1,9	3	1,9	0	0,0	0	0,0	2	1,1	0	0,0
Недифференциро- ванный рак, n=3	0	0,0	3	1,9	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Эндометриоидный рак, n=2	1	0,7	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,6	0	0,0
ОСПТ, n=18	4	2,6	12	7,9	0	0,0	0	0,0	2	1,1	0	0,0
Герминогенные ЗОЯ, n=6	5	3,2	1	0,7	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Всего, n=154/100 %	27	17,5	100	65,0	1	0,7	4	2,6	19	12,3	3	1,9
Серозный рак, n=117/100 %	14	12,0	81	69,2	1	0,9	4	3,4	14	12,0	3	2,5
Муцинозный рак, n=8/100 %	3	37,5	3	37,5	0	0,0	0	0,0	2	25,0	0	0,0
Недифференциро- ванный рак, n=3/100 %	0	0,0	3	100	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Эндометриоидный рак, n=2/100 %	1	50,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	50,0	0	0,0
ОСПТ, n=18/100 %	4	22,2	12	66,7	0	0,0	0	0,0	2	11,1	0	0,0
Герминогенные ЗОЯ, n=6/100 %	5	83,3	1	16,7	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Всего, n=154/100 %	27	17,5	100	65,0	1	0,7	4	2,6	19	12,3	3	1,9

Примечания:

ПНАГЭ – простая неатипическая гиперплазия эндометрия; КНАГЭ – комплексная неатипическая гиперплазия эндометрия; ПАГЭ – простая атипическая гиперплазия эндометрия; КАГЭ – комплексная атипическая гиперплазия эндометрия; П ЖК и ЖФ – полипы железисто-кистозные и железисто-фиброзные; ПА – полипы атипические.

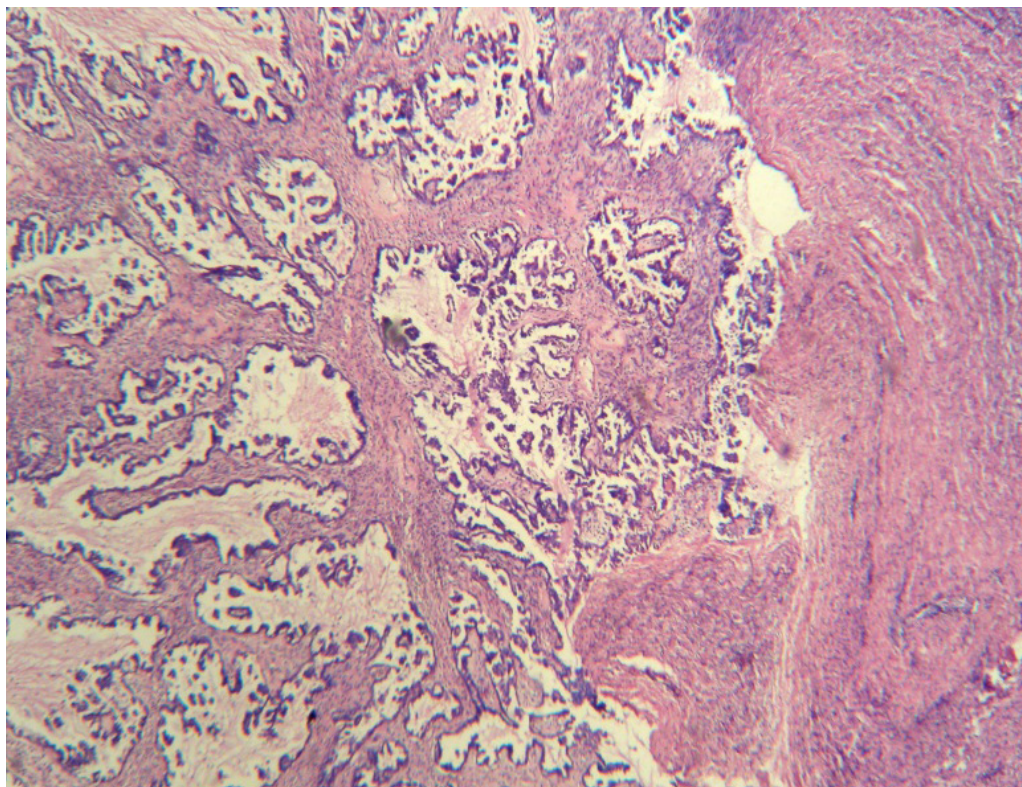


Рис. 2.5. Серозный РЯ. Н & Е, $\times 100$

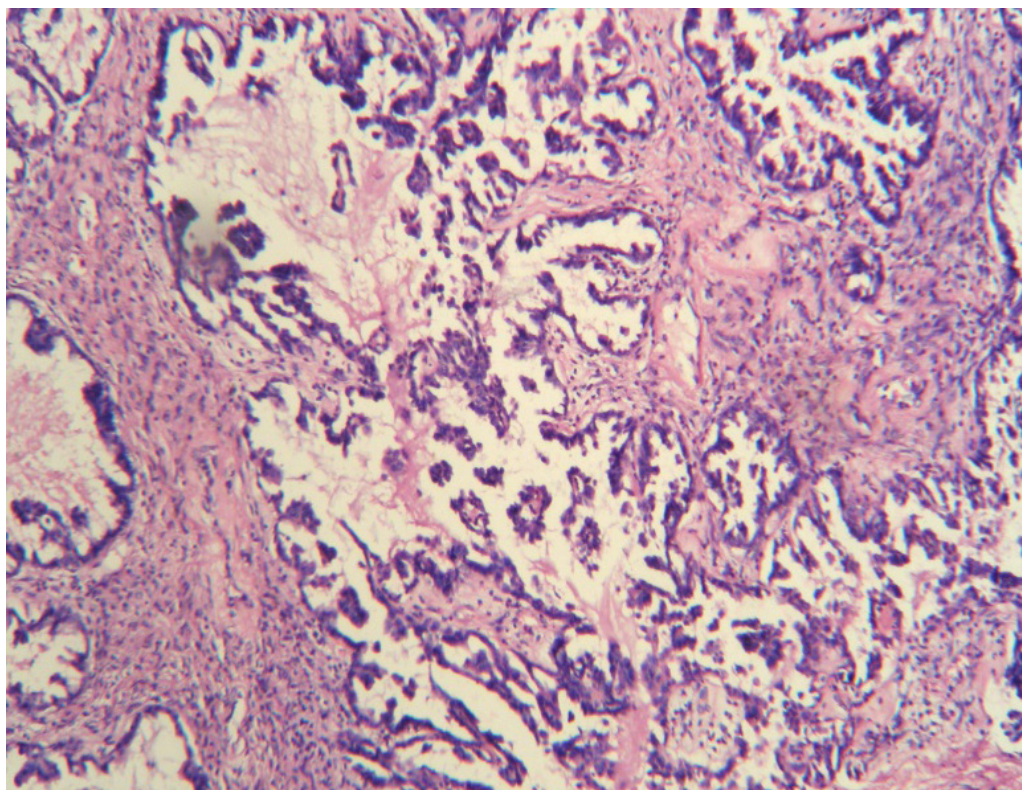


Рис. 2.6. Серозный РЯ. Н & Е, $\times 200$

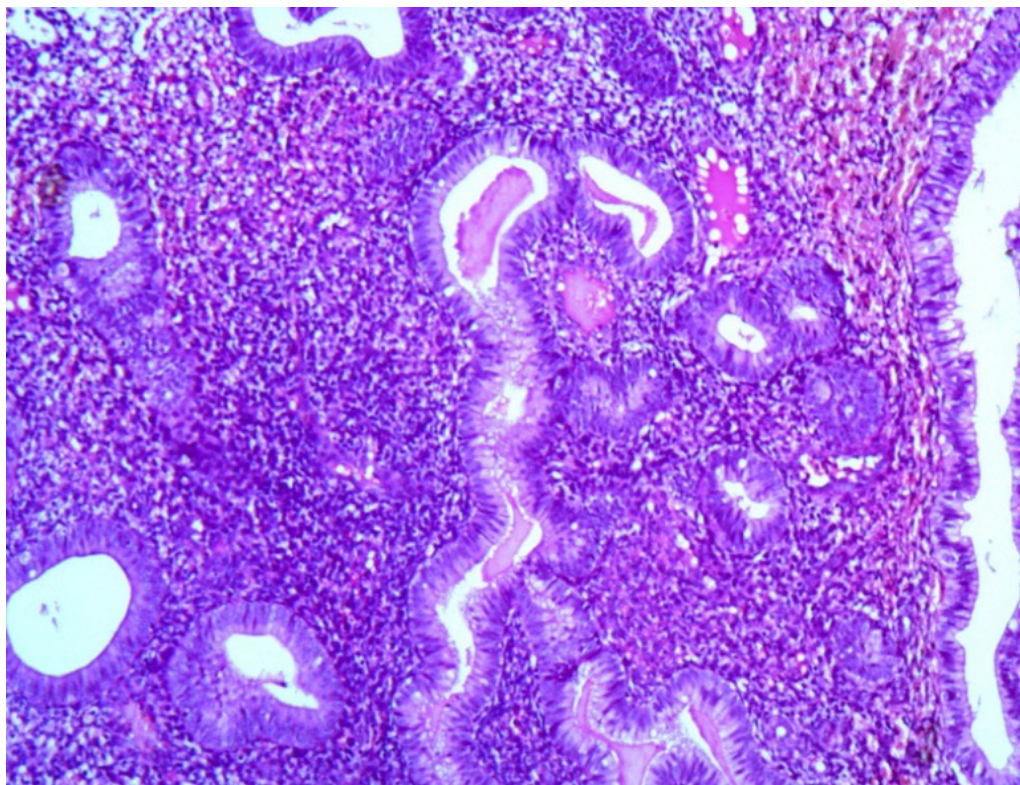


Рис. 2.7. КНАГЭ. Н & Е, $\times 100$

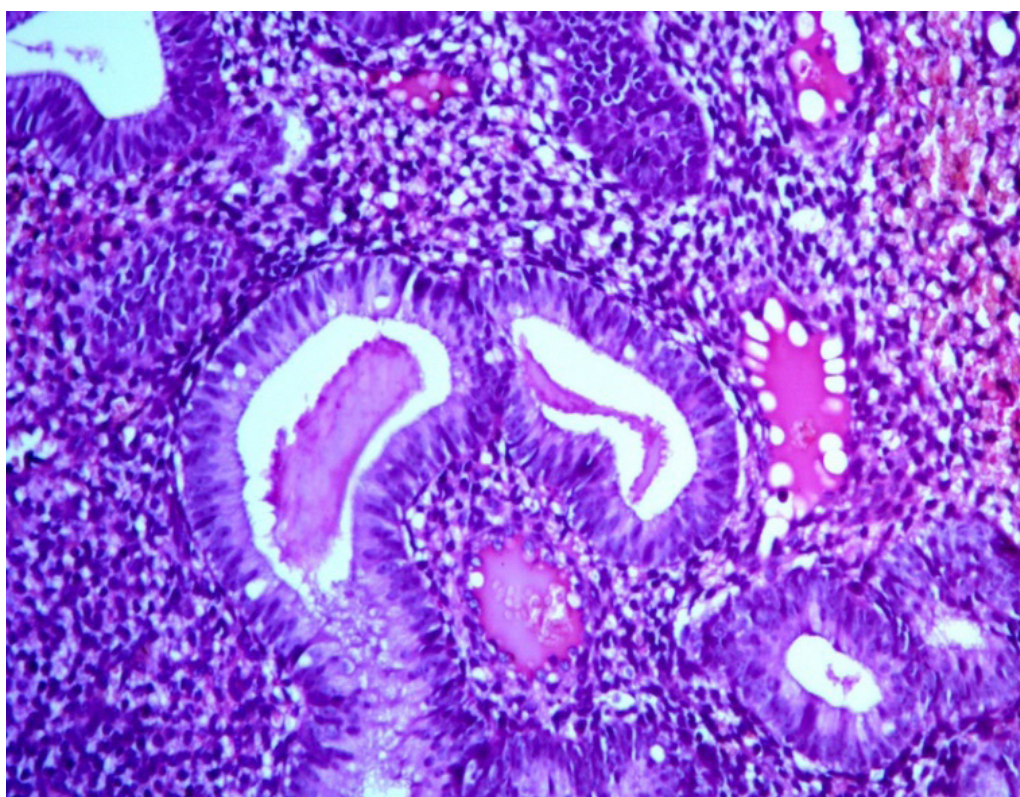


Рис. 2.8. КНАГЭ. Н & Е, $\times 200$

Таблица 2.9

**Распределение больных ЗОЯ с сопутствующей КНАГЭ
в зависимости от возрастного периода (n=100)**

Возрастной период больных ЗОЯ	Количество больных с КНАГЭ	
	n	%
Репродуктивный	33	33,0
Перименопаузальный	36	36,0
Постменопаузальный	31	31,0
Всего	100	100,0

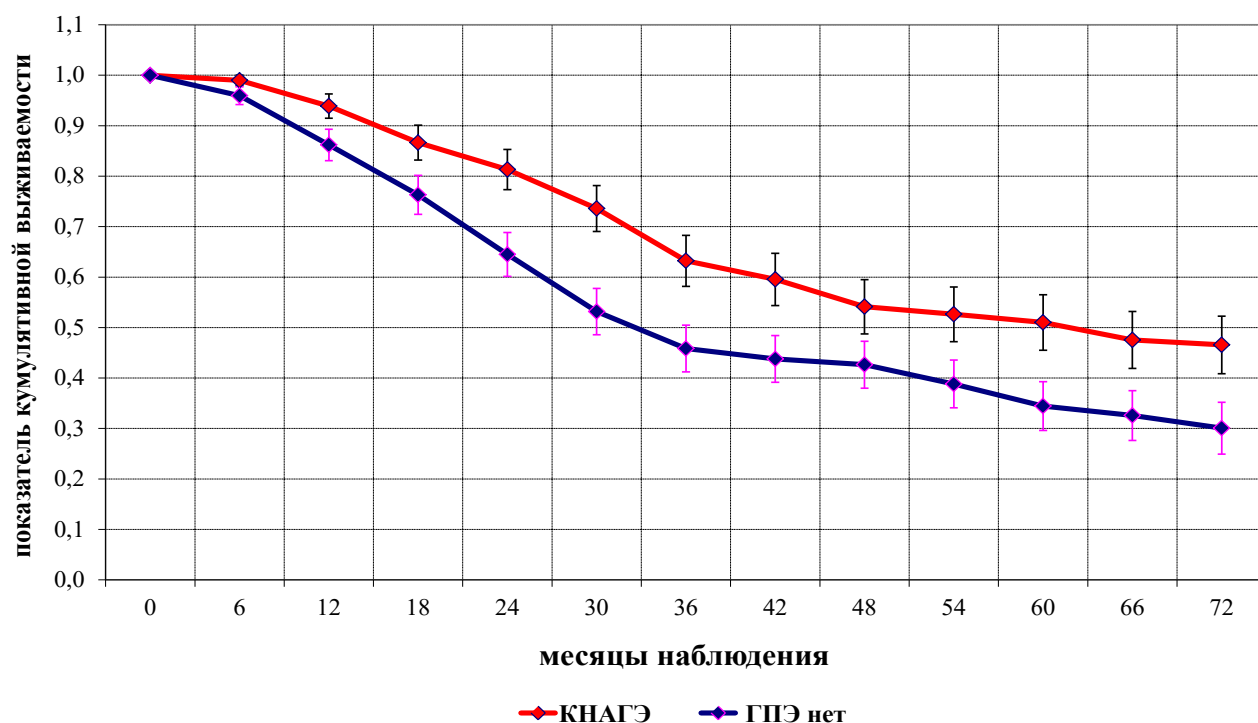


Рис. 2.9. Общая выживаемость больных ЗОЯ разного генеза с КНАГЭ и без ГПЭ.
Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p < 0,05$

ных ЗОЯ оказалась достоверно выше у женщин с КНАГЭ ($p < 0,05$). Медиана общей выживаемости пациенток, у которых диагностирована КНАГЭ, составила $63,0 \pm 3,1$ месяца, тогда как при отсутствии изменений в эндометрии она была достоверно ниже – $32,0 \pm 4,8$ месяца ($p < 0,05$).

2.1.2. Оценка распространенности опухолевого процесса и выживаемости больных РЯ в зависимости от наличия или отсутствия КНАГЭ/ГПЭ

Поскольку среди больных ЗОЯ наиболее многочисленную группу составили пациентки с РЯ ($n=268$), мы сочли целесообразным последующий анализ проводить для больных с КНАГЭ ($n=87$) и без морфологических изме-

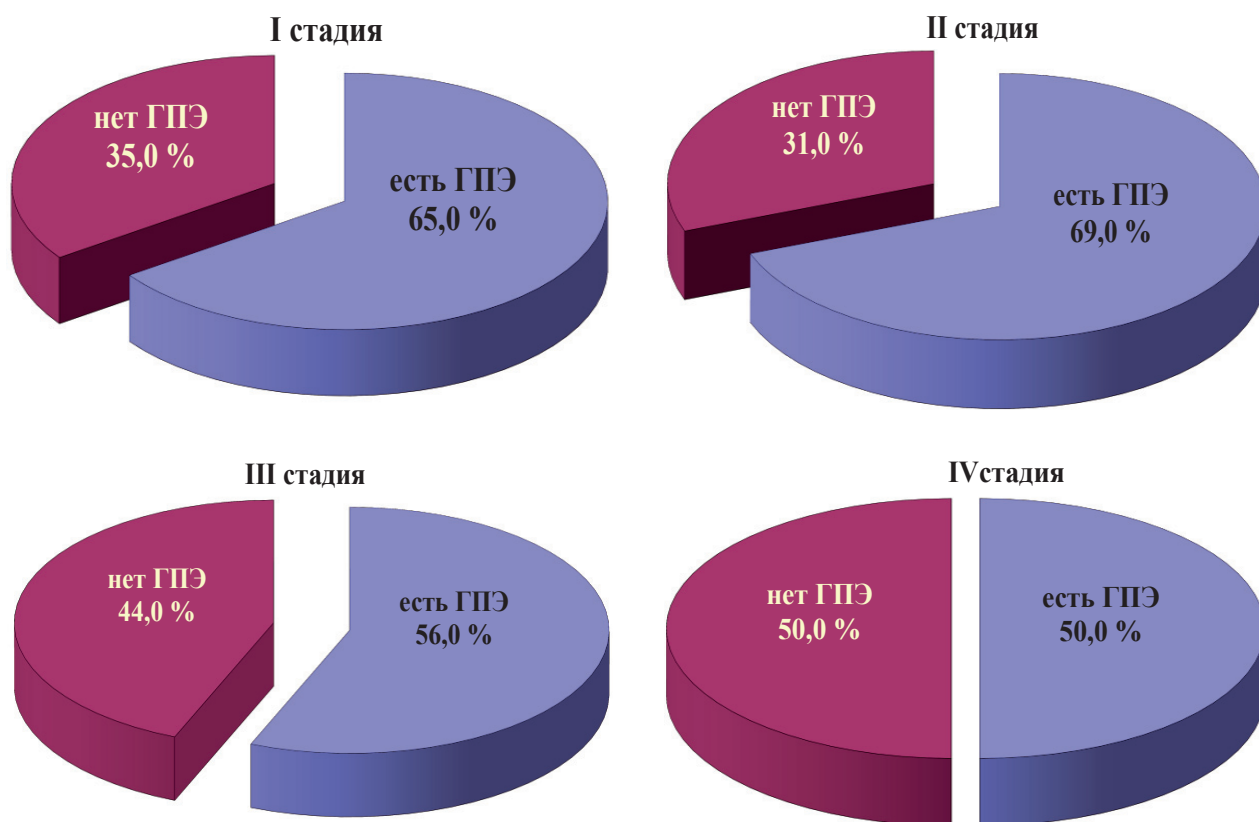


Рис. 2.10. Распределение больных РЯ (n=268) с/без сопутствующих ГПЭ в зависимости от распространенности опухолевого процесса (%)

нений эндометрия при эпителиальных ЗОЯ (n=116).

Распределение больных РЯ в зависимости от стадии опухолевого процесса и наличия/отсутствия ГПЭ представлено на рисунке 2.10, из которого видно, что наибольшее количество больных с ГПЭ отмечалось при I и II стадии (65,0 и 69,0 %, соответственно) по сравнению с таковыми при III и IV стадии заболевания (56,0 и 50,0 %, соответственно), однако различия между показателями статистически не достоверны ($p > 0,05$).

Анализируя общую и безрецидивную выживаемость больных РЯ в зависимости от наличия ли отсутствия КНАГЭ установлено, что оба показателя достоверно выше в группе пациенток с КНАГЭ. Так, 3- и 5-летняя общая выживаемость больных с КНАГЭ составила $63,2 \pm 4,2$ и $51,2 \pm 3,8$ %, тогда как у больных без ГПЭ она была меньшей

и составила $45,8 \pm 4,7$ и $33,5 \pm 3,1$ %, соответственно ($p = 0,021$). Подобная тенденция отмечена и при оценке 3- и 5-летней безрецидивной выживаемости больных сравнимых групп ($54,2 \pm 4,3$ и $35,2 \pm 3,4$ % против $49,7 \pm 4,7$ и $27,5 \pm 3,1$ %, соответственно, $p = 0,024$). Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру представлены на рисунках 2.11–2.12.

Проведен анализ общей и безрецидивной выживаемости больных РЯ с КНАГЭ в зависимости от возрастного периода. Показатели общей и безрецидивной выживаемости больных РЯ с КНАГЭ и без ГПЭ в зависимости от возрастных периодов представлены в таблице 2.10; кривые Каплана-Мейера – на рисунках 2.13–2.18.

Самые низкие показатели общей и безрецидивной выживаемости заре-

Таблица 2.10

**Показатели общей и безрецидивной выживаемости больных РЯ
с КНАГЭ и без ГПЭ в зависимости от возрастного периода**

Возрастной период	Общая выживаемость, %				Медиана безрецидивной выживаемости, мес.	
	РЯ с КНАГЭ		РЯ без ГПЭ		РЯ с КНАГЭ	РЯ без ГПЭ
	3-летняя	5-летняя	3-летняя	5-летняя		
Репродуктивный	74,5±4,6	49,0±4,9	64,5±5,1	45,0±3,7	62,5*±4,8	33,0*±3,1
Перименопаузальный	53,5*±4,2	39,0*±3,7	39,8*±3,4	18,5*±3,2	30,0*±4,6	15,8*±2,9
Постменопаузальный	65,0*±5,7	50,0*±4,2	41,0*±3,8	30,5*±3,6	50,0*±3,5	27,0*±3,2

Примечание. * $p < 0,05$ различия показателей выживаемости больных

гистрированы у больных РЯ перименопаузального периода, особенно при отсутствии морфологических изменений эндометрия (см. рис. 2.13–2.18, табл. 2.10). При этом наибольшее количество рецидивов у пациенток с КНАГЭ также отмечено в этом возрастном периоде, что свидетельствует об агрессивном течении заболевания у больных РЯ перименопаузального возраста (рис. 2.19). Представленные данные позволяют предположить определенную связь закономерного гормонального дисбаланса у женщин в период перименопаузы с клиническим течением заболевания.

Из данных таблицы 2.10 следует, что независимо от возрастного периода пациенток, показатели 3- и 5-летней выживаемости больных с КНАГЭ были выше, чем у пациенток без ГПЭ. Однако в подгруппе больных репродуктивного периода различия показателей 3- и 5-летней выживаемости оказались статистически недостоверными (с КНАГЭ – 74,5/49,0 % и без ГПЭ – 64,5/45,0 %, $p=0,52$). При этом результаты 3- и 5-летней общей выживаемости больных РЯ с КНАГЭ перименопаузального и постменопаузального периодов были достоверно выше, чем у женщин без ГПЭ ($p < 0,05$ для всех вариантов сравнения).

Следует отметить, что медиана безрецидивной выживаемости у больных РЯ с КНАГЭ в репродуктивном, перименопаузальном и постменопаузальном возрасте была достоверно выше, чем у пациенток без ГПЭ (62,6, 30,0 и 50,0 месяцев против 33,0, 15,8 и 27,0 месяцев, соответственно, $p < 0,05$).

Таким образом, сопутствующая КНАГЭ имеет клиническое значение у больных РЯ преимущественно перименопаузального и постменопаузального возраста и может рассматриваться как предиктивный фактор более благоприятного течения опухолевого процесса.

Полученные результаты подтверждают наличие общих факторов риска и гормональных механизмов патогенеза опухолевых процессов яичника и ГПЭ, последние, в свою очередь, могут быть фактором риска развития ЗОЯ.

Представленные данные продемонстрировали, что гормональные изменения в организме, проявляющиеся ГПЭ, у больных РЯ могут быть важным прогностическим критерием течения заболевания. При этом эндокринные факторы, являясь весомым элементом патогенеза заболеваний яичников и тела матки, представляют собой часть общего механизма сложных взаимодействий молекулярно-

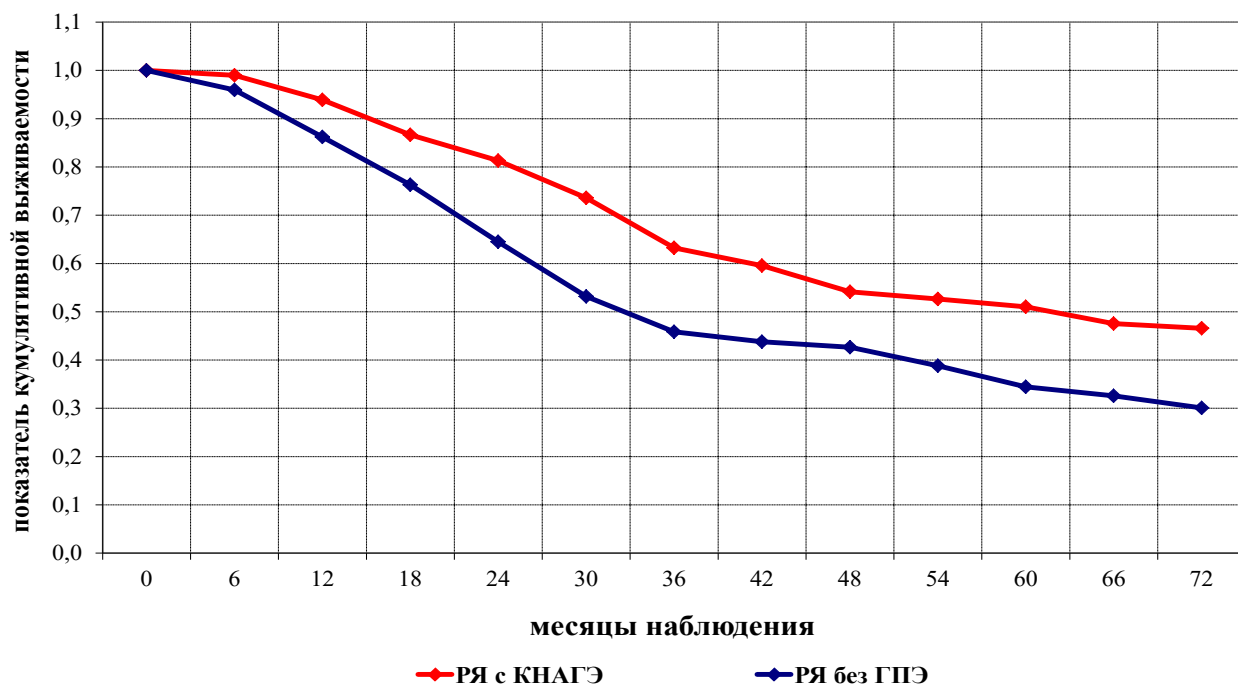


Рис. 2.11. Общая выживаемость больных РЯ с КНАГЭ и при отсутствии ГПЭ.
Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,021$

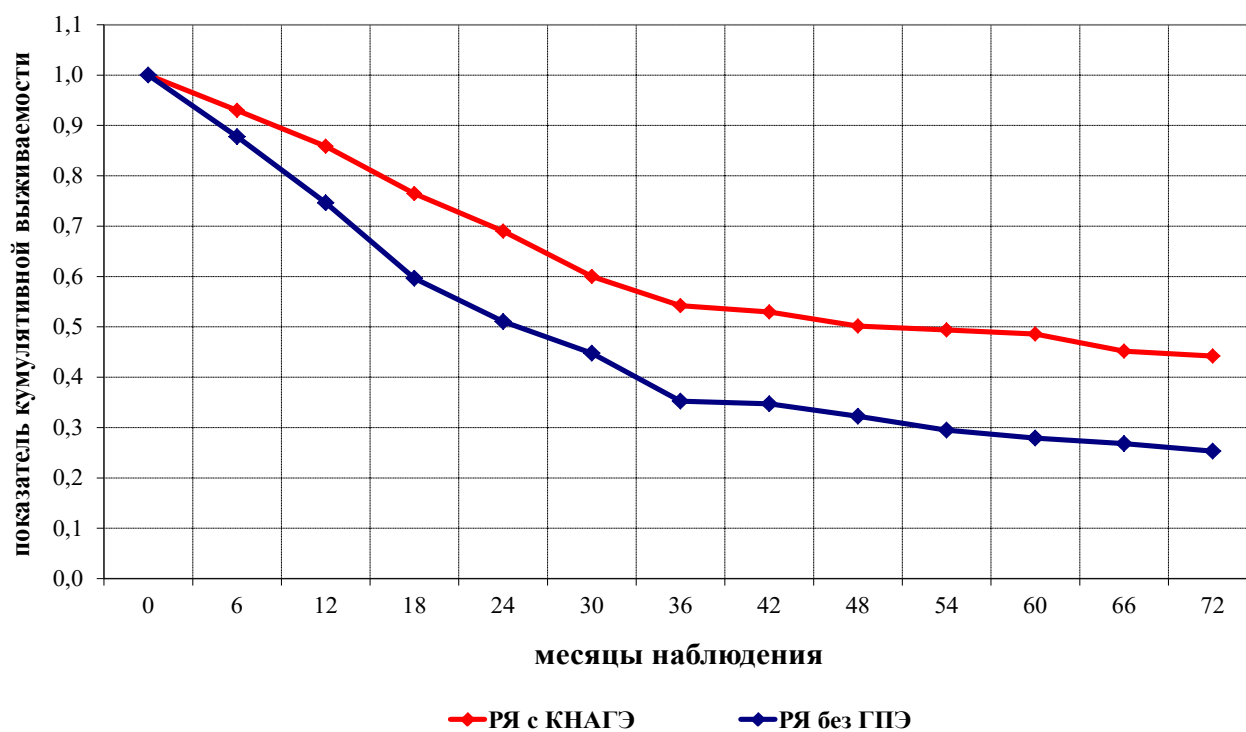


Рис. 2.12. Безрецидивная выживаемость больных РЯ с КНАГЭ и при отсутствии ГПЭ.
Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,024$

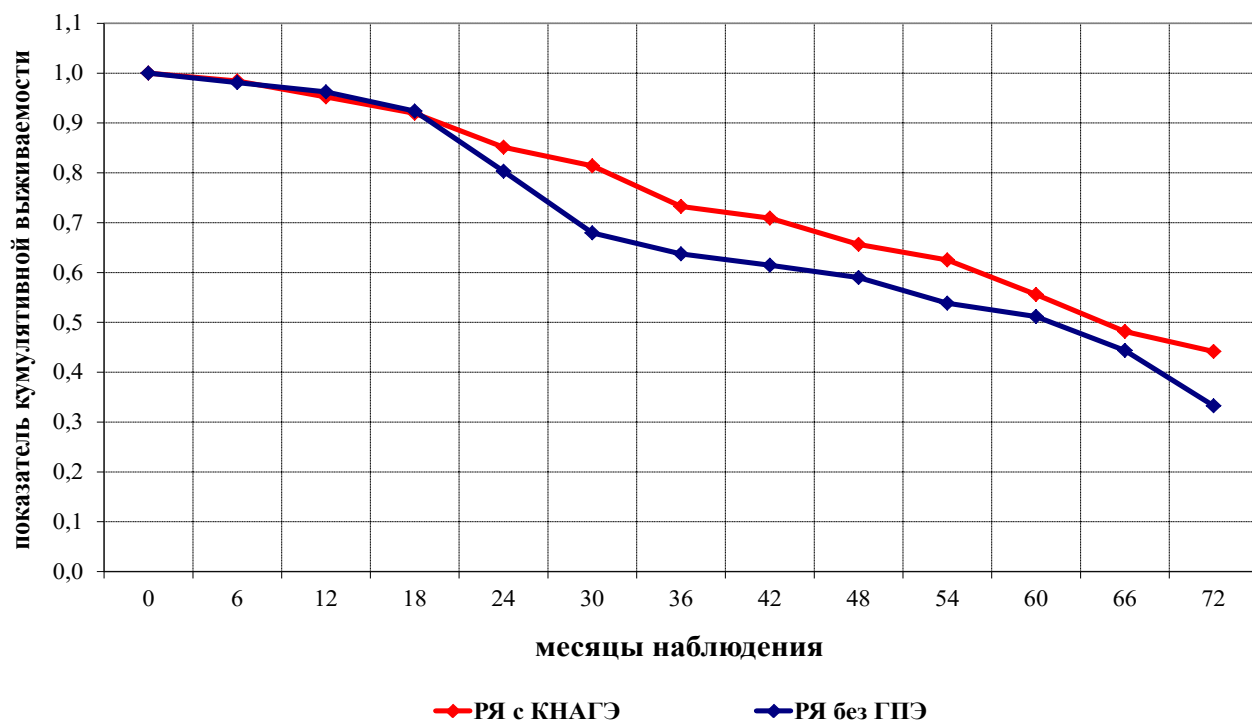


Рис. 2.13. Общая выживаемость больных РЯ репродуктивного возраста с КНАГЭ и при отсутствии ГПЭ. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,52$

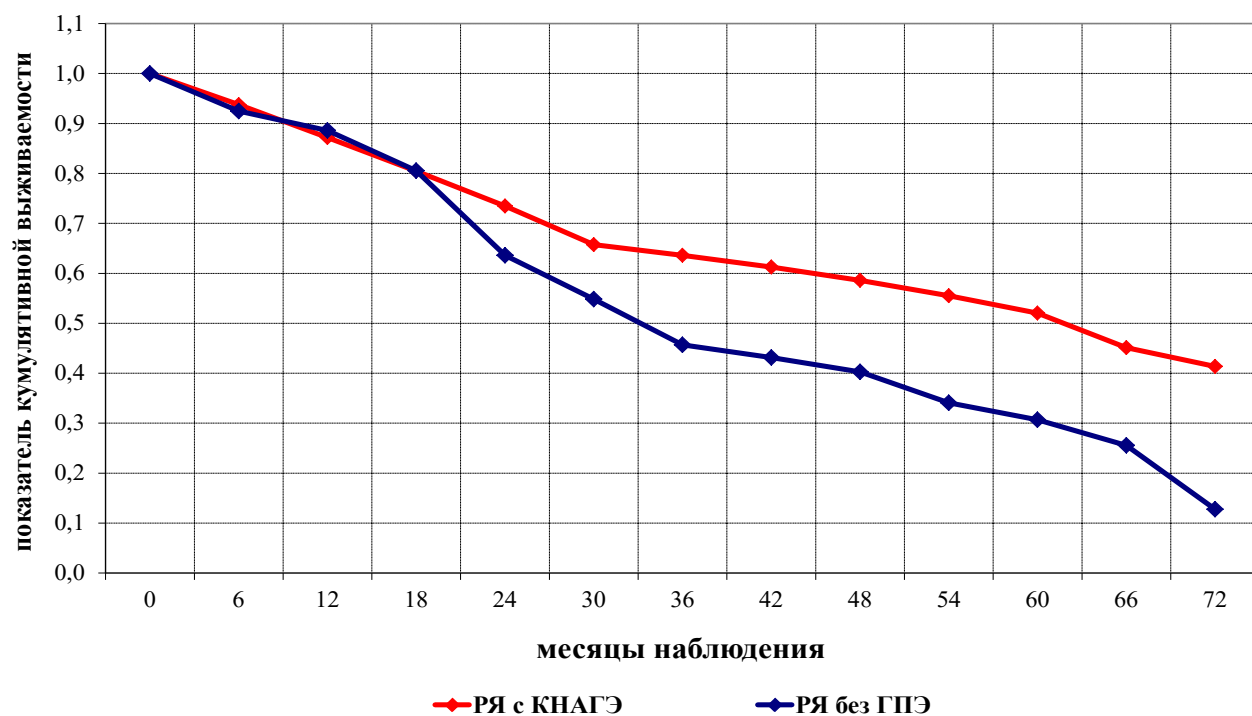


Рис. 2.14. Безрецидивная выживаемость больных РЯ репродуктивного возраста с КНАГЭ и при отсутствии ГПЭ. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p<0,05$

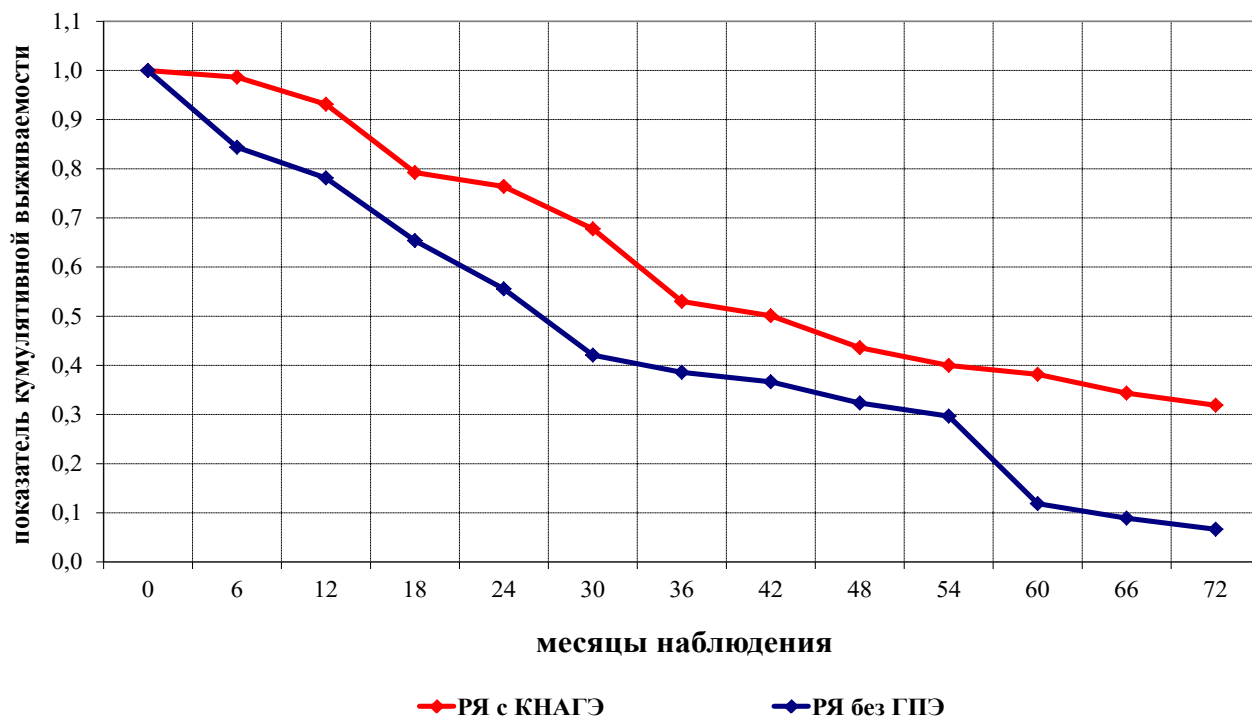


Рис. 2.15. Общая выживаемость больных РЯ перименопаузального периода с КНАГЭ и при отсутствии ГПЭ. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p < 0,05$

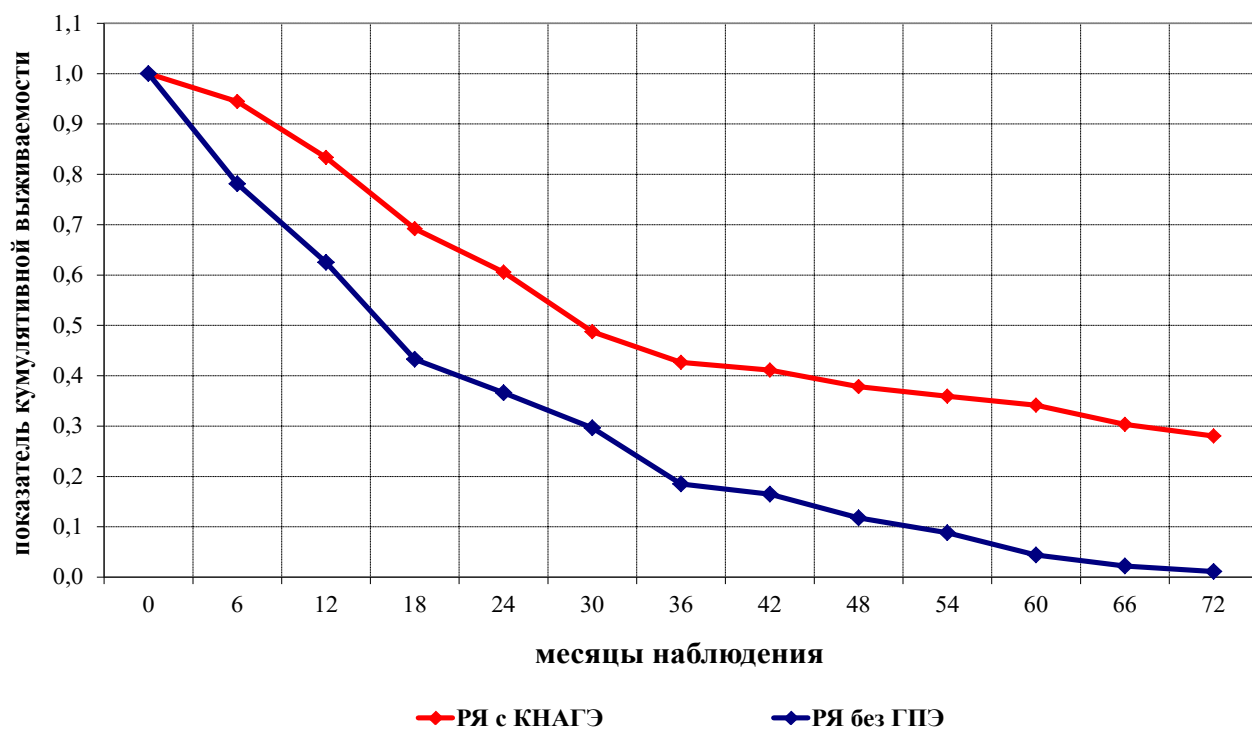


Рис. 2.16. Безрецидивная выживаемость больных РЯ перименопаузального периода с КНАГЭ и при отсутствии ГПЭ. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p = 0,03$

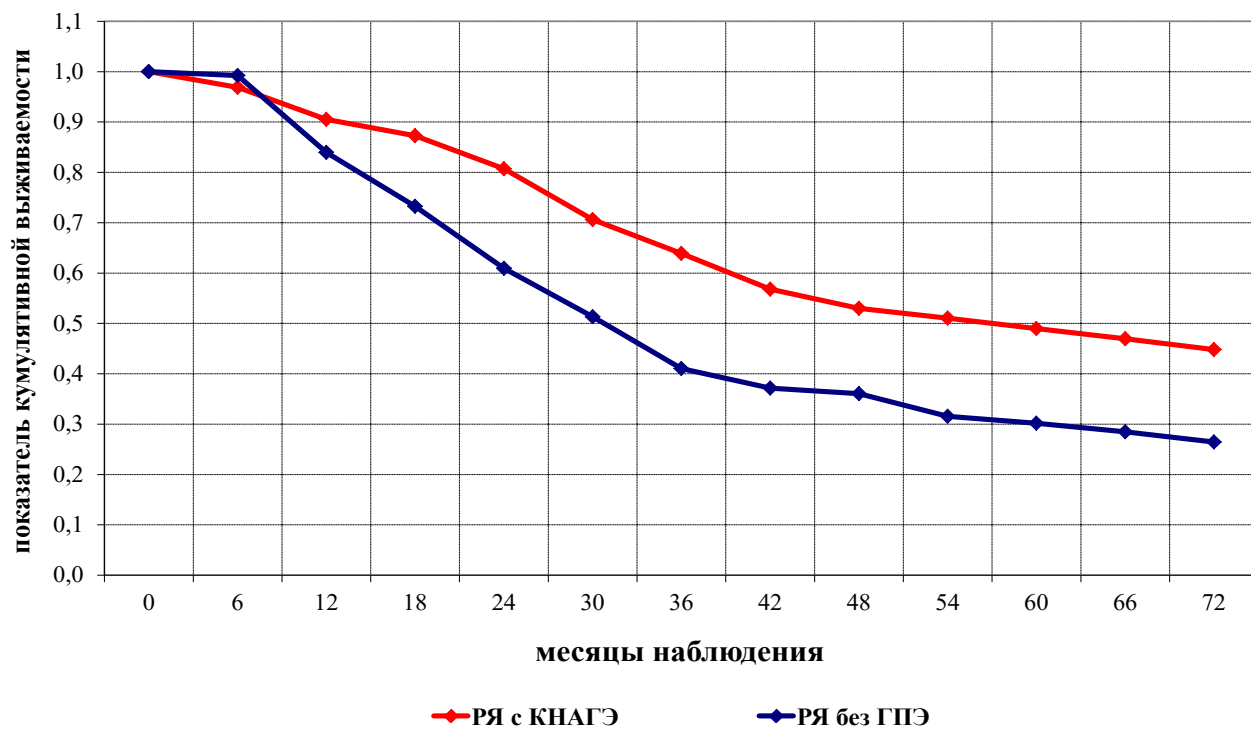


Рис. 2.17. Общая выживаемость больных РЯ постменопаузального периода с КНАГЭ и при отсутствии ГПЭ. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p < 0,05$

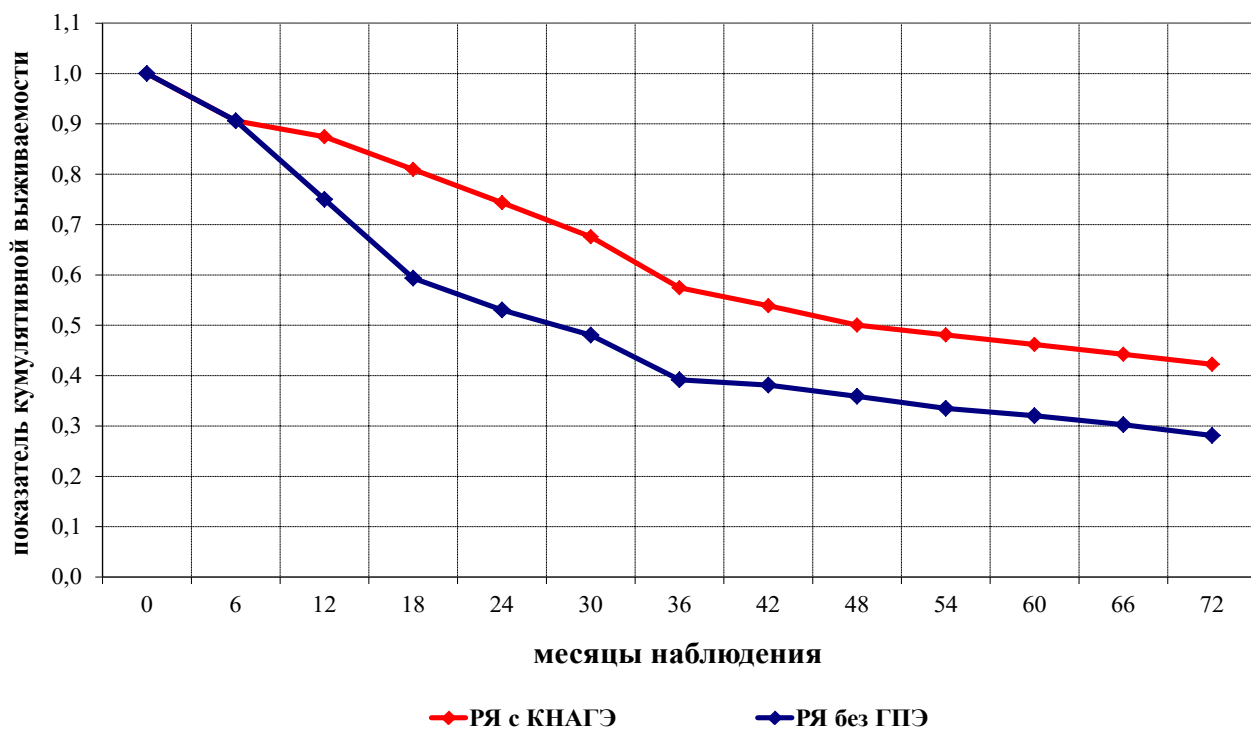


Рис. 2.18. Безрецидивная выживаемость больных РЯ постменопаузального периода с КНАГЭ и при отсутствии ГПЭ. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p < 0,05$

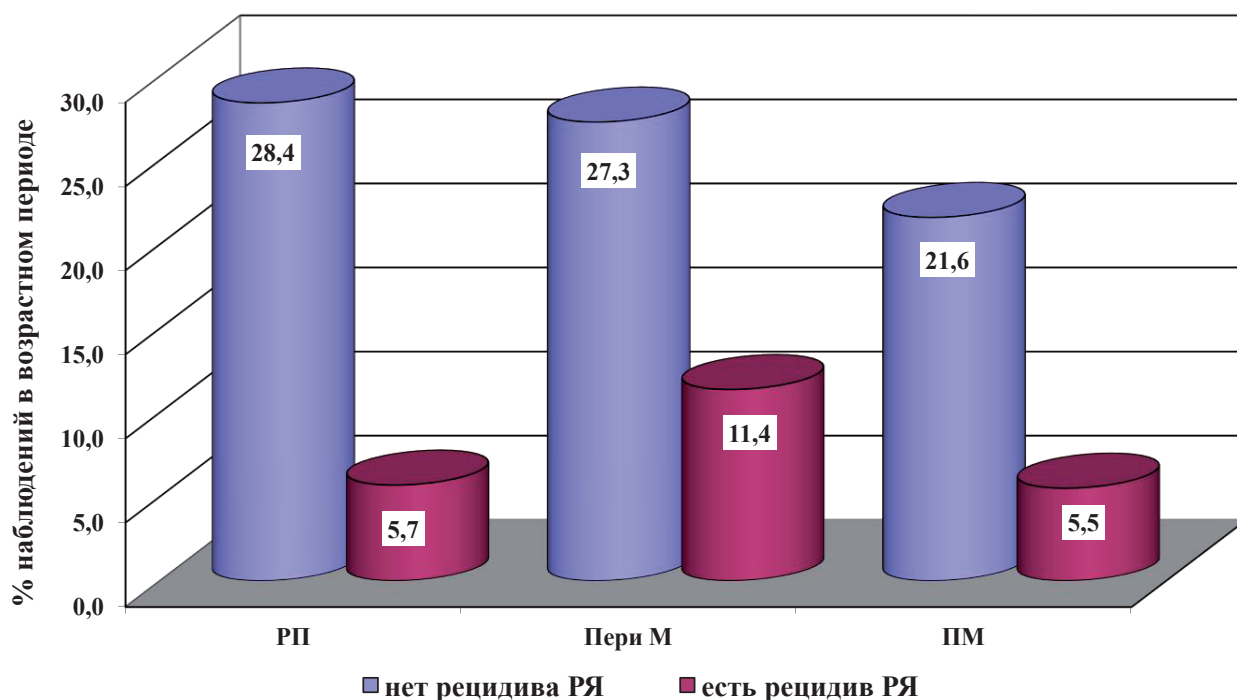


Рис. 2.19. Распределение больных РЯ с КНАГЭ по возрастным периодам в зависимости от наличия или отсутствия рецидива заболевания

Примечания:

РП – репродуктивный период;

ПериМ – перименопауза;

ПМ – постменопауза.

генетических, иммунных, а также гормонально-рецепторных изменений в органах-мишенях. Это диктует необходимость проведения дальнейших исследований в этом направлении, включая изучение гормонально-рецепторного статуса злокачественных опухолей яичника, а также механизмов взаимодействия половых стероидных гормонов с рецепторами опухолевых клеток.

РЕЗЮМЕ

Сопутствующие ГПЭ наблюдались у 58,7 % больных ЗОЯ, из них – у 85,4 % больных РЯ, у 74,1 % женщин с опухолью стромы полового тяжа. Комплексная неатипическая гиперплазия эндометрия, которая является результатом хронических дисгормональных нарушений, выявлена у 65,0 % пациенток со злокаче-

ственными опухолями яичника, у 69,2 % больных серозным РЯ и 66,7 % пациенток с опухолью стромы полового тяжа.

ГПЭ наблюдались во всех возрастных периодах больных злокачественными опухолями яичника и РЯ с одинаковой частотой в репродуктивном, перименопаузальном и постменопаузальном периодах (33,0 %, 36,0 и 31,0 %, соответственно). Полученные результаты убедительно свидетельствуют о наличии общих факторов риска и механизмов гормонального патогенеза опухолевых процессов яичника и ГПЭ независимо от возрастного периода женщин, более того ГПЭ могут быть фактором риска развития ЗОЯ, что аргументирует гормонообусловленность и потенциальную гормонозависимость злокачественных опухолей яичника.

У больных РЯ с КНАГЭ отмечены достоверно более высокие показатели общей и безрецидивной выживаемости в перименопаузальном и постменопаузальном возрасте по сравнению с пациентками соответствующих возрастных

периодов без ГПЭ, что позволяет рассматривать сопутствующую КНАГЭ у больных РЯ этих возрастных периодов как предиктивный фактор более благоприятного течения опухолевого процесса.

РАЗДЕЛ 2.2

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ГОРМОНАЛЬНОГО РЕЦЕПТОРНОГО СТАТУСА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ЯИЧНИКА

Цель данного исследования – изучить гормональный рецепторный статус ЗОЯ различного гистогенеза и установить связь между экспрессией рецепторов половых стероидных гормонов (РЭ, РП и РТ) в опухолевых клетках яичника и клинко-морфологическими показателями ЗОЯ; определить гормонально-рецепторный фенотип серозного РЯ, оценить его клиническое и прогностическое значение. Мы проанализировали истории болезни 284 больных ЗОЯ разного гистологического генеза, учитывая возраст женщин, морфологический тип опухолей, степень их дифференциации, распространенность опухолевого процесса, наличие сопутствующей КНАГЭ, проведение неоадьювантной химиотерапии, рецидивы заболевания. Проведено иммуногистохимическое исследование парафиновых блоков операционного материала 284 больных ЗОЯ I–IV стадии разного гистологического типа. Распределение пациенток по гистогенезу ЗОЯ представлено в таблице 2.11, из которой следует, что количество больных серозным РЯ было наибольшим и составило 81,7 %, количество пациенток с муцинозным РЯ и ОСПТ – значительно меньшим и составило соответственно 10,8 и 9,5 %.

Проведен анализ ГРС серозного, муцинозного РЯ и ОСПТ.

У всех больных ранее было получено информированное согласие на исследование их операционного материала с диагностической целью.

Иммуногистохимический анализ операционного материала больных ретроспективного исследования проведен совместно с заведующей лабораторией механизмов медикаментозной резистентности, д.б.н. Н. Ю. Лукьяновой в отделе мониторинга опухолевого процесса и дизайна терапии Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого (заведующий – академик НАН Украины В. Ф. Чехун). Иммуногистохимическое исследование экспрессии РЭ, РП, РТ в клетках яичника больных проводили на парафиновых срезах толщиной 4–5 микрон, которые помещали на стекла, обработанные поли-L-лизинном. В качестве первичных антител использовали моноклональные антитела (МКАТ), специфичные к РЭ, РП, РТ (табл. 2.12).

Для визуализации результатов реакции использовали набор реактивов En Vision system (DakoLSAB2 system, Denmark) в соответствии с рекомендациями производителя, срезы докрашивали гематоксилином Майера. Для оценки экспрессии РЭ, РП, РТ применяли полуколичественный метод. При наличии специфического ядерного окрашивания для половых стероидных

Таблица 2.11

Гистологический тип опухолей у больных ЗОЯ (n=284)

Гистологический тип опухоли	Количество больных	
	n	%
Серозный РЯ	232	81,7
Муцинозный РЯ	25	10,8
ОСПТ	27	9,5
Всего	284	100,0

Таблица 2.12

Моноклональные антитела, специфичные к РЭ, РП, РТ

Молекулярный маркер	МКАТ	Клон	Каталожный номер	Разведение	Видоспецифичность	Фирма и страна
РЭ	Anti-Human Estrogen Receptor alfa	Clone 1D5	IR657	1:200	Human	Dako Cytomation, Denmark
РП	Anti-Human Progesterone Receptor	Clone PgR 636	M3569	1:50	Human	Dako Cytomation, Denmark
РТ	Testosterone antibody	Rabbit polyclonal to Testosterone	GTX72779	Не разводится	Human	GeneTex, USA

рецепторов определяли количество иммунопозитивных и иммунонегативных клеток в процентах. В каждом гистологическом препарате анализировали экспрессию РЭ, РП, РТ в 1000 клеток.

Поскольку в настоящее время отсутствует общепринятый стандартный полуколичественный метод суммарной оценки РСГ в клетках ЗОЯ, то за образец использовали метод, наиболее часто встречаемый по данным литературы [306].

Степень экспрессии стероидных рецепторов учитывали в баллах: 0 баллов – отсутствует окрашивание ядер клеток яичника; 1 балл – слабое окрашивание ядер в ≤ 10 % клеток; 2 балла – умеренная степень окрашивания – 11–50 % клеток; 3 балла – высокая степень окрашивания – 51–80 % клеток; 4 балла – гиперэкспрессия – >80 % окрашенных клеток яичника. За положительную экспрессию стероидных рецепторов считали количество окрашенных ядер клеток яичника более 10 % с умеренной и высокой степенью окрашивания.

В качестве положительного контроля применяли МКАТ против панцитокератинов, в качестве отрицательного контроля – забуференный физиологи-

ческий раствор, который вместо МКАТ наносили на гистологические срезы. Полученные препараты иммуногистохимического анализа операционного материала всех больных изучали и фотографировали с помощью микроскопа Prima Star Carl Zeiss (Германия) и камерой Canon G5 (Япония), с оптическим увеличением $\times 200$, $\times 400$.

2.2.1. Характеристика больных ЗОЯ разного гистогенеза по клинико-морфологическим и иммуногистохимическим показателям

Возраст больных ЗОЯ ($n=284$) разного гистогенеза колебался от 16 до 82 лет, составляя в среднем $52,8 \pm 2,2$ года. По гистологическому строению опухолей пациентки распределились (табл. 2.13) на серозный РЯ (232/81,7 %), муцинозный РЯ (25/8,8 %) и ОСПТ (27/9,5 %). Средний возраст женщин был сопоставим (51,7, 52,8 и 53,9 года, соответственно).

Степень дифференциации опухолей яичника представлена в таблице 2.13. Больные серозным РЯ и ОСПТ имели высокий процент опухолей с низкой сте-

Таблица 2.13

**Распределение больных по возрасту, гистогенезу ЗОЯ,
степени дифференциации опухолей (n=284)**

Гистологический тип опухоли	Количество больных		Средний возраст/ колебания, годы	Степень дифференциации опухоли					
				высокая		умеренная		низкая	
	n	%		n	%	n	%	n	%
Серозный РЯ	232	100,0	51,7±0,8/18–82	45	19,4	73	31,5	114	49,1
Муцинозный РЯ	25	100,0	52,8±3,2/16–69	7	28,0	10	40,0	8	32,0
ОСПТ	27	100,0	53,9±2,5/27–70	3	11,1	8	29,6	16	59,3

пению дифференциации (49,1 и 59,3 %, соответственно). У больных муцинозным РЯ наибольшая часть опухолей была умеренно дифференцированной (40,0 %).

Пациентки ЗОЯ, которым назначалась неоадьювантная химиотерапия, по генезу опухолей распределились так: у 84 (36,2 %) больных диагностирован серозный РЯ, у 2 (7,4 %) – муцинозный РЯ и 4 (16,0 %) – ОСПТ.

Анализ распространенности ЗОЯ, показал, что количество больных с III стадией было наибольшим – 73,9 % (n=210). Данные распределения паци-

ентов по стадиям в зависимости от гистологического типа ЗОЯ представлены в таблице 2.14. Как видно из этой таблицы, экспрессия РСГ в ЗОЯ была вариабельной. Позитивная экспрессия РЭ отмечалась у 66,4 %, РП – у 63,4 %, РТ – у 53,0 % больных серозным РЯ (см. табл. 2.14). Позитивная экспрессия этих же маркеров выявлялась у пациенток с муцинозным РЯ соответственно – 88,0 %, 84,0 %, 60,0 %. Позитивное окрашивание клеток стромальноклеточных опухолей наблюдали в 74,1 % случаев для РЭ и в 77,8 % – для РП и РТ. Следует отметить, что боль-

Таблица 2.14

**Частота рецепторположительных ЗОЯ разного генеза
в зависимости от стадии заболевания (по РЭ, РП, РТ), (n=284)**

Количество больных с рецепторположительной опухолью						
Гистологический тип ЗОЯ/стадия	РЭ +		РП +		РТ +	
	n	%	n	%	n	%
Серозный РЯ, n=232/100,0 %	154	66,4	147	63,4	123	53,0
I стадия, n=23/100,0 %	20	87,0	17	73,9	13	56,5
II стадия, n=13/100,0 %	11	84,6	11	84,6	2	15,4
III стадия, n=185/100,0 %	116	62,7	113	61,1	103	55,7
IV стадия, n=11/100,0 %	7	63,6	6	54,5	5	45,5
Муцинозный РЯ, n=25/100,0 %	22	88,0	21	84,0	15	60,0
I–II стадия, n=10/100,0 %	9	90,0	8	80,0	6	60,0
III стадия, n=15/100,0 %	13	86,7	13	86,7	9	60,0
ОСПТ, n=27/100,0 %	20	74,1	21	77,8	21	77,8
I–II стадия, n=17/100,0 %	11	64,7	11	64,7	15	88,2
III стадия, n=10/100,0 %	9	90,0	10	100,0	6	60,0

ные с муцинозным РЯ и с ОСПТ имели наибольшее количество рецепторположительных опухолей. Статистический анализ показал значимую ранговую корреляцию между морфологическим строением опухолей и экспрессией РСГ: для РЭ – $r=0,364$ ($p=0,002$), РП – $r=0,408$ ($p<0,001$) и РТ – $r=0,289$ ($p=0,0048$) (табл. 2.15). При сравнении частоты экспрессии РСГ в серозном РЯ и ОСПТ установлены достоверные различия только для РТ ($p=0,016$). Сопоставляя частоту экспрессии РСГ в серозном и муцинозном РЯ, отмечены различия для РЭ и РП ($p=0,027$ и $p=0,039$, соответственно), но при сравнении частоты экспрессии РЭ, РП и РТ в муцинозном РЯ и ОСПТ, достоверных различий не выявлено.

Установлена слабая корреляционная связь между частотой экспрессии РЭ, РП в опухолях яичника разного генеза и стадией заболевания: $r=-0,304$ ($p=0,002$) и $r=-0,307$ ($p=0,027$), соответственно (см. табл. 2.14 и 2.15). У больных

серозным РЯ при повышении стадии опухолевого процесса отмечена тенденция к снижению частоты экспрессии РЭ и РП, тогда как у больных муцинозным РЯ и ОСПТ наблюдали тенденцию к повышению частоты экспрессии этих рецепторов. При этом отмечено отсутствие связи между экспрессией РТ в опухолях разного генеза и стадией болезни ($r=-0,053$, $p=0,538$).

Статистический анализ не выявил достоверной корреляционной связи между частотой рецепторположительных ЗОЯ разного генеза (см. табл. 2.15) и степенью дифференциации последних: для РЭ – $r=-0,066$, $p=0,382$, РП – $r=0,02$, $p=0,789$ и РТ – $r=0,054$, $p=0,444$. Однако отмечена прямая связь между экспрессией РЭ ($r=0,246$, $p<0,05$), РП ($r=0,184$, $p<0,05$) и отсутствие таковой между экспрессией РТ ($r=-0,042$, $p>0,05$) и возрастным периодом больных ЗОЯ разного гистогенеза. Кроме того, выявлена слабая корреляция влияния неoadъювантной химиотерапии

Таблица 2.15

**Ранговые корреляции Гамма между экспрессией РСГ
и клинко-морфологическими показателями ЗОЯ (n=284)**

Показатель	Стадия	Гистологический тип опухоли	Диф. опухоли	НАХТ	ВП	РЭ	РП	РТ
Стадия	1,000	-0,587*	0,128	0,664*	0,245*	-0,304*	-0,207*	-0,053
Гистологический тип опухоли	-0,587*	1,000	-0,069	-0,596*	-0,153	0,364*	0,408*	0,289*
Диф. опухоли	0,128	-0,069	1,000	0,106	0,033	-0,066	0,020	0,054
НАХТ	0,664*	-0,596*	0,106	1,000	0,113	-0,152	-0,307*	-0,023
ВП	0,245*	-0,153	0,033	0,113	1,000	0,246*	0,184*	0,042
РЭ	-0,304*	0,364*	-0,066	-0,152	0,246*	1,000	0,928*	0,398*
РП	-0,207*	0,408*	0,020	-0,307*	0,184*	0,928*	1,000	0,354*
РТ	-0,053	0,289*	0,054	-0,023	0,042	0,398*	0,354*	1,000

Примечания:

* $p<0,05$ коэффициент корреляции;

ВП – возрастная период больных ЗОЯ разного гистогенеза;

Диф. опухоли – дифференциация опухоли;

НАХТ – неoadъювантная химиотерапия.

на экспрессию РП ($r=-0,307$, $p=0,001$) и отсутствие ее влияния на экспрессию РЭ и РТ ($r=-0,152$, $p=0,091$ и $r=-0,023$, $p=0,787$, соответственно).

Анализируя зависимость экспрессии стероидных рецепторов между собой, установлена ранговая корреляция между экспрессией РЭ и РП ($r=0,928$, $p<0,0001$), РЭ и РТ ($r=0,398$, $p<0,001$), РП и РТ ($r=0,354$, $p<0,001$), особенно значимая между РЭ и РП (см. табл. 2.15).

2.2.2. Изучение степени экспрессии РСГ в клетках ЗОЯ

Анализ степени интенсивности окрашивания опухолевых клеток яичника разного гистогенеза по РСГ, показал вариабельность экспрессии всех рецепторов, с преобладанием умеренной степени экспрессии РЭ, РП и РТ в серозном, муцинозном РЯ и ОСПТ: для РЭ 54,7 %, 52,0 и 66,7 % случаев, соответственно; РП – 46,1 %, 76,0 и 48,1 %, соответственно; РТ – 47,0 %, 52,0 и 40,7 %, соответственно (табл. 2.16, рис. 2.20–2.25).

Сравнивая количество больных ЗОЯ разного генеза с умеренной степенью экспрессии РЭ, наблюдались достоверные различия между пациентками с ОСПТ и серозным РЯ ($p=0,04$), между больными с ОСПТ и муцинозным РЯ ($p=0,003$).

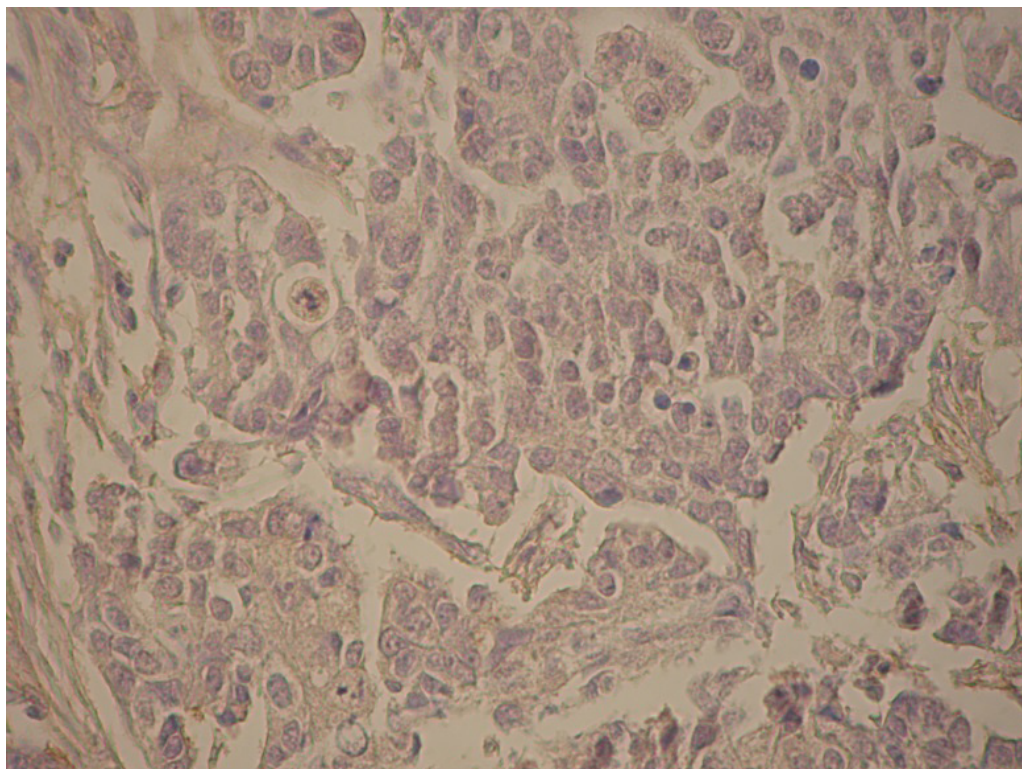
Достоверные различия отмечены и при анализе количества больных ЗОЯ с умеренной степенью экспрессии РП в опухолях: между больными с серозным и муцинозным РЯ ($p=0,008$), пациентками с ОСПТ и муцинозным РЯ ($p=0,004$). При сравнении больных ЗОЯ с умеренной степенью экспрессии РТ достоверных различий не выявлено.

Небольшое количество больных ЗОЯ разного морфологического генеза имели высокую степень экспрессии РСГ, частота которой составила для РЭ: в серозном РЯ – 9,9 % случаев, муцинозном – 28,0 % и в ОСПТ – 3,7 % больных; для РП: 13,4 %, 8,0 и 18,5 % случаев, соответственно; для РТ: 5,2 %, 8,0 и 22,2 % больных, соответственно. Различия в показателях в зависимости от гистологического типа опухолей не имели достоверности ($p>0,05$).

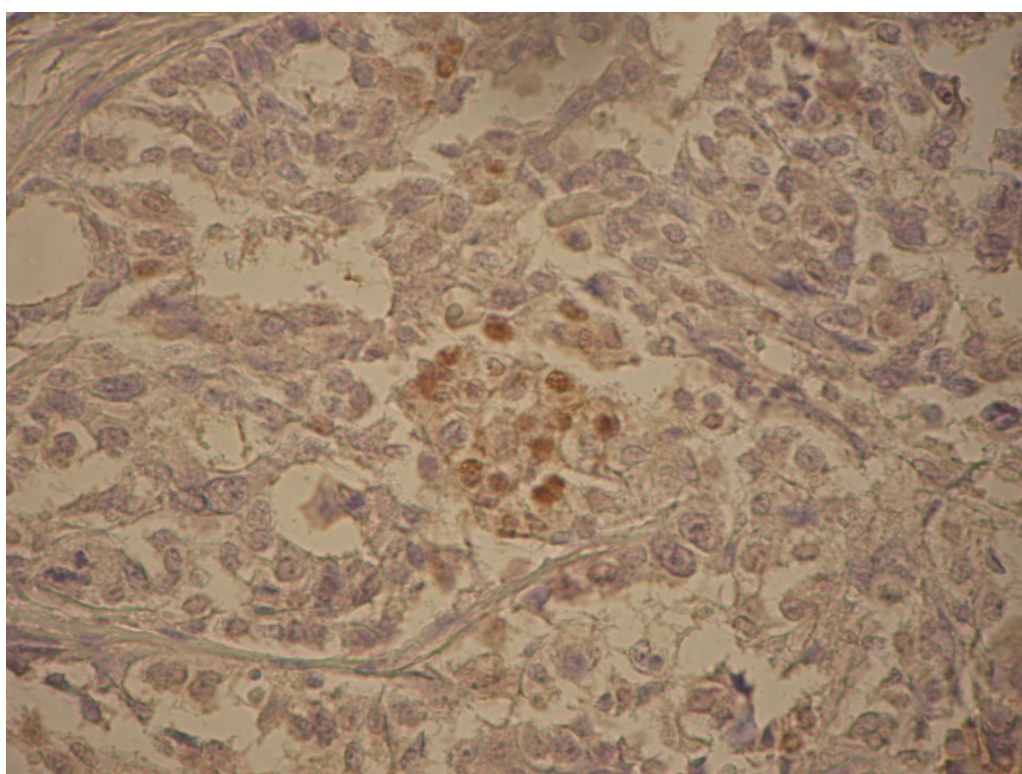
Таблица 2.16

Степень экспрессии РСГ в ЗОЯ по данным иммуногистохимического исследования

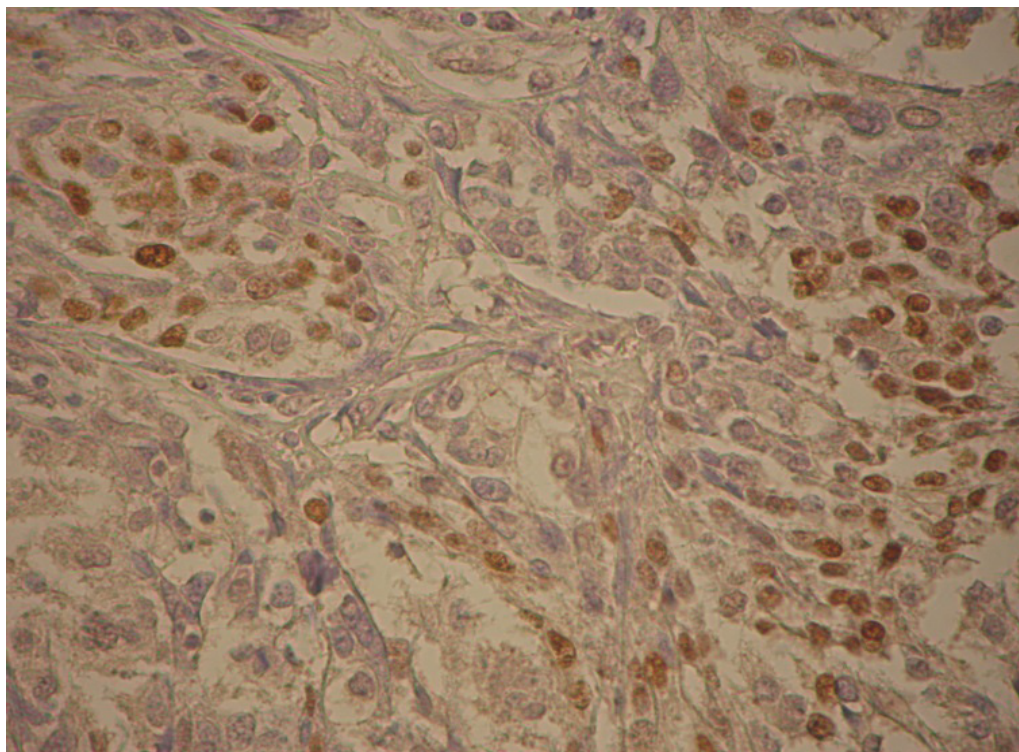
Гистологический тип ЗОЯ	Рецепторы к эстрогенам											
	0 баллов		1 балл		2 балла		3 балла		4 балла		Всего	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Серозный РЯ	62	26,7	16	6,9	127	54,7	23	9,9	4	1,7	232	100,0
Муцинозный РЯ	3	12,0	0	0,0	13	52,0	7	28,0	2	8,0	25	100,0
ОСПТ	7	25,9	0	0,0	18	66,7	1	3,7	1	3,7	27	100,0
	Рецепторы к прогестерону											
	0 баллов		1 балл		2 балла		3 балла		4 балла		Всего	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Серозный РЯ	71	30,6	14	6,0	107	46,1	31	13,4	9	3,9	232	100,0
Муцинозный РЯ	4	16,0	0	0,0	19	76,0	2	8,0	0	0,0	25	100,0
ОСПТ	6	22,0	0	0,0	13	48,1	5	18,5	3	11,1	27	100,0
	Рецепторы к тестостерону											
	0 баллов		1 балл		2 балла		3 балла		4 балла		Всего	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Серозный РЯ	90	38,8	18	7,8	109	47,0	12	5,2	3	1,3	232	100,0
Муцинозный РЯ	10	40,0	0	0,0	13	52,0	2	8,0	0	0,0	25	100,0
ОСПТ	5	18,5	1	3,7	11	40,7	6	22,2	4	14,8	27	100,0



А



Б



В

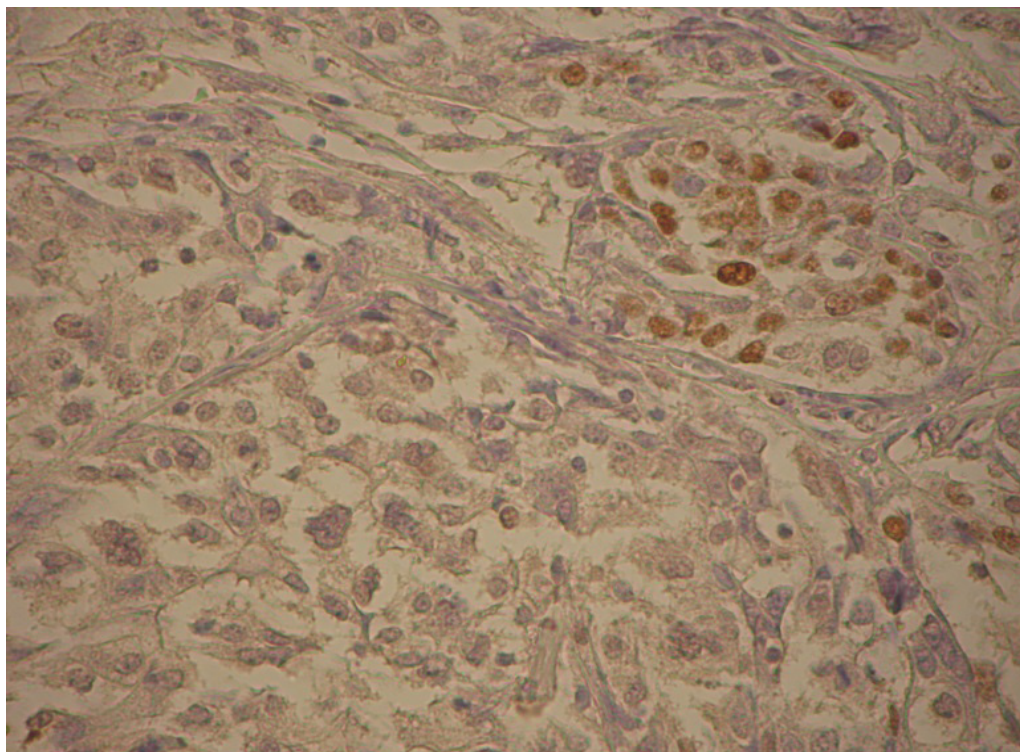
Рис. 2.20. Серозный РЯ. Экспрессия РЭ в опухолевых клетках, $\times 400$

А – отсутствие экспрессии РСГ; Б – низкая степень экспрессии РЭ; В – высокая степень экспрессии РЭ.

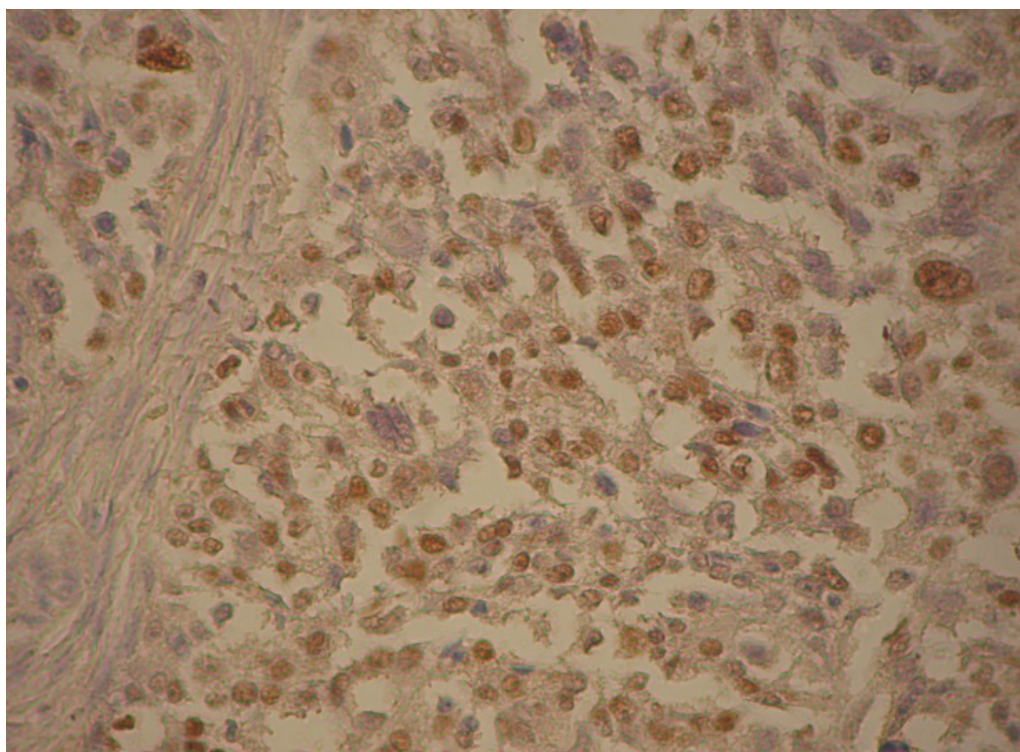
И только в единичных случаях выявлена гиперэкспрессия РСГ в опухолевых клетках ЗОЯ разного генеза (см. табл. 2.16).

Таким образом, положительным ГРС обладают все ЗОЯ независимо от гистологического типа, при этом наибольший процент рецепторположительных опухолей отмечен у больных с муцинозным РЯ, который характеризуется неблагоприятным клиническим течением опухолевого процесса, и у пациенток с ОСПТ, которые, как известно, имеют высокую гормональную активность [19, 229]. Это подтверждается установленной корреляционной связью между морфологическим строением опухолей и экспрессией всех РСГ, а также достоверными различиями между частотой экспрессии РЭ и РП в опухолевых клетках различного гистогенеза. Отмечена прямая связь между экспрессией РЭ, РП и отсутствие таковой между экспрессией

РТ и возрастным периодом больных ЗОЯ. Установлена слабая корреляционная связь между частотой экспрессии РЭ и РП в опухолях яичника разного генеза и стадией заболевания, и отсутствие таковой между экспрессией РТ и последней. Показано отсутствие влияния неоадьювантной химиотерапии на частоту экспрессии РСГ в клетках ЗОЯ разного гистогенеза, а также не установлена корреляция между частотой экспрессии РСГ и степенью дифференциации опухолей яичника различного морфологического типа. Нами отмечено, что опухолевые клетки яичника различного гистогенеза в основном имели умеренную степень экспрессии всех РСГ. Однако среди опухолевых клеток с высокой степенью позитивного окрашивания для РЭ, наибольшее количество регистрировали клетки муцинозного РЯ, а для РП и РТ – клетки ОСПТ.



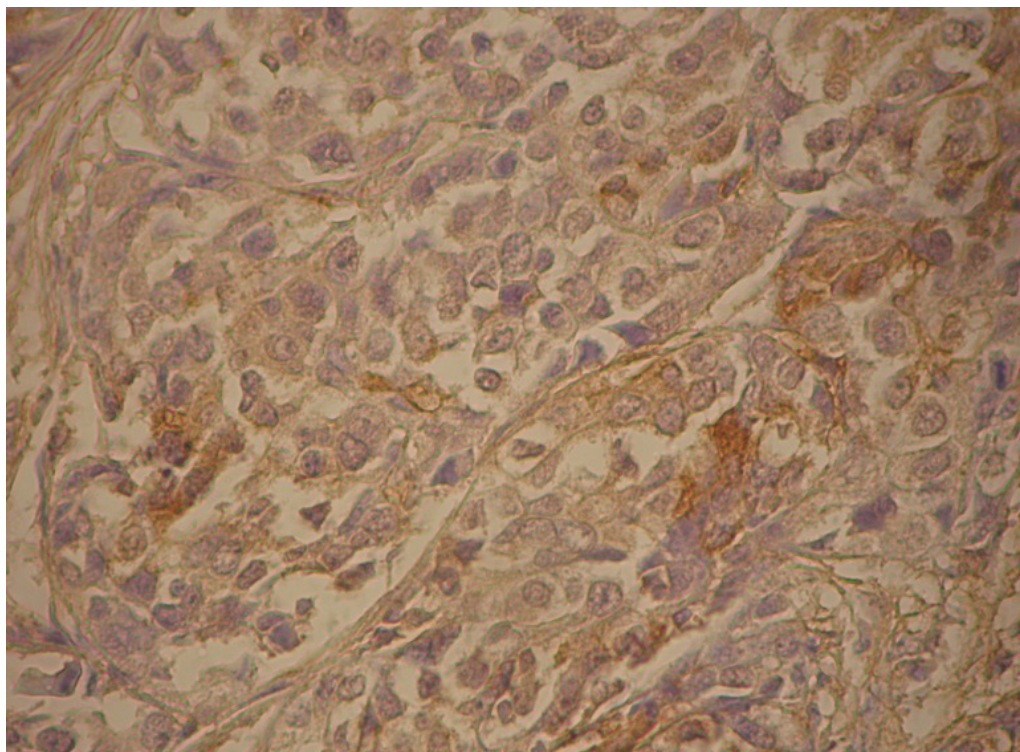
А



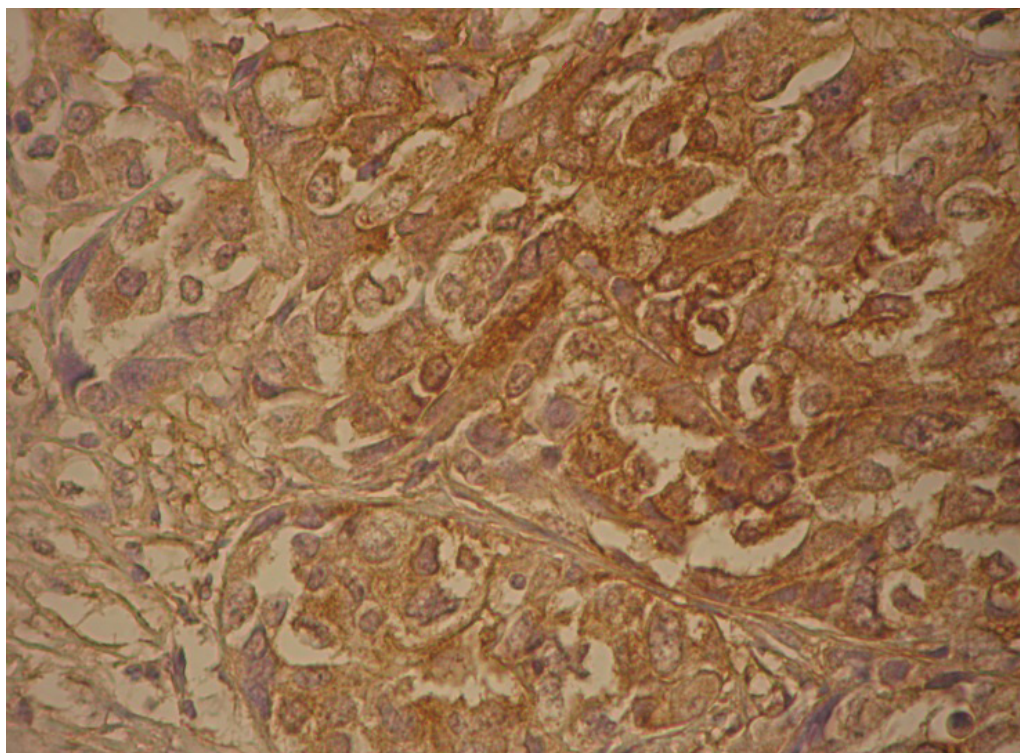
Б

Рис. 2.21. Серозный РЯ. Экспрессия РП в опухолевых клетках, $\times 400$

А – низкая степень экспрессии РП; Б – высокая степень экспрессии РП.



А



Б

Рис. 2.22. Серозный РЯ. Экспрессия РТ в опухолевых клетках, $\times 400$

А – низкая степень экспрессии РТ; Б – высокая степень экспрессии РТ.

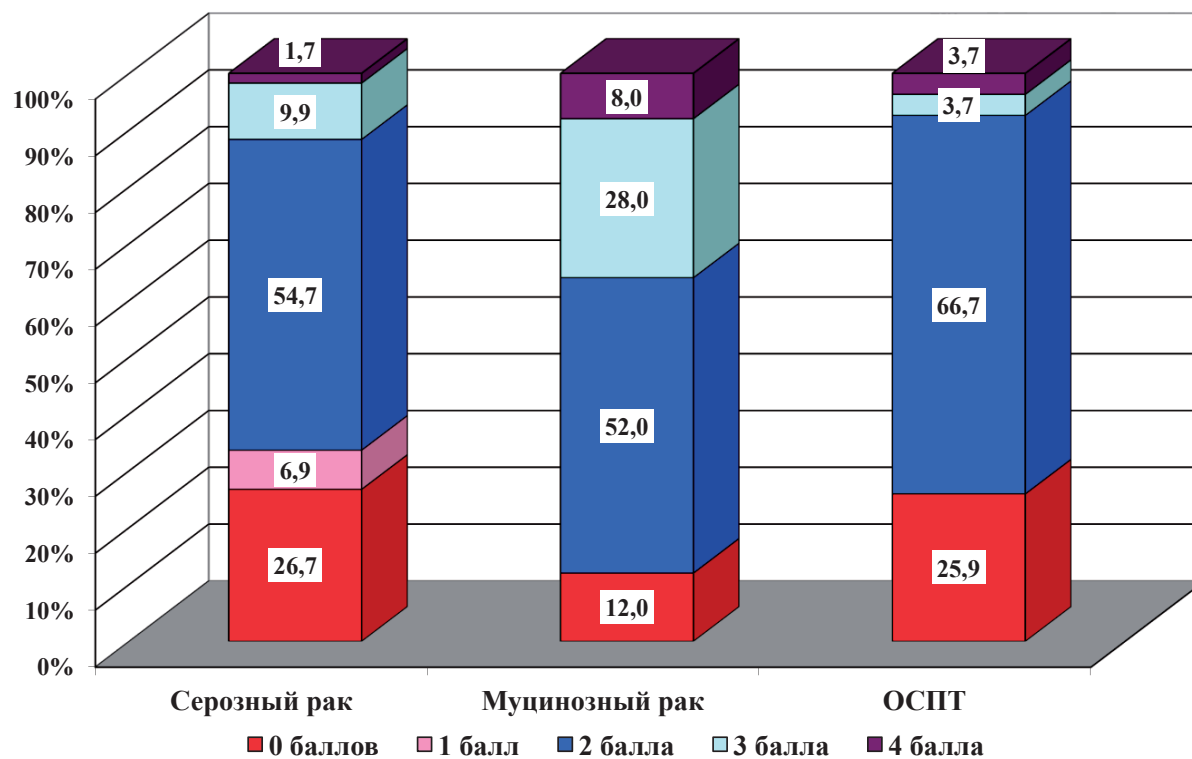


Рис. 2.23. Степень экспрессии РЭ в опухолях яичника разного генеза

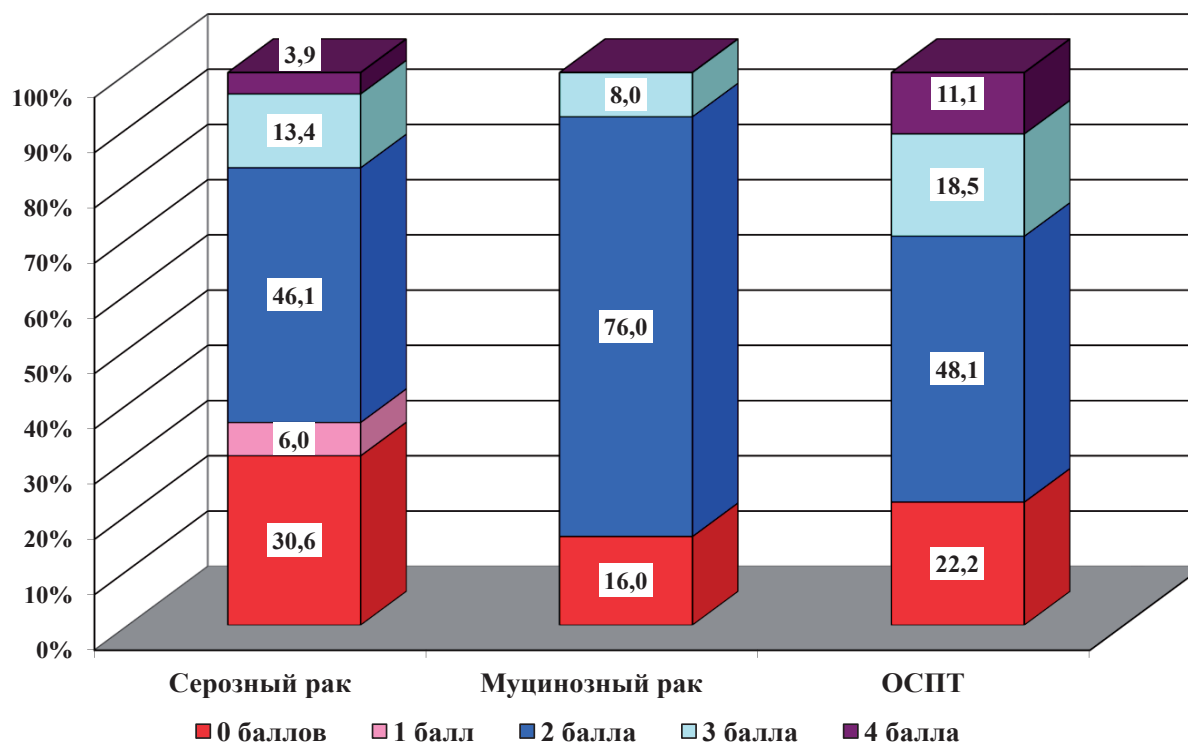


Рис. 2.24. Степень экспрессии РП в опухолях яичника разного генеза

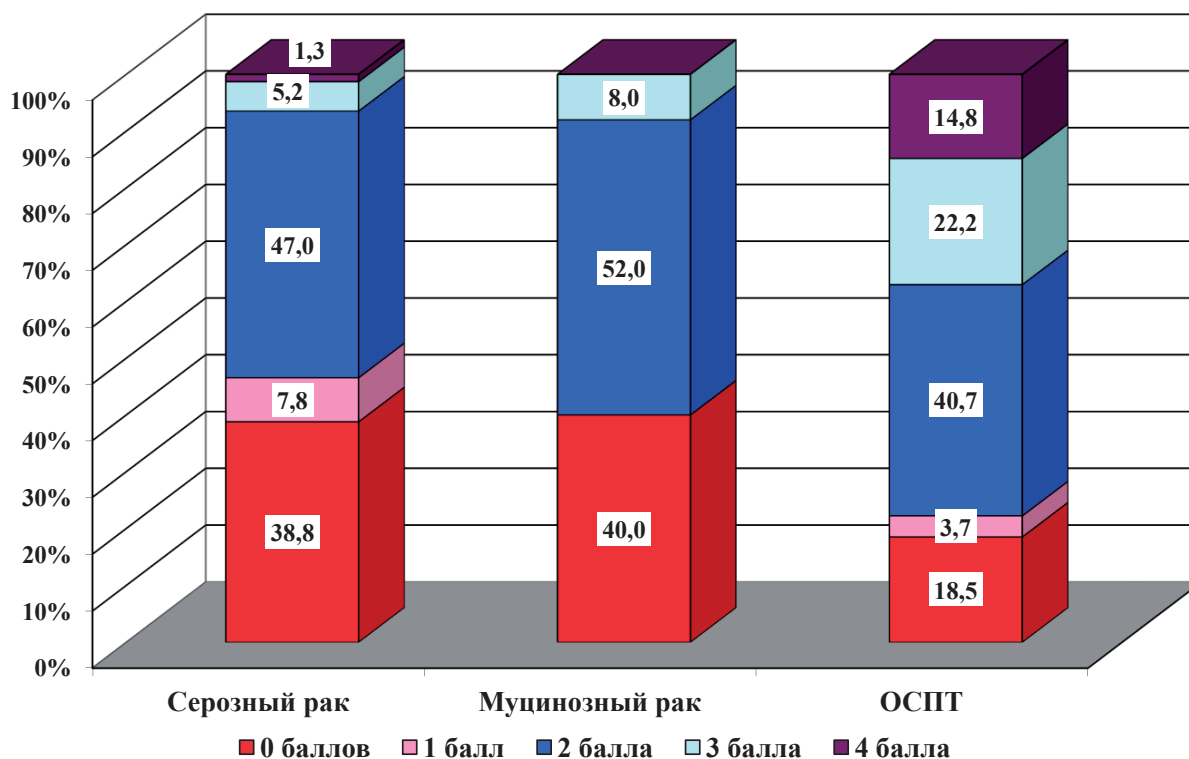


Рис. 2.25. Степень экспрессии РТ в опухолях яичника разного генеза

Представленные результаты показали, что яичник со злокачественной опухолью разного гистогенеза является тканью мишенью для системно-локальных классических и неклассических половых стероидов независимо от степени дифференциации опухолевой ткани.

2.2.3 Изучение гормонального рецепторного статуса серозного РЯ и его связь с клинко-морфологическими показателями

В нашем исследовании наиболее многочисленную группу составили больные серозным РЯ ($n=232$), поэтому следующий анализ проводили для этой категории пациенток. Средняя длительность наблюдения больных серозным РЯ составила $39,5 \pm 1,7$ месяцев, средняя длительность безрецидивного периода – $33,7 \pm 1,8$ месяца, медиана безрецидив-

ной выживаемости – $30,0 \pm 2,2$ месяцев. Характеристика женщин по возрастному периоду представлена в таблице 2.17. Как свидетельствуют данные этой таблицы, наибольшее количество пациенток с серозным РЯ были в постменопаузальном возрасте – 40,5 % (в ранней постменопаузе – 15,1 %, в поздней – 25,4 %), тогда как в репродуктивном и перименопаузальном периоде – 28,5 и 31,0 %, соответственно. У 149 (64,2 %) больных установлен рецидив заболевания: 30 (20,1 %) пациенток репродуктивного возраста, 55 (36,9 %) – перименопаузы, 64 (43,0 %) – постменопаузального периода, среди них 22 (14,8 %) пациентки ранней постменопаузы, и 42 (28,2 %) – позднего постменопаузального периода (см. табл. 2.17). Следует отметить, что наибольшее количество больных серозным РЯ, и количество рецидивов у них, наблюдалось в постменопаузальном

и в перименопаузальном возрасте, что указывает на более агрессивное течение заболевания и неблагоприятный прогноз в этом возрастном периоде.

Анализируя экспрессию РСГ в серозном РЯ в зависимости от возраста больных (табл. 2.18, рис. 2.26), мы отметили, что чаще эстроген-, прогестерон-, тестостерон-рецепторположительные опухоли наблюдались в позднем постменопаузальном периоде – 79,7 %, 79,7 и 59,3 %, соответственно. При этом установлена достоверная ранговая корреляционная связь (табл. 2.19) между экспрессией РЭ, РП и возрастом больных ($r=-0,253$, $p<0,001$ и $r=-0,173$, $p=0,021$, соответ-

ственно). Для РТ коэффициент корреляции составил $-0,076$ ($p=0,297$), что свидетельствует об отсутствии связи экспрессии данного маркера с возрастом пациенток (см. табл. 2.19). Второе место по частоте встречаемости рецепторположительных опухолей отводится больным перименопаузального периода (РЭ – 63,9 %, РП – 59,7 %, РТ – 56,9 %) (см. табл. 2.18).

Как установлено нами ранее, серозный РЯ именно в перименопаузальном и постменопаузальном возрасте имеет более агрессивное клиническое течение и неблагоприятный прогноз заболевания [141, 229]. Если учесть весь постменопаузальный

Таблица 2.17

**Характеристика больных серозным РЯ
по возрастным периодам и наличию рецидива (n=232)**

Возрастной период больных серозным РЯ	Больные серозным РЯ (n=232)					
	Рецидив заболевания				Всего	
	есть		нет			
	п	%	п	%	п	%
Репродуктивный	30	20,1	36	43,4	66	28,5
Перименопауза	55	36,9	17	20,5	72	31,0
Постменопауза	64	43,0	30	36,1	94	40,5
Ранняя постменопауза	22	14,8	13	15,6	35	15,1
Поздняя постменопауза	42	28,2	17	20,5	59	25,4
Всего	149	64,2/100,0	83	35,8/100,0	232	100,0

Таблица 2.18

**Частота экспрессии РЭ, РП и РТ у больных серозным РЯ
в зависимости от возрастного периода (n=232)**

Возрастной период	Количество больных с рецепторположительной опухолью							
	РЭ +		РП +		РТ +		Всего	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Репродуктивный период	42	63,6	35	53,0	32	48,5	66	100,0
Перименопауза	46	63,9	43	59,7	41	56,9	72	100,0
Постменопауза	66	70,2	69	73,4	51	54,3	94	100,0
Ранняя постменопауза	19	54,3	22	62,9	16	45,7	35	100,0
Поздняя постменопауза	47	79,7	47	79,7	35	59,3	59	100,0
Всего	154		147		124		232	

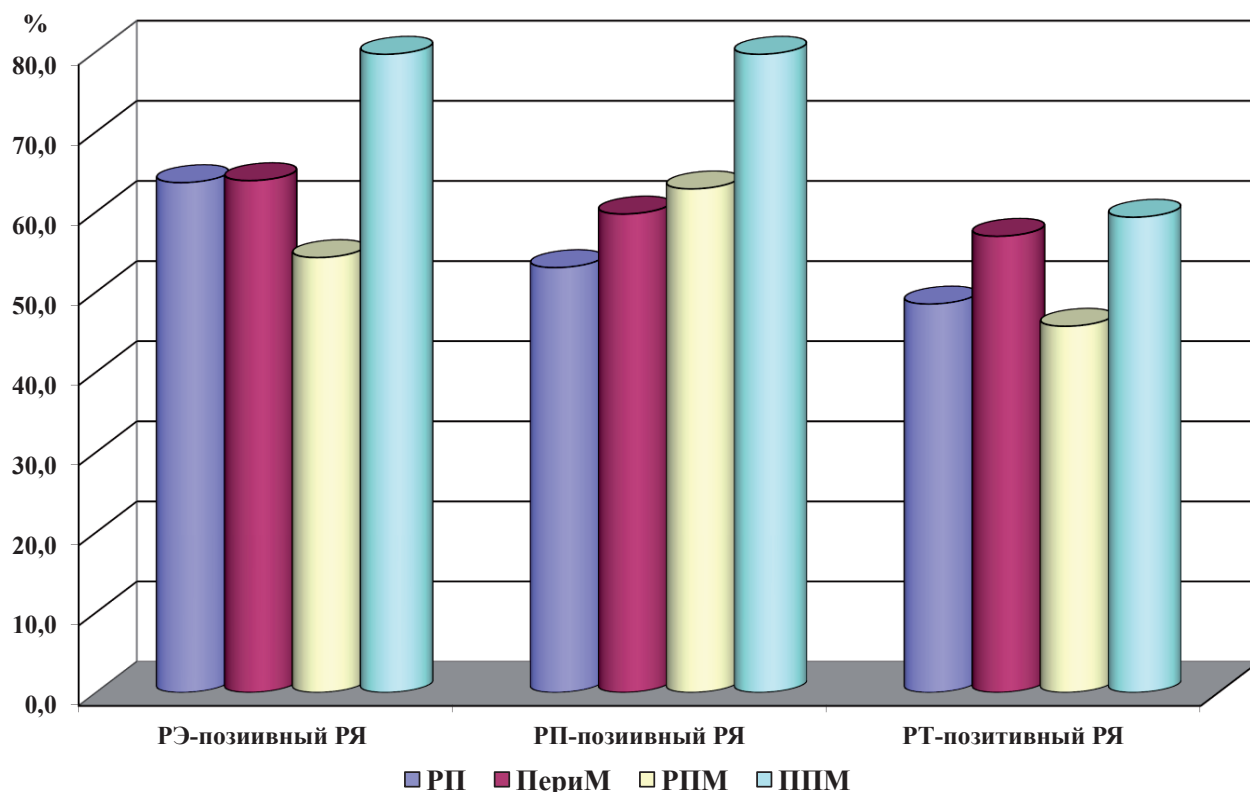


Рис. 2.26. Распределение больных с экспрессией РЭ, РП и РТ в клетках серозного РЯ в зависимости от возрастного периода

Примечания:

РП – репродуктивный период;

ПериМ – перименопауза;

РПМ – ранний постменопаузальный период;

ППМ – поздний постменопаузальный период.

период больных РЯ, то экспрессия РЭ в серозном РЯ выявлена у 70,2 % пациенток, РП – в 73,4 % и РТ – в 54,3 % случаев. Наименьший процент рецепторположительных опухолей отмечен у больных репродуктивного возраста.

У 81 (34,9 %) пациентки с серозным РЯ диагностирована КНАГЭ, которая, как известно, является результатом хронических дисгормональных нарушений у женщин [51, 57, 131, 134]. Как свидетельствуют данные таблицы 2.19, отсутствует ранговая корреляционная связь между экспрессией всех РСГ и степенью дифференциации опухолей, а также наличием или отсутствием КНАГЭ у больных серозным РЯ.

Однако установлено, что проведение неоадьювантной химиотерапии оказывает влияние только на экспрессию РП ($r=-0,316$, $p=0,005$), но при этом не влияет на экспрессию РЭ и РТ ($p=0,106$ и $p=0,653$, соответственно). В серозном РЯ также, как и при всех ЗОЯ, мы отметили значимую корреляцию между экспрессией РЭ и РП ($r=0,913$, $p<0,0001$), РЭ и РТ ($r=0,362$, $p<0,0001$), РП и РТ ($r=0,374$, $p<0,0001$).

Анализ серозного РЯ по гормонально-рецепторному фенотипу опухолей с учетом возрастного периода женщин показал значительный полиморфизм данных (таблица 2.20). Как видно из этой таблицы, наибольшее количество больных

Таблица 2.19

Ранговые корреляции Гамма между экспрессией РСГ, гормонально-рецепторным фенотипом серозного РЯ и клинико-морфологическими показателями (n=232)

Показатель	Коэффициент корреляции	Р
РЭ & стадия	-0,420	0,0005
РЭ & степень дифференциации опухоли	-0,118	0,1470
РЭ & неoadъювантная химиотерапия	-0,154	0,1056
РЭ & РП	0,913	0,0001
РЭ & РТ	0,362	0,0001
РЭ & возрастной период	-0,253	0,0009
РЭ & КНАГЭ	0,024	0,8067
РЭ & рецидив заболевания	0,212	0,0185
РП & стадия	-0,310	0,0062
РП & степень дифференциации опухоли	-0,060	0,4565
РП & неoadъювантная химиотерапия	-0,316	0,0005
РП & РЭ	0,913	0,0001
РП & РТ	0,374	0,0001
РП & возрастной период	-0,173	0,0205
РП & КНАГЭ	-0,164	0,0825
РП & рецидив заболевания	0,063	0,1872
РТ & стадия	0,176	0,0902
РТ & степень дифференциации опухоли	0,045	0,5632
РТ & неoadъювантная химиотерапия	0,041	0,6528
РТ & РЭ	0,362	0,0001
РТ & РП	0,374	0,0001
РТ & возрастной период	-0,076	0,2968
РТ & КНАГЭ	-0,161	0,0807
РТ & рецидив заболевания	0,198	0,0413
фенотип опухоли & стадия	0,118	0,1531
фенотип опухоли & степень дифференциации опухоли	0,031	0,6120
фенотип опухоли & неoadъювантная химиотерапия	0,117	0,1063
фенотип опухоли & возрастной период	0,480	0,0017
фенотип опухоли & КНАГЭ	0,129	0,0794

Таблица 2.20

**Распределение больных серозным РЯ по возрастному периоду
и гормонально-рецепторному фенотипу опухолей (n=232)**

Фенотип опухоли	Количество больных		Возрастные периоды							
			Репродук- тивный		Перимено- пауза		Ранняя постменопа- уза		Поздняя постменопа- уза	
	n/%	%	n	%	n	%	n	%	n	%
РЭ+РП+РТ+	82/35,3	100,0	17	20,7	22	26,9	11	13,4	32	39,0
РЭ+РП+РТ-	49/21,1	100,0	17	34,7	15	30,6	6	12,2	11	22,5
РЭ+РП-РТ+	10/4,3	100,0	5	50,0	4	40,0	0	0,0	1	10,0
РЭ+РП-РТ-	13/5,6	100,0	3	23,1	5	38,5	2	15,4	3	23,1
РЭ-РП+РТ+	7/3,0	100,0	0	0,0	5	71,4	2	28,6	0	0,0
РЭ-РП+РТ-	9/3,9	100,0	1	11,1	1	11,1	3	33,3	4	44,4
РЭ-РП-РТ+	25/10,8	100,0	10	40,0	10	40,0	3	12,0	2	8,0
РЭ-РП-РТ-	37/15,9	100,0	13	35,1	10	27,0	8	21,6	6	16,2
Всего	232/100,0		n=66		n=72		n=35		n=59	

серозным РЯ (82/35,3 % из 232 пациенток) имели гормонально-рецепторный фенотип опухолей с экспрессией всех РСГ (РЭ+РП+РТ+). На втором месте – группа больных с фенотипом опухолей, положительным только по РЭ и РП (49/21,1 %). На третьем и четвертом месте – пациентки с отрицательным фенотипом опухолей (РЭ-РП-РТ-, 37/15,9 %) и фенотипом серозного РЯ, положительным только по РТ (25/10,8 %).

Интерес представил тот факт, что наибольшее количество больных с фенотипом опухоли РЭ+РП+РТ+ наблюдалось в поздней постменопаузе – 32 (39,0 %), а если учесть весь постменопаузальный период, то число пациенток с таким фенотипом серозного РЯ было значительным и составило 43 (52,4 %) из 82 больных. Самый низкий процент больных с указанным фенотипом опухолей отмечен в репродуктивном возрасте – 17 (20,7 %) из 82 пациенток.

Частота фенотипа опухоли РЭ+РП+РТ- была меньшей – 49 (21,1 %) из 232 больных, и этот фенотип серозного РЯ почти одинаково часто отмечался

у женщин постменопаузального и репродуктивного периодов (по 17/34,7 %), и перименопаузы (15/30,6 %).

Фенотипы РЭ+РП-РТ+ и РЭ+РП-РТ- выявлены в опухолях небольшого количества больных, соответственно у 10 (4,3 %) и 13 (5,6 %) из 232 пациенток. Из-за небольшого количества больных трудно выделить какой-либо возрастной период, в котором чаще наблюдались эти молекулярные фенотипы серозного РЯ.

Интересные данные получены при рассмотрении частоты рецепторного фенотипа опухолей РЭ-РП+РТ+ и РЭ-РП+РТ-. Эти фенотипы также отмечались у небольшого количества пациенток, соответственно у 7 (3,0 %) и 9 (3,7 %), при этом у больных репродуктивного периода и поздней постменопаузы молекулярного фенотипа опухоли РЭ-РП+РТ+ не было.

Следует отметить, что наибольшее число женщин репродуктивного возраста имели фенотип опухоли РЭ-РП-РТ- (13/35,1 %), а в поздней постменопаузе

этот фенотип наблюдался только у 16,2 % пациенток. При сравнении больных репродуктивного и позднего постменопаузального периода по гормонально-рецепторному фенотипу серозного РЯ установлены статистически достоверные различия между ними ($p=0,004$). Кроме того, такие достоверные различия отмечены и при сравнении фенотипа опухолей больных РЯ перименопаузы и поздней постменопаузы ($p=0,009$). При сопоставлении гормонально-рецепторного фенотипа серозного РЯ женщин репродуктивного и перименопаузального возраста, репродуктивного и раннего постменопаузального периода, достоверных различий не выявлено ($p=0,85$ и $p=0,87$, соответственно). Отсутствует также достоверность различий по гормонально-рецепторному фенотипу опухолей у пациенток перименопаузы и ранней постменопаузы ($p=0,74$).

2.2.4. Оценка выживаемости больных серозным РЯ в зависимости от гормонального рецепторного статуса опухолей и его прогностическое значение

Нами проведен однофакторный анализ общей и безрецидивной выживаемости

больных серозным РЯ в зависимости от экспрессии всех РСГ. Показатели общей и безрецидивной выживаемости пациенток представлены в таблице 2.21, кривые выживаемости – на рисунках 2.27–2.32.

Из данных таблицы 2.21 следует, что показатель 3-летней выживаемости у больных с рецепторотрицательной опухолью к эстрогенам и прогестерону выше, чем у пациенток с рецепторположительной, однако различия между ними оказались статистически недостоверными ($p=0,594$ и $p=0,452$, соответственно), поскольку 5-летняя выживаемость у 2-х групп больных наблюдалась одинаковой и составила 39,3 %.

Интерес представили результаты 3- и 5-летней выживаемости больных с рецепторотрицательной опухолью к тестостерону (см. табл. 2.21, рис. 2.29), которая оказалась достоверно выше, чем у пациенток с рецепторположительной ($p=0,035$). Следует отметить, что медиана безрецидивной выживаемости больных с рецепторотрицательным серозным РЯ ко всем стероидным гормонам также была выше, чем у женщин с рецепторположительной опухолью, однако достоверные различия показателей выживаемости определялись только

Таблица 2.21

Показатели общей и безрецидивной выживаемости больных серозным РЯ в зависимости от экспрессии РСГ

Рецепторы стероидных гормонов	Общая выживаемость, %				Медиана безрецидивной выживаемости, месяцы	
	Серозный РЯ Р +		Серозный РЯ Р –		Серозный РЯ Р +	Серозный РЯ Р –
	3-летняя	5-летняя	3-летняя	5-летняя		
РЭ	48,2±4,2	39,3±4,4	63,4±5,7	39,3±6,4	26,9±2,3	34,8±2,7
РП	49,7±4,3	39,3±4,4	60,0±5,5	39,3±6,1	27,8±2,4	32,0±2,5
РТ	45,7*±4,7	31,4*±4,8	62,2*±4,8	47,9*±5,3	27,7*±2,2	35,7*±2,8

Примечания:

Серозный РЯ Р + – серозный РЯ рецепторположительный;

Серозный РЯ Р – – серозный РЯ рецепторотрицательный;

* $p<0,05$ различия показателей выживаемости больных.

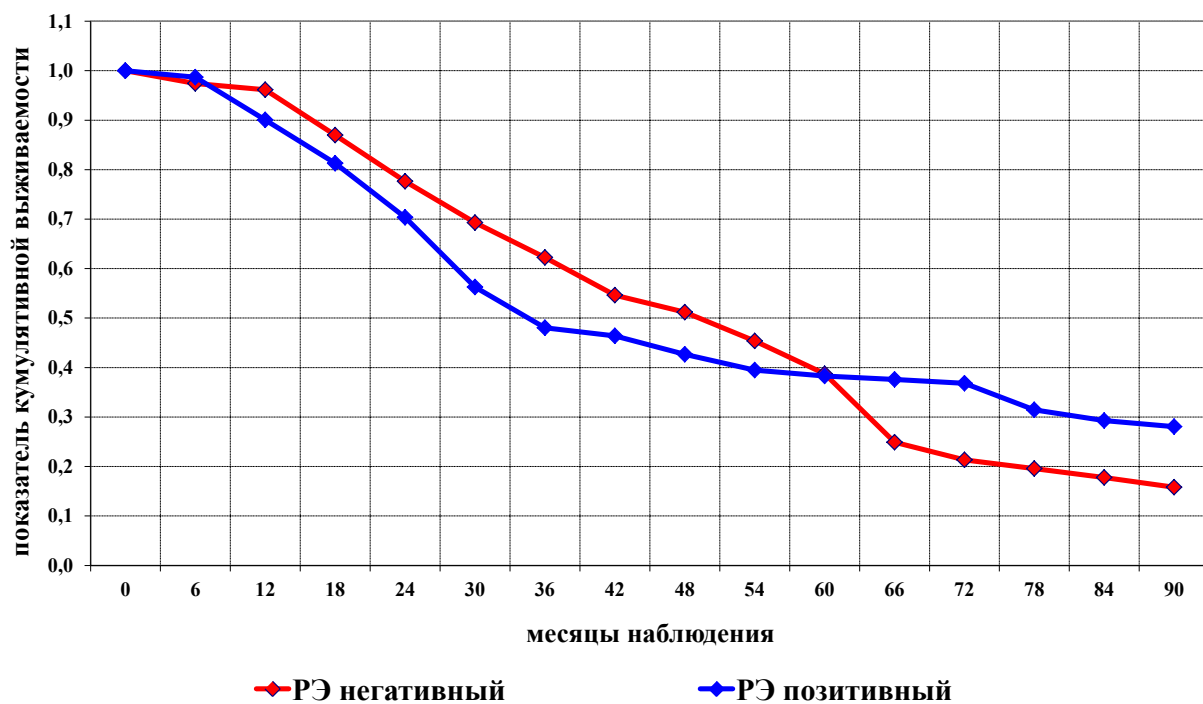


Рис. 2.27. Общая выживаемость больных серозным РЯ с экспрессией РЭ.
Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,594$

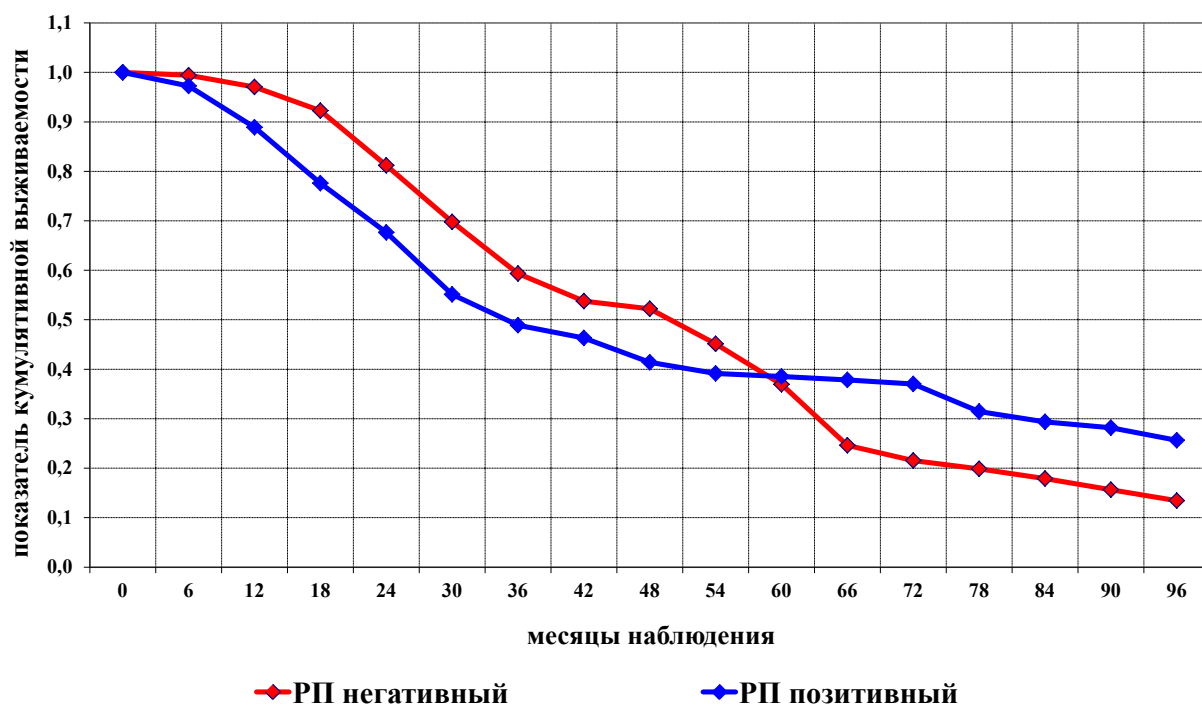


Рис. 2.28. Общая выживаемость больных серозным РЯ с экспрессией РЭ.
Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,452$

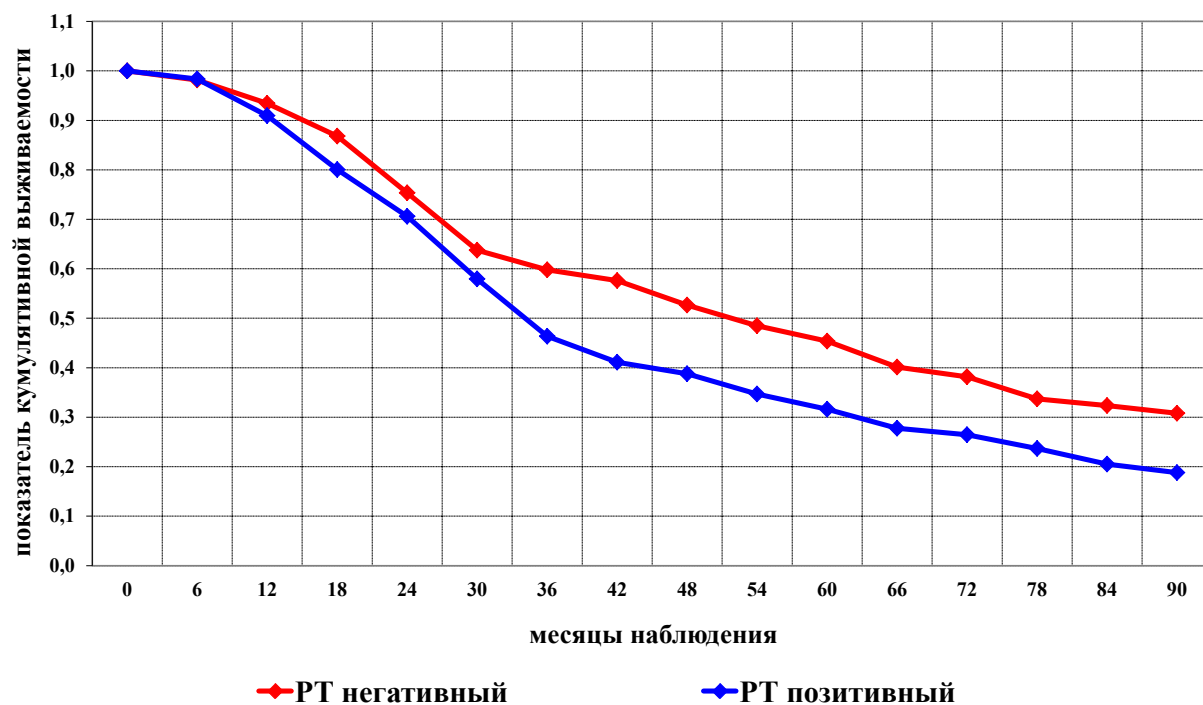


Рис. 2.29. Общая выживаемость больных серозным РЯ с экспрессией РТ.
Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,035$

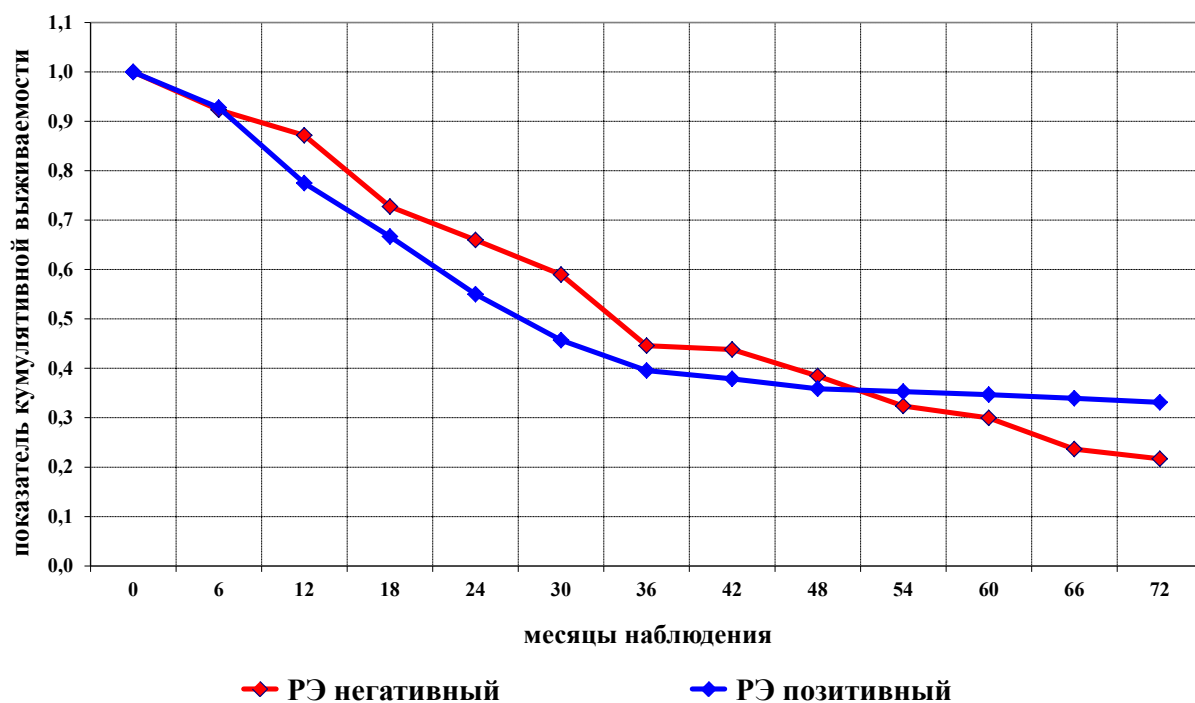


Рис. 2.30. Безрецидивная выживаемость больных серозным РЯ с экспрессией РЭ.
Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,688$

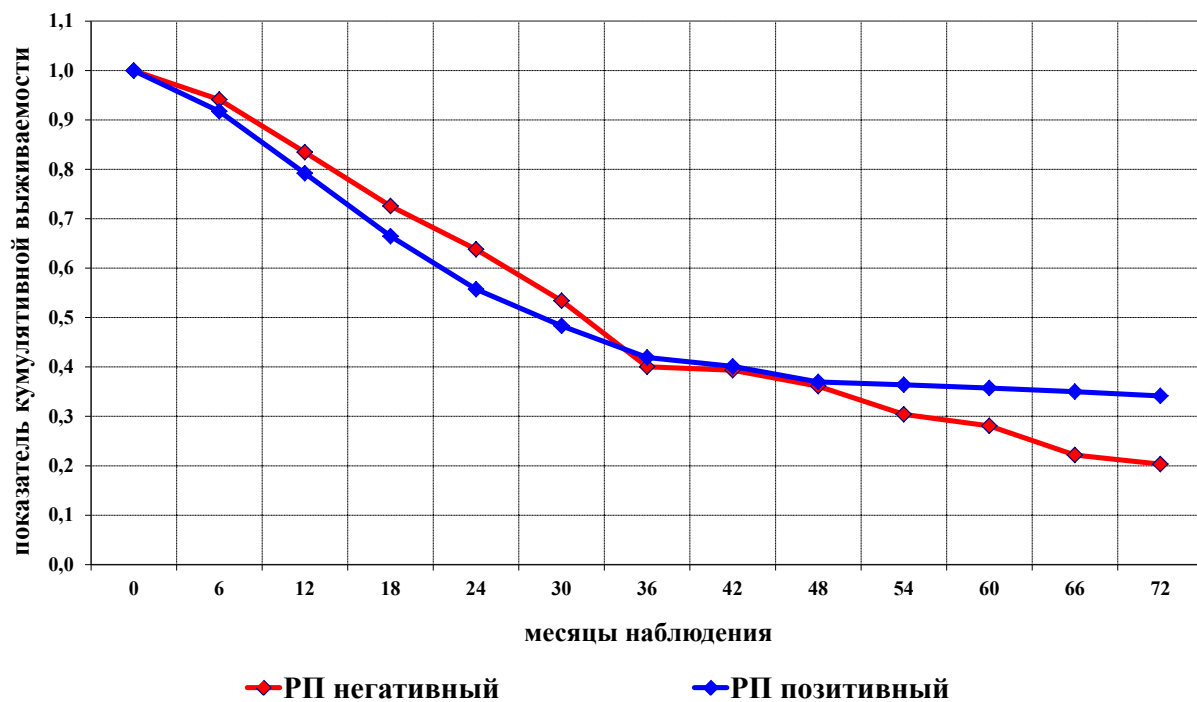


Рис. 2.31. Безрецидивная выживаемость больных серозным РЯ с экспрессией РП.
Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,953$

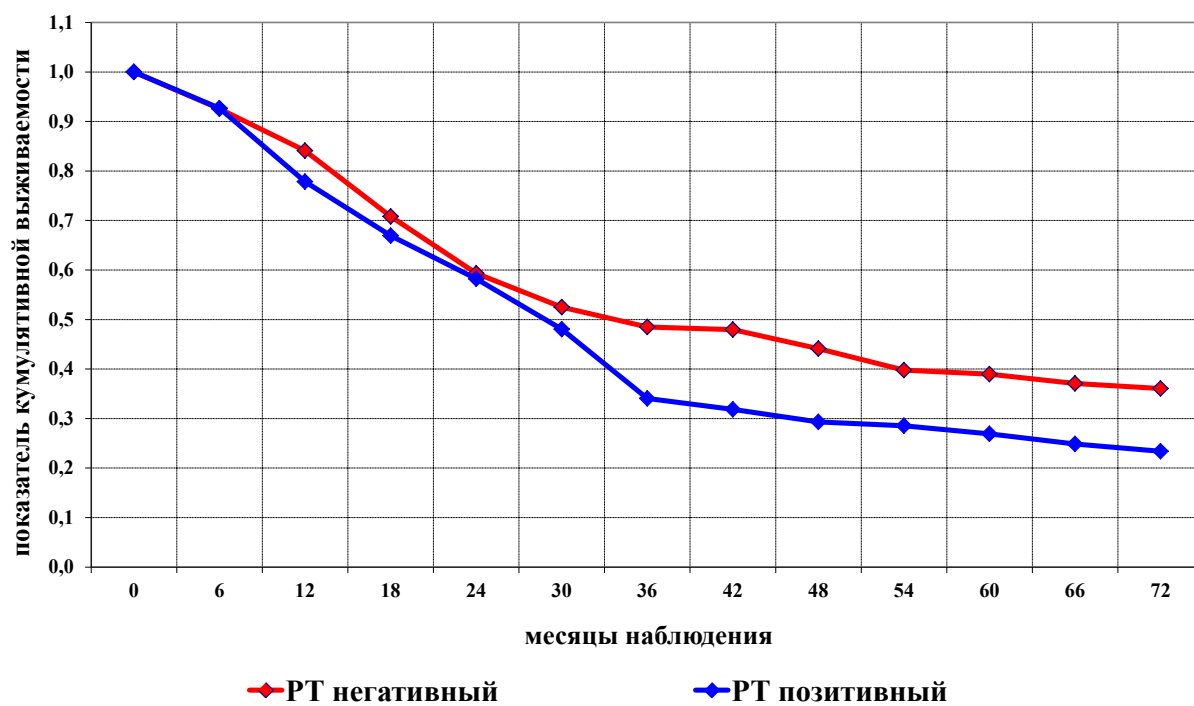


Рис. 2.32. Безрецидивная выживаемость больных серозным РЯ с экспрессией РТ.
Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p<0,05$

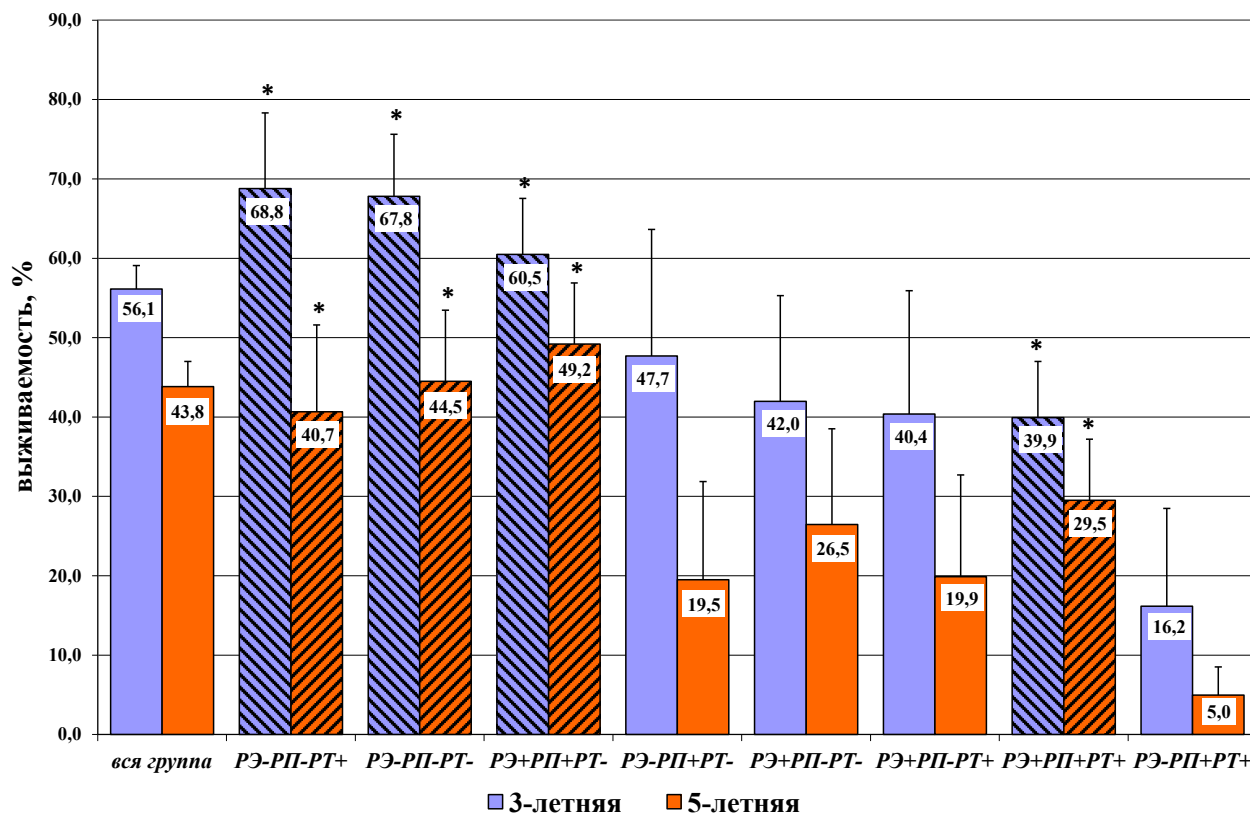


Рис. 2.33. Общая выживаемость больных серозным РЯ в зависимости от гормонально-рецепторного фенотипа опухолей. * $p < 0,05$ различия показателей выживаемости больных

при наличии или отсутствии экспрессии РТ в опухолевых клетках яичника ($p < 0,05$) (см. табл. 2.21, рис. 2.32).

При этом установлена прямая корреляционная связь между экспрессией РЭ ($r = 0,212$, $p = 0,019$), РТ и рецидивом серозного РЯ ($r = 0,198$, $p = 0,041$), что может указывать на неблагоприятное прогностическое значение экспрессии этих маркеров (см. табл. 2.19) и подтверждает результаты некоторых ранее проведенных исследований, демонстрирующих митогенное действие эстроген- и тестостерон-рецепторных комплексов в клетках РЯ *in vitro* и *in vivo* [189, 290, 328, 342].

В дальнейшем нами проведен многофакторный анализ 3- и 5-летней общей выживаемости больных серозным РЯ в зависимости от гормонально-рецепторного фенотипа опухолей (рис. 2.33). Установлены статистически достоверные

межгрупповые различия выживаемости пациенток со следующим фенотипом: РЭ+РП+РТ+ и РЭ-РП-РТ- ($p = 0,006$), между РЭ+РП+РТ+ и РЭ+РП+РТ- ($p = 0,015$), между РЭ+РП+РТ+ и РЭ-РП-РТ+ ($p < 0,05$). Поэтому мы оценивали выживаемость больных, имеющих только перечисленные фенотипы серозного РЯ.

Пациентки с негативным гормонально-рецепторным фенотипом опухолей имели более высокие показатели 3- и 5-летней общей выживаемости, чем больные, имеющие положительный ГРС серозного РЯ: 67,8/44,5 % и 39,9/29,5 %, соответственно. У женщин с фенотипом опухоли РЭ+РП+РТ- показатели 3- и 5-летней выживаемости составили 60,5/49,2 %, тогда как показатели общей выживаемости больных с фенотипом серозного РЯ

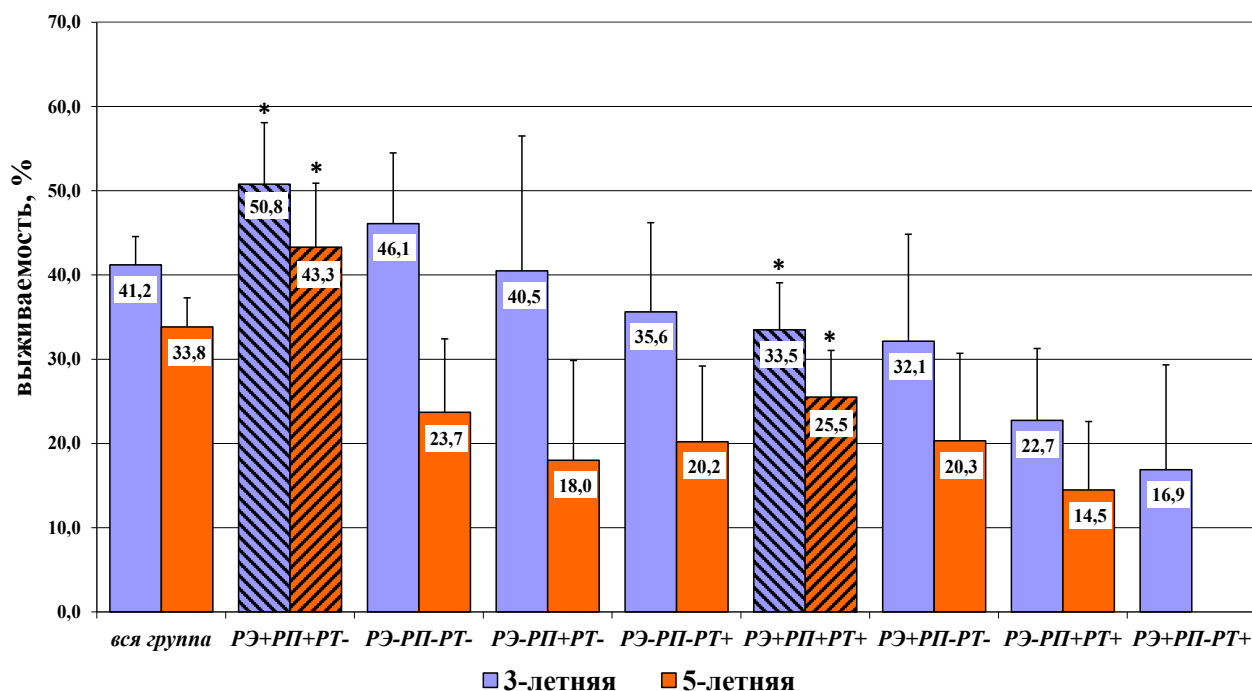


Рис. 2.34. Безрецидивная выживаемость больных серозным РЯ в зависимости от гормонально-рецепторного фенотипа опухолей. * $p < 0,05$ различия показателей выживаемости больных

РЭ+РП+РТ+ были 39,9/29,5 %. При этом кардинальная роль отводится наличию или отсутствию экспрессии РТ в опухолевых клетках яичника. Однако в группе пациенток с гормонально-рецепторным фенотипом опухолей, позитивным только по РТ, также отмечены более высокие показатели выживаемости (68,8/40,7 %) по сравнению с таковыми у больных серозным РЯ, позитивным по всем РСГ (39,9/29,5 %).

Таким образом, самые низкие показатели выживаемости наблюдались у пациенток с позитивным гормонально-рецепторным фенотипом опухолей.

При оценке безрецидивной выживаемости больных в зависимости от фенотипа серозного РЯ (рис. 2.34) получены достоверные межгрупповые различия только для опухолей с фенотипами РЭ+РП+РТ+ и РЭ+РП+РТ- ($p < 0,050$). Самый высокий показатель безрецидивной выживаемости отмечен у пациенток с фенотипом РЯ РЭ+РП+РТ-

(50,8/43,3 %) по сравнению с выживаемостью больных, имеющих позитивный ГРС опухоли (33,5/25,5 %), при этом ключевая роль отводится также наличию или отсутствию экспрессии РТ в опухолевых клетках яичника.

Оценивая прогностическое значение ГРС у больных серозным РЯ однофакторным Кокс-регрессионным методом (табл. 2.22), установлено, что экспрессия РТ в опухолях яичника повышает риск развития рецидива заболевания (HR 1,3; 95,0 % CI 0,9–1,7) и является неблагоприятным фактором течения опухолевого процесса (HR 1,3; 95,0 % CI 1,1–1,9).

Многофакторный анализ Кокс-регрессионной модели показал, что позитивный гормонально-рецепторный фенотип серозного РЯ повышает риск развития рецидива заболевания (HR 1,4; 95,0 % CI 1,1–1,7), достоверно ухудшает показатели выживаемости больных (HR 1,4; 95,0 % CI 1,1–1,8) и является фактором неблагоприятного течения опухоле-

вого процесса (см. табл. 2.22). Кроме того, достоверно более высокие показатели общей выживаемости больных с фенотипом серозного РЯ РЭ+РП+РТ– и безрецидивной выживаемости пациенток с фенотипом опухоли РЭ+РП+РТ– по сравнению с таковыми показателями у больных с позитивным ГРС РЯ указывают на то, что экспрессия РТ является независимым фактором неблагоприятного течения опухолевого процесса (HR 1,3; 95 % CI 1,1–1,9).

Представленные результаты нашего исследования продемонстрировали значимую корреляцию экспрессии РЭ, РП и РТ в клетках ЗОЯ, что согласуется с данными некоторых ранее проведенных исследований [8, 70, 201, 267].

Известно, что половые стероидные гормоны способны регулировать уровень не только собственных рецепторов, но и модулировать экспрессию рецепторов

других гормонов. Так, эстрадиол стимулирует экспрессию РП, тогда как последние снижают экспрессию РЭ в клетках репродуктивных органов. Более того, эстрадиол способен повысить уровень яичниковых андрогенных рецепторов в несколько раз [73, 126, 290, 402].

Наибольшая частота рецепторпозитивных опухолей отмечена у больных серозным РЯ постменопаузального периода, который по собственным наблюдениям и данным литературы характеризуется агрессивным клиническим течением и неблагоприятным прогнозом заболевания [141, 229, 378]. Кроме того, установлена прямая корреляционная связь между гормонально-рецепторным фенотипом серозного РЯ и возрастным периодом женщин. Такая аналогия по ГРС опухолей прослеживается и у больных РГЖ постменопаузального периода, однако, при люминальном А типе

Таблица 2.22

Показатели Кокс-регрессионного анализа общей и безрецидивной выживаемости больных серозным РЯ в зависимости от экспрессии РСГ и гормонально-рецепторного фенотипа опухолей

Рецепторный статус серозного РЯ	HR	95,0 %, CI		P
		нижний	верхний	
Общая выживаемость				
РЭ+ vs. РЭ–	1,3	1,0	1,8	0,24
РП+ vs. РП–	1,2	0,4	1,5	0,25
РТ+ vs. РТ–	1,3	1,1	1,9	0,01
РЭ+РП+РТ+ vs. РЭ–РП–РТ–	1,4	1,1	1,8	0,04
РЭ+РП+РТ+ vs. РЭ+РП+РТ–	1,4	1,1	1,8	0,04
РЭ–РП–РТ+ vs. РЭ+РП+РТ+	0,8	0,6	1,0	0,01
Безрецидивная выживаемость				
РЭ+ vs. РЭ–	1,2	0,8	1,5	0,23
РП+ vs. РП–	1,2	0,5	1,6	0,15
РТ+ vs. РТ–	1,3	0,9	1,7	0,04
РЭ+РП+РТ+ vs. РЭ–РП–РТ–	1,4	1,1	1,7	0,04
РЭ+РП+РТ+ vs. РЭ+РП+РТ–	1,1	0,5	1,8	0,20

Примечания:

HR – Hazard Ratio – отношение рисков выживаемости сравниваемых групп больных;

CI – Confidence Interval – доверительный интервал.

опухоли у больных РГЖ предполагается благоприятный прогноз заболевания [162, 163, 238, 250, 281, 337]. Таким образом, наибольшее количество больных серозным РЯ с позитивным ГРС, как по экспрессии всех РСГ, так и по гормонально-рецепторному фенотипу опухолей, наблюдалось в позднем постменопаузальном периоде. Это свидетельствует о возможной высокой чувствительности опухолевых клеток яичника к воздействию стероидных гормонов, большая часть которых образуется за счет внегонадной ароматизации андрогенов, у женщин этой возрастной категории [10–13, 324, 404].

Однофакторный анализ показал, что общая и безрецидивная выживаемость выше у больных с рецепторотрицательной опухолью по РЭ, РП, РТ, чем у пациенток с рецепторположительной. Однако достоверные различия показателей выживаемости отмечены только при наличии или отсутствии экспрессии РТ в опухолевых клетках яичника. При этом установлена прямая корреляционная связь между экспрессией РЭ, РТ и рецидивом серозного РЯ.

Полученными результатами установлена достоверно низкая общая и безрецидивная выживаемость больных серозным РЯ, фенотип которого был рецепторпозитивным для всех половых стероидных гормонов. Наиболее высокие показатели общей 5-летней выживаемости наблюдались у больных не только с фенотипом опухоли РЭ–РП–РТ–, но и с фенотипом РЭ+РП+РТ–. Безрецидивная выживаемость также была наиболее высокой у пациенток с фенотипом серозного РЯ РЭ+РП+РТ–, что может свидетельствовать об агрессивном клиническом течении заболевания у больных при наличии выраженной экспрессии РТ в клетках опухоли. Более того, учитывая данные Кокс-регрессионного однофакторного анализа, экспрессию РТ следует расценивать как независимый фактор неблагоприятного

течения серозного РЯ. Многофакторным анализом Кокс-регрессионной модели установлено, что позитивный гормонально-рецепторный фенотип серозного РЯ также является фактором неблагоприятного клинического течения опухолевого процесса.

Таким образом, представленные результаты продемонстрировали, что эндокринные факторы, гормонально-рецепторные изменения, как в яичниках, так и в других органах и тканях, где происходит внегонадная ароматизация андрогенов, могут являться весомым элементом не только патогенеза, но и важным прогностическим критерием у больных серозным РЯ постменопаузального периода, и представлять неотъемлемую часть общего механизма сложных эндокринно-обменных и молекулярно-генетических взаимодействий.

РЕЗЮМЕ

Положительный ГРС определен в серозном (РЭ – 66, 4 %, РП – 63,4 %, РТ – 53,0 %), муцинозном РЯ и в ОСПТ с высокой экспрессией всех РСГ. Однако наибольший процент рецепторположительных опухолей выявлен у больных с муцинозным РЯ (РЭ – 88,0 %, РП – 84,0 %, РТ – 60,0 %) и с ОСПТ (РЭ – 74,1 %, РП и РТ – 77,8 %), что подтверждается установленной корреляционной связью между морфологическим строением опухолей и экспрессией РСГ (РЭ – $r=0,364$, РП – $r=0,408$, РТ – $r=0,289$, $p<0,05$), и достоверными различиями между частотой экспрессии РЭ и РП в опухолях различного гистологического генеза ($p<0,05$).

Отмечена прямая связь между экспрессией РЭ, РП в ЗОЯ и возрастным периодом больных ($r=0,3$ для РЭ и РП, $p<0,05$), и слабая корреляция со стадией заболевания (РЭ – $r=-0,3$, РП – $r=-0,2$, $p<0,05$).

Установлено отсутствие влияния неoadъювантной химиотерапии на частоту экспрессии РСГ и не выявлено корреля-

ции экспрессии молекулярных рецепторов со степенью дифференциации опухолей яичника различного морфологического типа (РЭ – $r=-0,066$, $p=0,382$; РП – $r=0,02$, $p=0,789$; РТ – $r=0,054$, $p=0,444$).

Показана вариабельность опухолевых клеток по степени экспрессии РСГ в ЗОЯ различного гистогенеза, однако наибольшая часть опухолевых клеток яичника имели умеренную степень экспрессии РЭ, РП и РТ. Среди опухолевых клеток с высокой степенью позитивного окрашивания для РЭ, наибольшее количество регистрировали клетки муцинозного РЯ, а для РП и РТ – клетки ОСПТ.

У больных серозным РЯ постменопаузального периода наблюдалась наибольшая частота опухолей с позитивным гормонально-рецепторным фенотипом, особенно в поздней постменопаузе (52,4 и 39,0 %, соответственно, $p<0,05$). Определена прямая корреляционная связь между гормонально-рецепторным фенотипом серозного РЯ и возрастным периодом больных ($r=0,5$, $p=0,002$). Это позволяет предположить о высокой чувствительности серозного РЯ, как к эндогенным половым стероидам, так и к гормональной терапии больных постменопаузального периода.

Установлена прямая корреляционная связь между экспрессией РЭ ($r=0,212$, $p=0,019$), РТ ($r=0,198$, $p=0,041$) и рецидивом серозного РЯ. Однофакторный анализ показал достоверно низкую 5-летнюю общую и безрецидивную выживаемость больных РЯ с опухолевой экспрессией РТ ($p=0,035$ и $p<0,05$, соответственно).

Многофакторным анализом установлена достоверно низкая 5-летняя общая выживаемость больных с позитивным гормонально-рецепторным фенотипом серозного РЯ ($29,5\pm3,4$ %), чем у пациенток с негативным гормонально-рецепторным фенотипом опухолей ($44,5\pm3,7$ %) ($p<0,05$).

Позитивный ГРС (HR 1,4; 95 % CI 1,1–1,8), как и выраженная экспрессия РТ (HR 1,3; 95 % CI 1,1–1,9) в серозном РЯ, являются факторами неблагоприятного течения опухолевого процесса.

ГРС ЗОЯ можно рассматривать как критерий для решения вопроса о применении гормональной терапии в качестве компонента комплексного лечения больных, что требует проведения дальнейших крупных многоцентровых исследований в этом направлении.

РАЗДЕЛ 2.3

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ HER-2/neu В КЛЕТКАХ СЕРОЗНОГО РАКА ЯИЧНИКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГОРМОНАЛЬНОГО РЕЦЕПТОРНОГО СТАТУСА ОПУХОЛЕЙ

Цель данного исследования – изучить экспрессию HER-2/neu в клетках серозного РЯ, сопоставить результаты с ГРС опухолей и оценить их клиническое и прогностическое значение. Материалом исследования служили результаты ретроспективного анализа историй болезни 104 больных серозным РЯ III стадии и парафиновые блоки их операционного материала. Всем больным проведено комбинированное лечение в период 2001–2009 гг., которое заключалось в проведении циторедуктивной операции с последующей химиотерапией в адъювантном режиме. Поскольку в исследовании принимали участие пациентки большого интервала времени, то в адъювантном режиме были использованы различные схемы химиотерапии, поэтому мы не изучали влияние последней на выживаемость больных при экспрессии HER-2/neu в клетках опухоли яичника. Анализируя истории болезни 104 больных серозным РЯ, учитывали их возраст, степень дифференциации опухолей, рецидивы заболевания.

Иммуногистохимическое исследование экспрессии HER-2/neu в клетках яичника больных ретроспективного исследования также проводили на парафиновых срезах толщиной 4–5 микрон, которые помещали на стекла, обработанные поли-L-лизин. В качестве первичного антитела использовали МКАТ, специфичное к HER-2/neu (табл. 2.23).

Для визуализации результатов реакции использовали набор реактивов En Vision system (DakoLSAB2 system, Denmark) в соответствии с рекомендациями производителя, срезы докрашивали гематоксилином Майера. Для оценки экспрессии HER-2/neu применяли полуколичественный метод. При наличии специфического мембранно-цитоплазматического окрашивания для HER-2/neu определяли количество иммунопозитивных и иммунонегативных клеток в процентах. В каждом гистологическом препарате анализировали экспрессию HER-2/neu в 1000 клеток.

Степень экспрессии рецептора HER-2/neu оценивали в баллах: 0/1+ – отсутствие или слабое окрашивание цитоплазмы и мембраны клеток яичника, 2+ – умеренная степень равномерного окрашивания цитоплазмы и мембраны клеток яичника, 3+ – высокая степень экспрессии и 4+ – гиперэкспрессия клеток яичника с интенсивно окрашенной цитоплазмой и мембраной. За положительную экспрессию HER-2/neu считали более 10 % клеток яичника с умеренной и высокой степенью равномерно окрашенной мембраны и цитоплазмы клетки [281].

В качестве положительного контроля применяли МКАТ против панцитокератинов, в качестве отрицательного контроля – забуференный физиологический раствор, который вместо МКАТ наносили на гистологические срезы.

Таблица 2.23

Моноклональное антитело, специфичное к HER-2/neu

Молекулярный маркер	МКАТ	Клон	Каталожный номер	Разведение	Видо-специфичность	Фирма и страна
HER-2/neu	Anti-c-erbB2	Clone SP3	RM-9103-R7	1:100	Human	Thermo Scientific, USA

2.3.1. Характеристика больных по HER-2/neu-статусу и клинико-морфологическим показателям серозного рака яичника

По результатам иммуногистохимической экспрессии HER-2/neu серозный РЯ распределился на HER-2/neu-негативный (40/38,4 %) и HER-2/neu-позитивный (64/61,6 %), преобладали опухоли с HER-2/neu-позитивным статусом. В HER-2/neu-позитивной опухоли

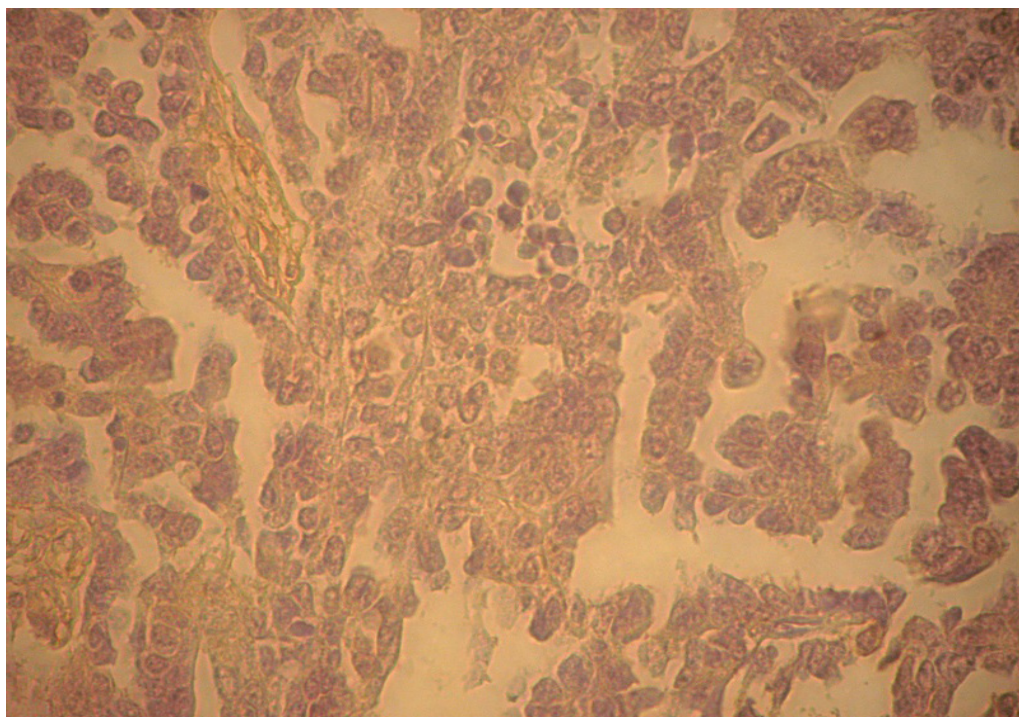
ли выделили разную степень экспрессии маркера: HER-2/neu 2+ опухоль отмечена у 16,4 %, HER-2/neu 3+ – у 21,2 %, HER-2/neu 4+ – у 25,0 % больных (рис. 2.35).

Возраст женщин с серозным РЯ колебался от 19 до 72 лет, составляя в среднем $51,7 \pm 0,8$ год (табл. 2.24). Достоверные различия по возрасту отмечены только между пациентками с HER-2/neu-позитивным статусом (2+) и HER-2/neu-негативным РЯ ($p=0,02$).

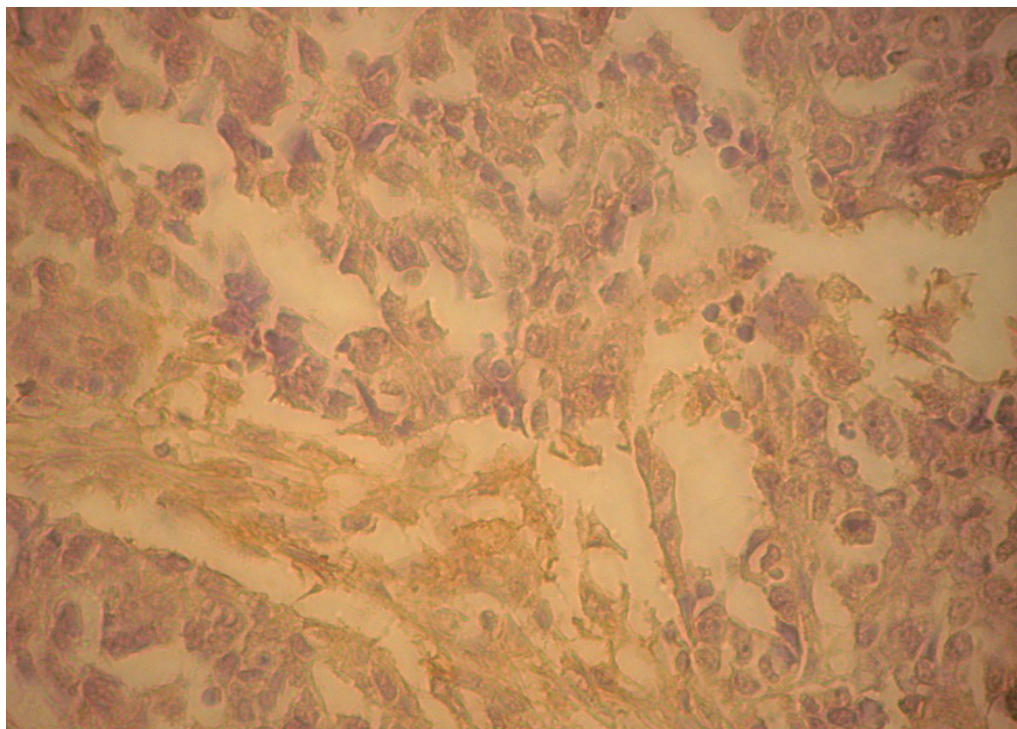
Таблица 2.24

Характеристика больных серозным РЯ по HER-2/neu-статусу и возрасту (n=104)

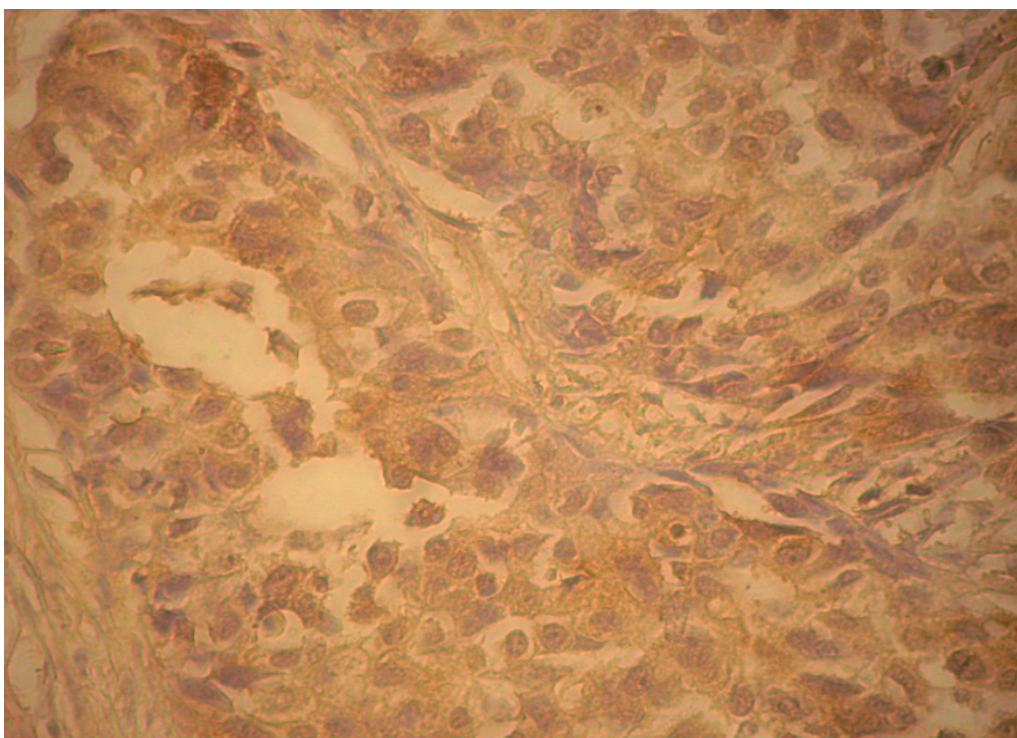
HER-2/neu-статус опухоли	Количество больных		Средний возраст/колебания, годы
	n	%	
HER-2/neu-негативный	40	38,4	$48,0 \pm 2,2/19-72$
HER-2/neu-позитивный	64	61,6	$53,3 \pm 1,5/21-71$
HER-2/neu 2+	16	16,4	$57,1 \pm 3,1/24-71$
HER-2/neu 3+	22	21,2	$50,2 \pm 2,5/22-71$
HER-2/neu 4+	26	25,0	$53,7 \pm 2,4/21-70$
Всего	104	100,0	$51,7 \pm 0,8/19-72$



А



Б



В

Рис. 2.35. Серозный РЯ. Экспрессия HER-2/неu в опухолевых клетках, × 400

Примечания:

А – экспрессия HER-2/неu 2+; Б – экспрессия HER-2/неu 3+; В – экспрессия HER-2/неu 4+.

Анализируя HER-2/neu-статус РЯ в зависимости от возрастных периодов женщин, мы отметили, что в репродуктивном и перименопаузальном возрасте процент HER-2/neu-позитивных и негативных опухолей был одинаков, составляя в среднем по 50,0 % (табл. 2.25).

Однако в постменопаузальном периоде наблюдалась наибольшая частота HER-2/neu-позитивного РЯ (73,3 %), особенно в поздней постменопаузе (19/57,6 %), при этом у 42,4 % больных выявлена HER-2/neu 4+ опухоль. Как установлено нами ранее и данными других исследований, пациентки с серозным РЯ именно в постменопаузальном пери-

оде имеют более агрессивное течение и неблагоприятный прогноз заболевания [4, 5, 29]. Однако статистический анализ показал отсутствие достоверных различий между экспрессией HER-2/neu в опухоли яичника и возрастным периодом больных ($p=0,9$), а также ранговой корреляционной связи между ними ($r=-0,018$, $p=0,84$) (табл. 2.32).

Одним из информативных показателей, имеющих значение для клинического течения опухолевого процесса, имеет степень дифференциации опухолей. Распределение больных серозным РЯ по HER-2/neu-статусу и степени дифференциации опухолей представлено в таблице 2.26.

Таблица 2.25

Распределение больных серозным РЯ по HER-2/neu-статусу в зависимости от возрастного периода (n=104)

Возрастной период	Общее количество больных		HER-2/neu-негативный статус опухоли		HER-2/neu-позитивный статус опухоли	
	n	%	n	%	n	%
Репродуктивный	32	30,8/100,0	16	50,0	16	50,0
Перименопауза	27	26,0/100,0	12	44,5	15	55,5
Постменопауза	45	43,3/100,0	12	26,7	33	73,3
Ранняя постменопауза	18	17,3/100,0	4	22,2	14	77,8
Поздняя постменопауза	27	26,0/100,0	8	29,6	19	70,4

Таблица 2.26

Распределение больных серозным РЯ по HER-2/neu-статусу и степени дифференциации опухолей (n=104)

HER-2/neu-статус опухоли	Количество больных		Степень дифференциации опухоли					
			высокая		умеренная		низкая	
	n	%	n	%	n	%	n	%
HER-2/neu-негативный	40	38,4	9	22,5	13	32,5	18	45,0
HER-2/neu-позитивный	64	61,6	12	18,8	17	26,6	35	54,6
HER-2/neu 2+	16	16,4	4	25,0	4	25,0	8	50,0
HER-2/neu 3+	22	21,2	4	18,2	4	18,2	14	63,6
HER-2/neu 4+	26	25,0	4	15,4	9	34,6	13	50,0
Всего	104	100,0	21	20,2	30	28,8	53	51,0

Как свидетельствуют данные этой таблицы, у больных РЯ с HER-2/неу-позитивным и негативным статусом опухолей преобладала низкая степень дифференциации, частота которой была больше у пациенток с HER-2/неу-позитивной опухолью (54,6 %) по сравнению с таковой у больных с HER-2/неу-негативной (45,0 %). При этом частота высокой и умеренной степени дифференциации серозного РЯ преобладала у пациенток с HER-2/неу-негативной опухолью (22,5 % и 32,5 % против 18,8 % и 26,6 %). Однако статистическим анализом (см. табл. 2.32) не выявлено достоверной корреляционной связи между экспрессией HER-2/неу и степенью дифференциации опухолей ($r=-0,015$, $p=0,88$).

2.3.2. Анализ выживаемости больных в зависимости от HER-2/неу-статуса серозного рака яичника

Средняя длительность наблюдения исследуемых больных составила $33,3 \pm 0,2$ месяца. Достоверно больше дли-

тельность наблюдения отмечена у больных с HER-2/неу-негативной опухолью ($38,6 \pm 3,7$) по сравнению с пациентками, имеющими HER-2/неу-позитивный серозный РЯ ($29,9 \pm 2,6$) ($p=0,0073$). У 70 (67,3 %) больных установлен рецидив заболевания, среди них преобладали пациентки с HER-2/неу-позитивной опухолью (53/75,7 %), что свидетельствует об агрессивном течении и неблагоприятном прогнозе у больных РЯ с HER-2/неу-позитивным статусом. Показатели выживаемости пациенток в зависимости от HER-2/неу-статуса серозного РЯ представлены в таблице 2.27.

Как видно из таблицы 2.27, средний безрецидивный период у больных с HER-2/неу-позитивной опухолью ($25,3 \pm 1,0$ месяцев) был достоверно меньшим по сравнению с таковым у пациенток с HER-2/неу-негативным РЯ ($35,5 \pm 0,6$ месяцев, $p=0,01$). Подобная тенденция установлена при оценке медианы общей и безрецидивной выживаемости сравниваемых групп больных (27,5 и 23,9 против 38,9 и 34,1 месяца, $p=0,01$). Межгрупповые различия пока-

Таблица 2.27

Характеристика больных серозным РЯ по HER-2/неу-статусу и показателям выживаемости (n=104)

HER-2/неу – статус опухоли	Количество больных		Средний безрецидивный период, месяцы	Медиана общей выживаемости, месяцы	Медиана безрецидивной выживаемости, месяцы
	n	%			
HER-2/неу-негативный	40	38,4	$35,5^* \pm 0,6$	$38,9^* \pm 0,6$	$34,1^* \pm 0,6$
HER-2/неу-позитивный	64	61,6	$25,3^* \pm 1,0$	$27,5^* \pm 0,3$	$23,9^* \pm 0,3$
HER-2/неу 2+	16	16,4	$25,6 \pm 1,1$	$24,8 \pm 1,1$	$24,8 \pm 1,1$
HER-2/неу 3+	22	21,2	$25,4 \pm 1,2$	$23,2 \pm 0,9$	$19,5 \pm 1,2$
HER-2/неу 4+	26	25,0	$25,0 \pm 0,7$	$35,1 \pm 0,8$	$24,7 \pm 0,7$
Всего	104	100,0	$29,2 \pm 0,2$	$30,1 \pm 0,2$	$29,2 \pm 0,2$

Примечание. * $p < 0,05$ различия показателей выживаемости больных

зателей медианы общей и безрецидивной выживаемости пациенток с HER-2/неу-позитивной опухолью с разной степенью экспрессии маркера были статистически недостоверными ($p > 0,05$).

В связи с полученными данными приобретают значения результаты однофакторного анализа общей и безрецидивной выживаемости больных РЯ в зависимости от экспрессии HER-2/неу (табл. 2.28, рис. 2.36–2.39).

Как свидетельствуют данные таблицы 2.28, 3- и 5-летняя выживаемость пациенток с HER-2/неу-негативным статусом достоверно выше, чем у больных с HER-2/неу-позитивной опухолью ($p = 0,00015$), что отмечено и при оценке выживаемости пациенток с различной степенью экспрессии HER-2/неу ($p = 0,007$). Такая же тенденция наблюдалась и при сравнении 3- и 5-летней безрецидивной выживаемости больных с негативным и позитивным HER-2/неу-статусом опухолей ($p = 0,0001$), при этом достоверно низкие показатели выживаемости наблюдались у всех больных РЯ с различной степенью экспрессии HER-2/неу ($p = 0,01$). Сравнивая 3- и 5-летнюю выживаемость среди больных РЯ, имеющих разную степень экспрессии HER-2/неу (2+, 3+, 4+),

установлено, что различия между показателями недостоверны ($p = 0,49$, $p = 0,71$, $p = 0,26$, соответственно).

Важным заключением этого фрагмента исследований явились результаты статистического анализа – обнаружена ранговая корреляционная связь между экспрессией HER-2/неу в опухоли яичника и риском возникновения рецидива заболевания ($r = 0,162$, $p = 0,04$) (см. табл. 2.32). Оценивая прогностическое значение HER-2/неу-статуса у больных серозным РЯ Кокс-регрессионным методом, также установлено, что общая (HR 1,4; 95 % CI 1,1–2,0) и безрецидивная (HR 1,8; 95 % CI 1,1–2,4) выживаемость достоверно выше у пациенток с HER-2/неу-негативной опухолью. Анализ выживаемости по Кокс-регрессионной модели представлен в таблице 2.29.

Представленные результаты показали, что наибольшее количество больных серозным РЯ имели HER-2/неу-позитивную опухоль (61,6 %), из них у 46,2 % наблюдалась высокая степень и гиперэкспрессия этого маркера. У больных РЯ с HER-2/неу-позитивным статусом отмечена достоверно низкая общая и безрецидивная выживаемость,

Таблица 2.28

**Показатели общей и безрецидивной выживаемости больных
в зависимости от HER-2/неу-статуса серозного РЯ**

HER-2/неу-статус опухоли	Общая выживаемость, %		Безрецидивная выживаемость, %	
	3-летняя	5-летняя	3-летняя	5-летняя
HER-2/неу-негативный	66,8*±8,0	50,7*±10,4	61,2*±8,2	47,5*±10,7
HER-2/неу-позитивный	33,8*±6,2	14,7*±5,0	23,7*±5,6	11,5*±4,6
HER-2/неу 2+	25,5±12,3	7,3±7,9	25,7±12,2	7,9±6,4
HER-2/неу 3+	21,4±9,3	–	16,7±8,5	6,3±5,5
HER-2/неу 4+	45,9±9,8	17,7±8,0	26,9±8,7	4,1±5,1

Примечание. * $p < 0,05$ различия показателей выживаемости больных

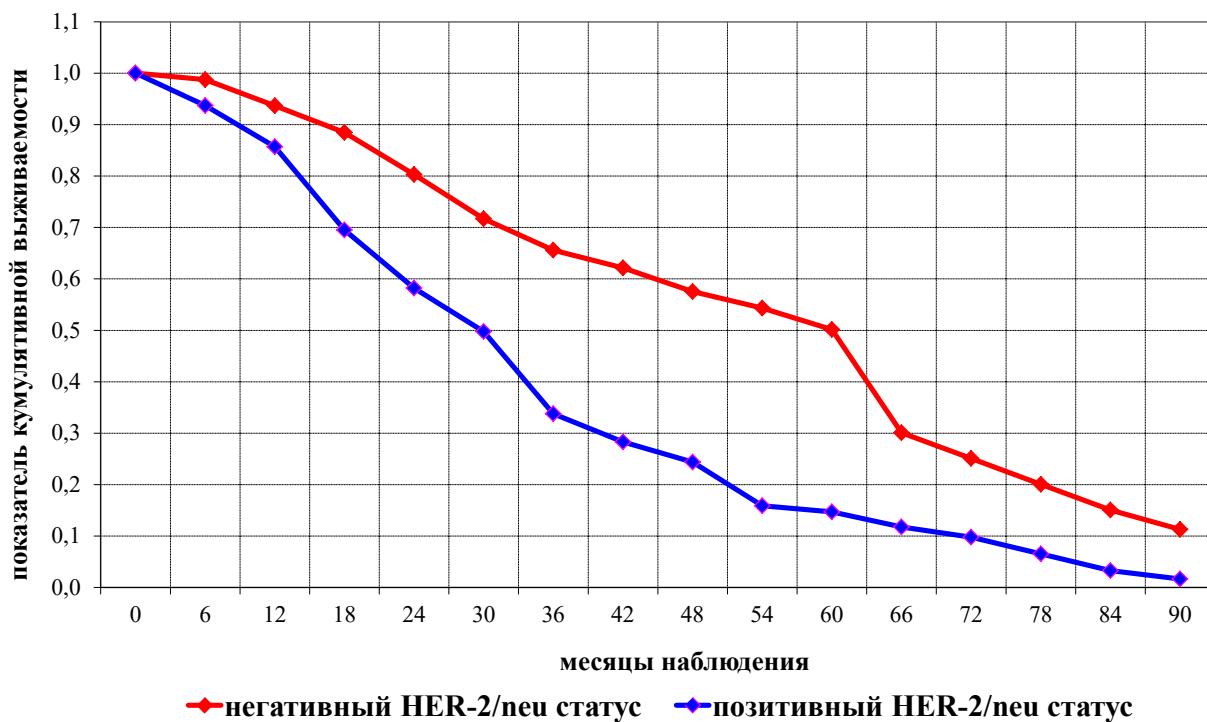


Рис. 2.36. Общая выживаемость больных серозным РЯ с HER-2/neu-позитивным и негативным статусом. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, $\log\text{-rank}$ критерий, $p=0,00015$

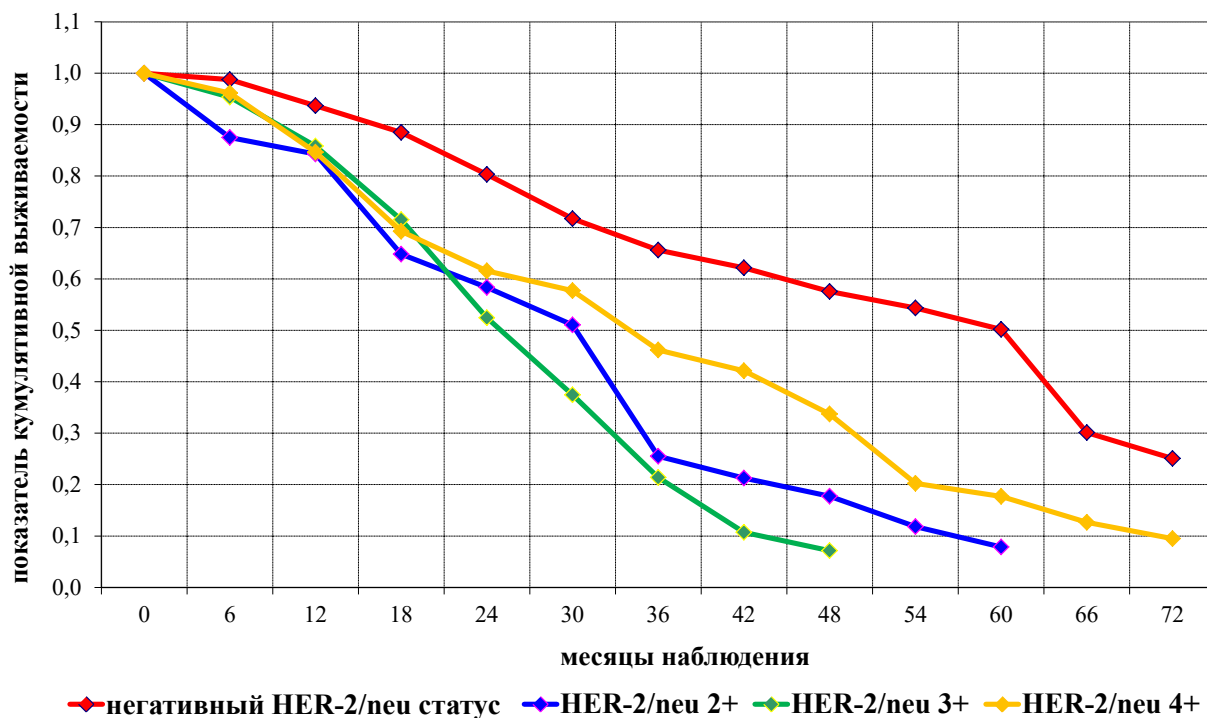


Рис. 2.37. Общая выживаемость больных серозным РЯ с различной степенью экспрессии маркера и HER-2/neu-негативным статусом. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, χ^2 критерий, $p=0,007$

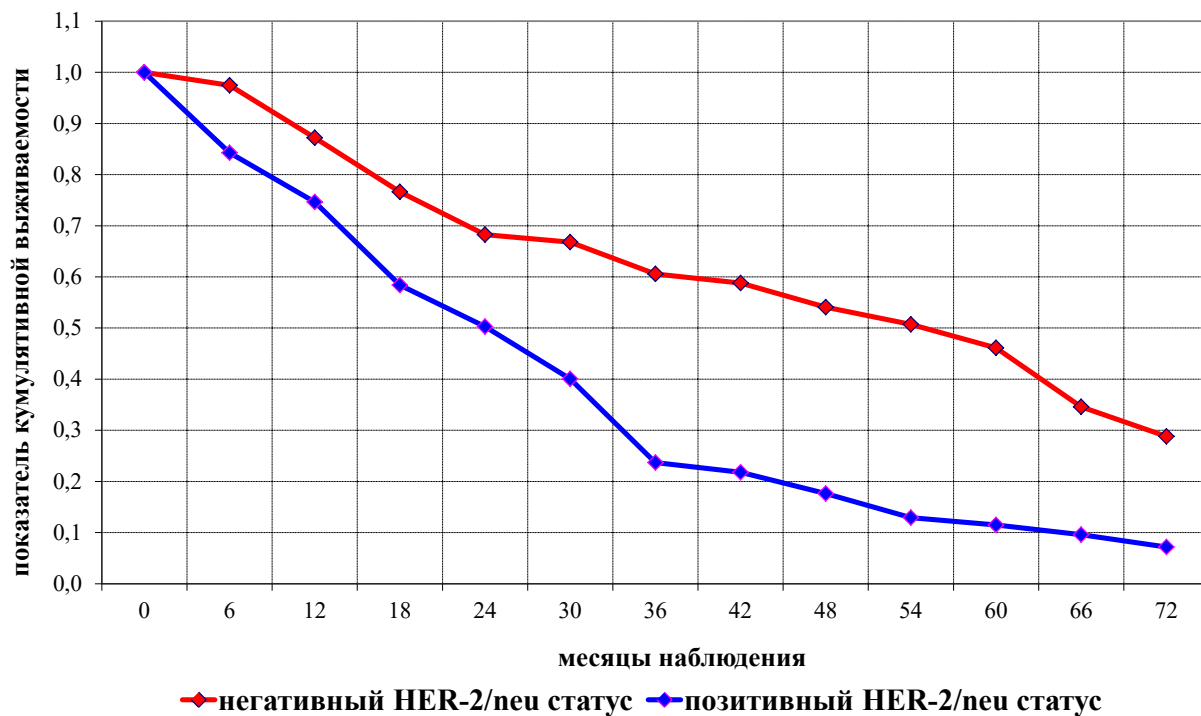


Рис. 2.38. Безрецидивная выживаемость больных серозным РЯ с HER 2/neu-позитивным и негативным статусом. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, \log -rank критерий, $p=0,0001$

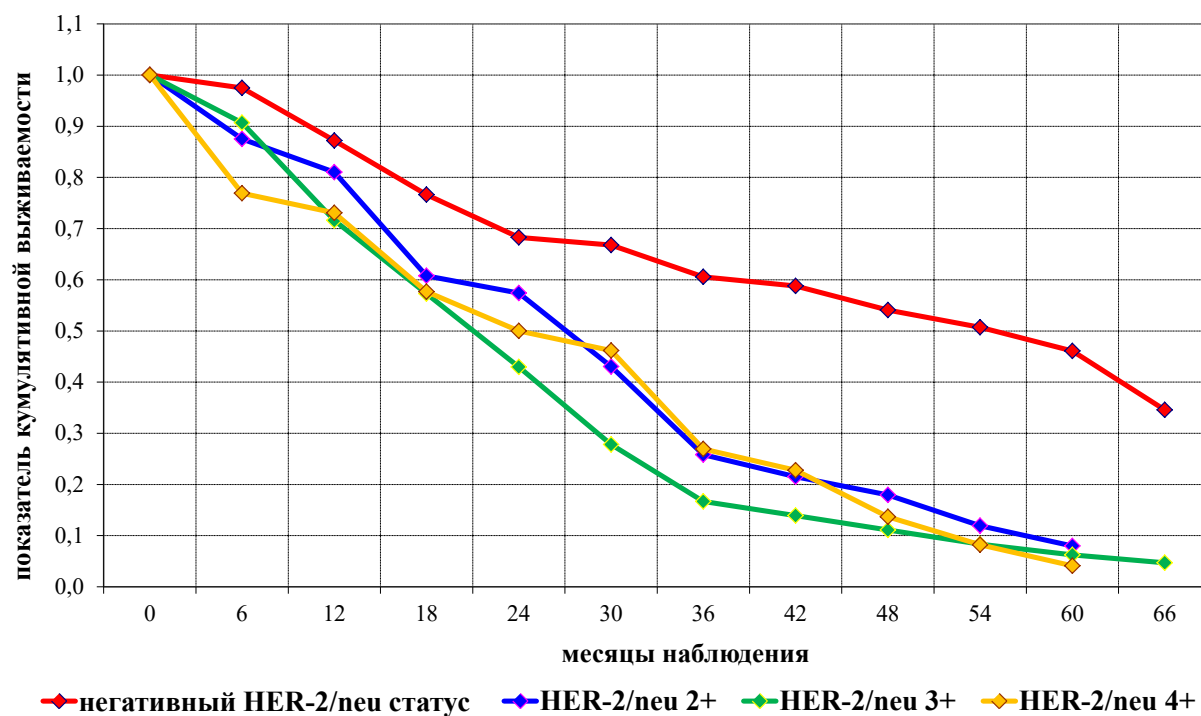


Рис. 2.39. Безрецидивная выживаемость больных серозным РЯ с различной степенью экспрессии маркера и HER-2/neu-негативным статусом. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, χ^2 критерий, $p=0,01$

Таблица 2.29

Показатели Кокс-регрессионного анализа общей и безрецидивной выживаемости больных в зависимости от HER-2/neu-статуса серозного РЯ

Рецепторный статус серозного РЯ	HR	95,0 %, CI		p
		нижний	верхний	
Общая выживаемость				
HER-2/neu позитивный & HER-2/neu негативный статус опухоли	1,4	1,1	2,0	0,004
HER-2/neu позитивный PЭ+ & HER-2/neu позитивный PЭ- статус опухоли	1,4	1,0	1,5	0,194
HER-2/neu позитивный PП+ & HER-2/neu позитивный PП- статус опухоли	1,0	0,8	1,3	0,294
HER-2/neu позитивный PT+ & HER-2/neu позитивный PT- статус опухоли	1,7	1,5	2,0	0,047
HER-2/neu негативный PT+ & HER-2/neu негативный PT- статус опухоли	1,9	1,6	2,5	0,019
HER-2/neu позитивный PT+ & HER-2/neu негативный PT+ статус опухоли	1,0	0,5	1,7	0,296
Безрецидивная выживаемость				
HER-2/neu позитивный & HER-2/neu негативный статус опухоли	1,8	1,1	2,4	0,003
HER-2/neu позитивный PЭ+ & HER-2/neu позитивный PЭ- статус опухоли	1,4	0,9	1,8	0,153
HER-2/neu позитивный PП+ & HER-2/neu позитивный PП- статус опухоли	1,2	1,0	1,7	0,244
HER-2/neu позитивный PT+ & HER-2/neu позитивный PT- статус опухоли	1,9	1,6	2,3	0,037
HER-2/neu негативный PT+ & HER-2/neu негативный PT- статус опухоли	2,3	2,0	3,4	0,003
HER-2/neu позитивный PT+ & HER-2/neu негативный PT+ статус опухоли	1,1	0,9	1,6	0,258

Примечания:

HR – отношение рисков выживаемости сравниваемых групп больных;

CI – доверительный интервал

что подтверждается установленной корреляционной связью между экспрессией HER-2/neu в опухоли яичника и риском рецидива заболевания. Поэтому позитивные HER-2/neu опухоли следует рассматривать как прогностический фактор неблагоприятного течения опухолевого процесса независимо от степени дифференциации РЯ и возраста больных.

2.3.3. Изучение экспрессии HER-2/neu в клетках опухоли в зависимости от гормонального рецепторного статуса серозного рака яичника

Провели сопоставление результатов экспрессии HER-2/neu с экспрессией РСГ в опухолевых клетках серозного РЯ. Как свидетельствуют данные таблицы 2.30, среди исследованных опухолей

выделены рецепторотрицательные и рецепторположительные для всех стероидных гормонов с количественным преобладанием последних независимо от HER-2/neu-статуса опухоли. При этом, различия между частотой экспрессии стероидных рецепторов и степенью экспрессии HER-2/neu статистически недостоверны (для РЭ $p=0,4$, РП – $p=0,1$, РТ – $p=0,4$). Установлено отсутствие ранговой корреляционной связи между экспрессией РСГ и HER-2/neu в опухолевых клетках (для РЭ – $r=-0,154$, $p=0,2$, РП – $r=-0,186$, $p=0,1$, РТ – $r=-0,115$, $p=0,3$) (см. табл. 2.32).

Поскольку клиническое течение РЯ определяют молекулярно-биологиче-

ские свойства опухоли, в частности, вариабельность маркерного фенотипа опухолевых клеток, это послужило основанием для оценки экспрессии HER-2/neu в зависимости от гормонально-рецепторного фенотипа серозного РЯ. Многофакторный анализ проведен для пациенток, имеющих фенотипы РЯ РЭ+РП+РТ+, РЭ+РП+РТ–, РЭ–РП–РТ–, РЭ–РП–РТ+, поскольку с данными фенотипами опухолей наблюдали наибольшее количество больных (табл. 2.31).

Как свидетельствуют данные таблицы 2.31, преобладали больные РЯ с положительным ГРС опухоли для всех стероидных гормонов (42/40,4 %), что согласо-

Таблица 2.30

Распределение больных серозным РЯ
в зависимости от HER-2/neu-статуса и экспрессии РСГ в опухолях (n=104)

HER-2/neu-статус опухоли	Общее количество больных		Экспрессия рецепторов стероидных гормонов											
			РЭ				РП				РТ			
			РЭ+		РЭ–		РП+		РП–		РТ+		РТ–	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
HER-2/neu негативный	40	38,4/100,0	27	67,5	13	32,5	23	57,5	17	42,5	22	55,0	18	45,0
HER-2/neu позитивный	64	61,6/100,0	39	60,9	25	39,1	46	71,9	18	28,1	39	60,9	25	39,1

Таблица 2.31

Распределение больных серозным РЯ по HER-2/neu-статусу
и гормонально-рецепторному фенотипу опухолей (n=87)

Фенотип опухоли по ГРС	Общее количество больных		Распределение больных РЯ по HER-2/neu статусу			
			HER-2/neu-негативный		HER-2/neu-позитивный	
	n	%	n	%	n	%
РЭ+РП+РТ+	42	40,4/100,0	13	31,0	29	69,0
РЭ+РП+РТ–	17	16,3/100,0	8	47,1	9	52,9
РЭ–РП–РТ+	12	11,5/100,0	6	50,0	6	50,0
РЭ–РП–РТ–	16	15,4/100,0	5	31,2	11	68,8
Всего	87/83,7		32/30,8		55/52,9	

Таблица 2.32

Ранговые корреляции Гамма между экспрессией HER-2/neu, PСГ, гормонально-рецепторным фенотипом серозного РЯ и клинико-морфологическим показателями (n=104)

Показатель	Коэффициент корреляции	p
HER-2/neu & PЭ	-0,154	0,1750
HER-2/neu & PП	0,186	0,1100
HER-2/neu & PТ	0,115	0,3052
HER-2/neu & фенотип опухоли по ГРС	-0,101	0,2584
HER-2/neu & степень дифференциации опухоли	-0,015	0,8767
HER-2/neu & возрастной период	-0,018	0,8371
HER-2/neu & рецидив заболевания	0,462	0,0381

ется с данными литературы [8, 70, 174, 201, 267]. Среди пациенток с положительным ГРС 69,0 % имели HER-2/neu-позитивную опухоль, при этом у 47,6 % больных наблюдался HER-2/neu 3+ и 4+ статус. Как установлено нами ранее [395, 398], положительный ГРС серозного РЯ является предиктивным фактором неблагоприятного течения опухолевого процесса. Однако статистический анализ показал отсутствие достоверных различий между показателями экспрессии HER-2/neu и ГРС опухолей ($p=0,15$), а также достоверной ранговой корреляционной связи между ними ($r=-0,101$, $p=0,26$) (см. табл. 2.32).

2.3.4. Анализ выживаемости больных в зависимости от экспрессии HER-2/neu и гормонального рецепторного статуса серозного рака яичника

Многофакторный анализ 3- и 5-летней общей выживаемости больных серозным РЯ проведен в зависимости от экспрессии HER-2/neu и всех PСГ в клетках опухолей (рис. 2.40–2.45). Показатели 3- и 5-летней выживаемости больных представлены в таблице 2.33, данные ко-

торой свидетельствуют, что 3- и 5-летняя выживаемость была достоверно выше у больных с HER-2/neu-негативной опухолью независимо от экспрессии всех PСГ (результаты достоверности представлены на рис. 2.40–2.45). Исключение составили больные с рецепторположительной опухолью для тестостерона, у которых различия показателей общей выживаемости по HER-2/neu-статусу оказались недостоверными ($p=0,06$).

Исходя из данных таблиц 2.29 и 2.32, следует, что экспрессия PТ является независимым фактором неблагоприятного прогноза у больных РЯ с различным HER-2/neu-статусом опухоли. Как установлено нами ранее [395, 398], выраженная экспрессия PТ у больных серозным РЯ является предиктивным фактором агрессивного течения и неблагоприятного прогноза заболевания. Статистический анализ показал, что различия показателей общей выживаемости больных РЯ по HER-2/neu-статусу в зависимости от экспрессии стероидных рецепторов не имеют достоверности (для PЭ – $p=0,43$ (HER-2/neu-негативная опухоль) и $p=0,71$ (HER-2/neu-позитивная опухоль), PП – $p=0,92$ и $p=0,45$, PТ – $p=0,09$ и $p=0,97$, соответственно).

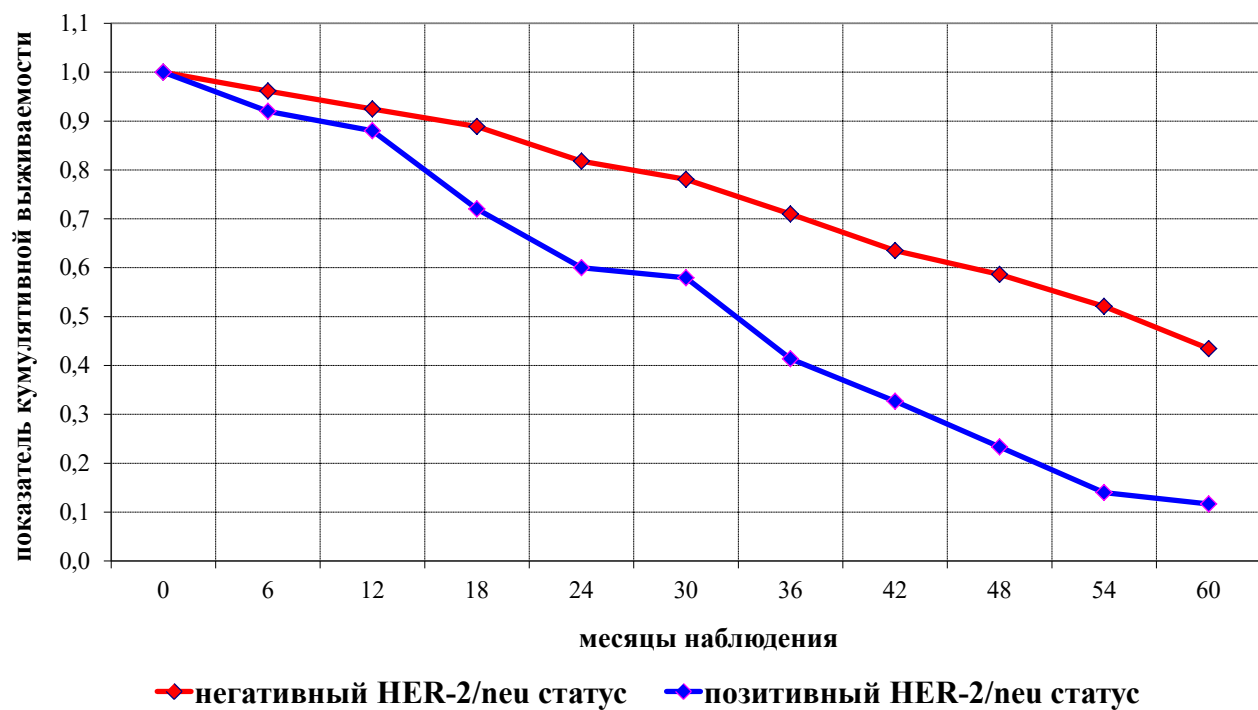


Рис. 2.40. Общая выживаемость больных серозным РЯ с различным HER-2/neu-статусом при отсутствии экспрессии РЭ. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,0007$

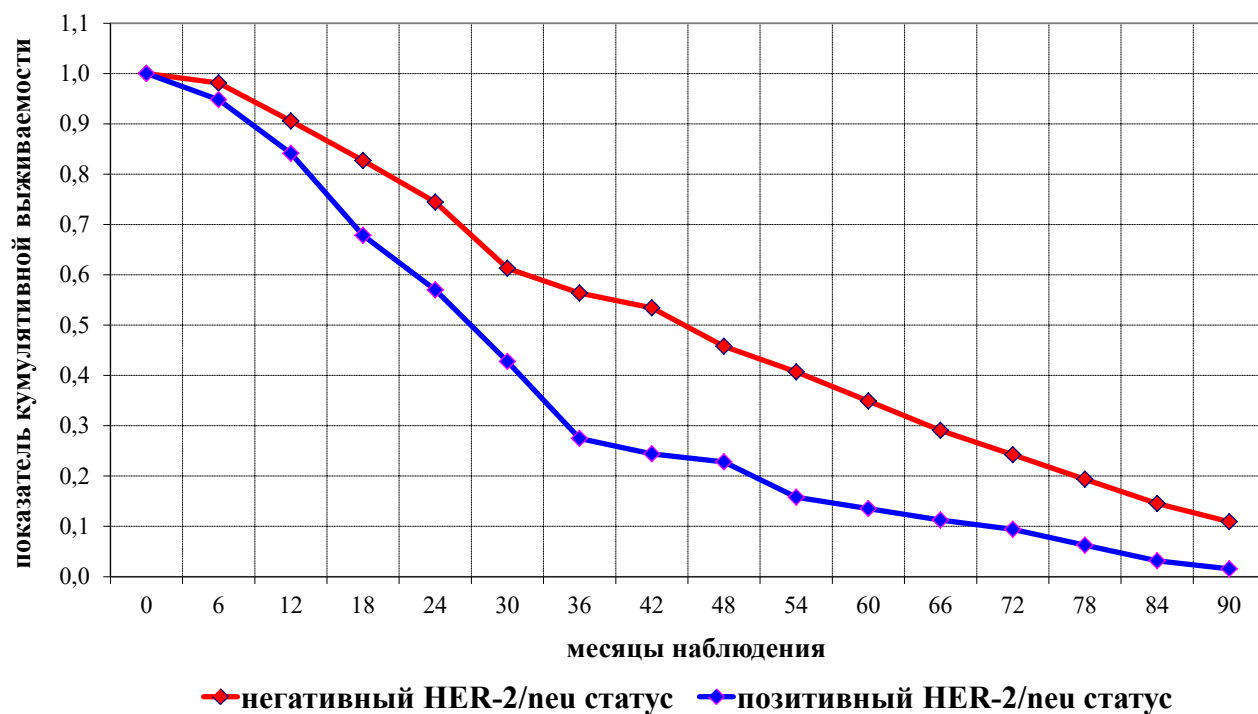


Рис. 2.41. Общая выживаемость больных серозным РЯ с различным HER-2/neu-статусом при положительной экспрессии РЭ. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,009$

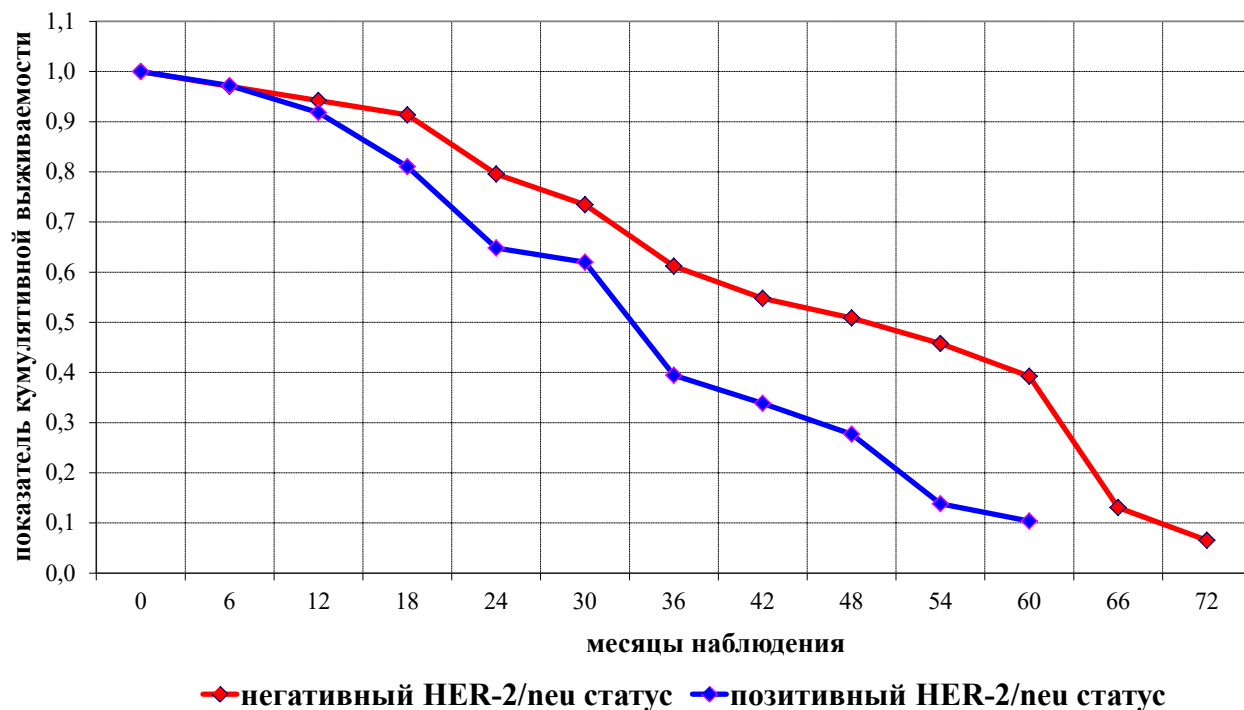


Рис. 2.42. Общая выживаемость больных серозным РЯ с различным HER-2/neu-статусом при отсутствии экспрессии РП. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,02$

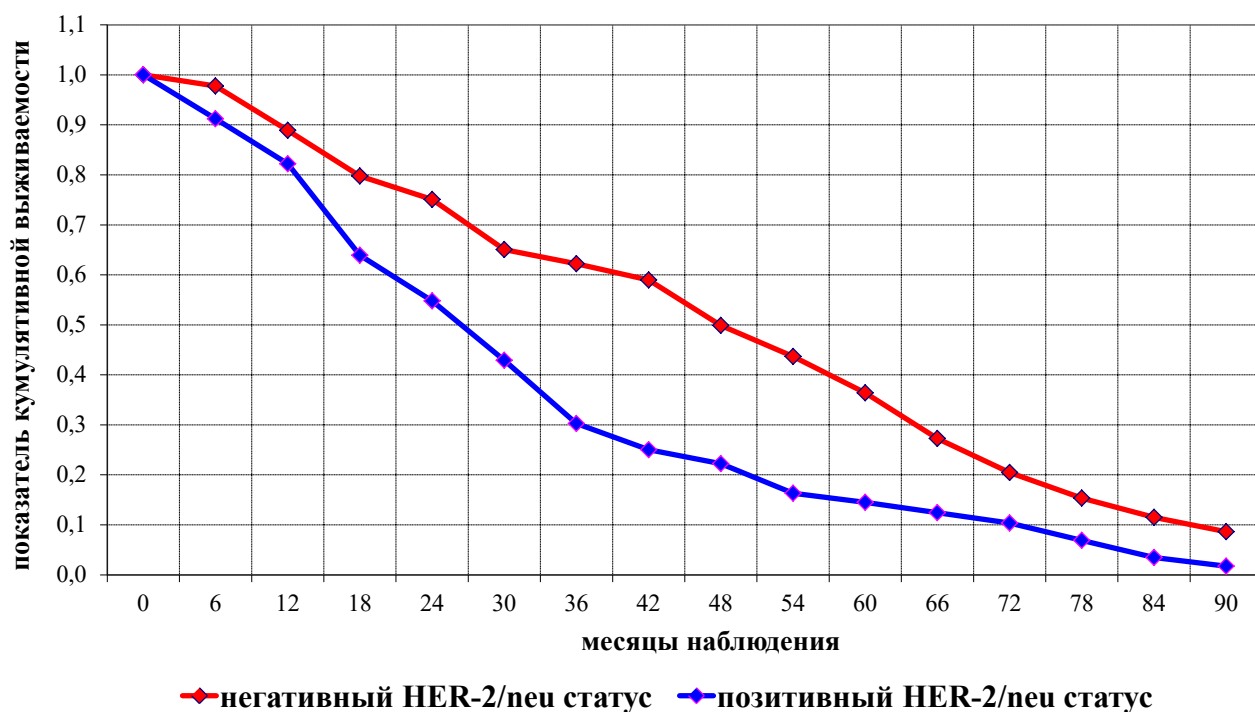


Рис. 2.43. Общая выживаемость больных серозным РЯ с различным HER-2/neu-статусом при положительной экспрессии РП. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,002$

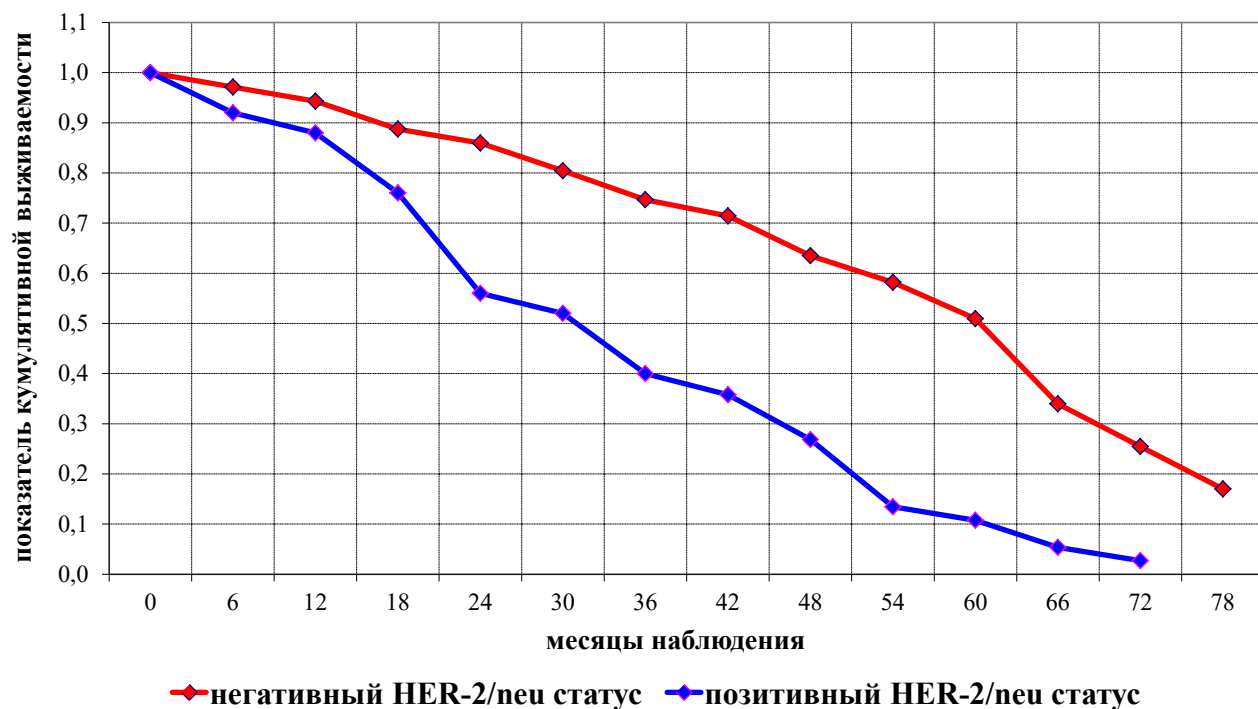


Рис. 2.44. Общая выживаемость больных серозным РЯ с различным HER-2/neu-статусом при отсутствии экспрессии РТ. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,0002$

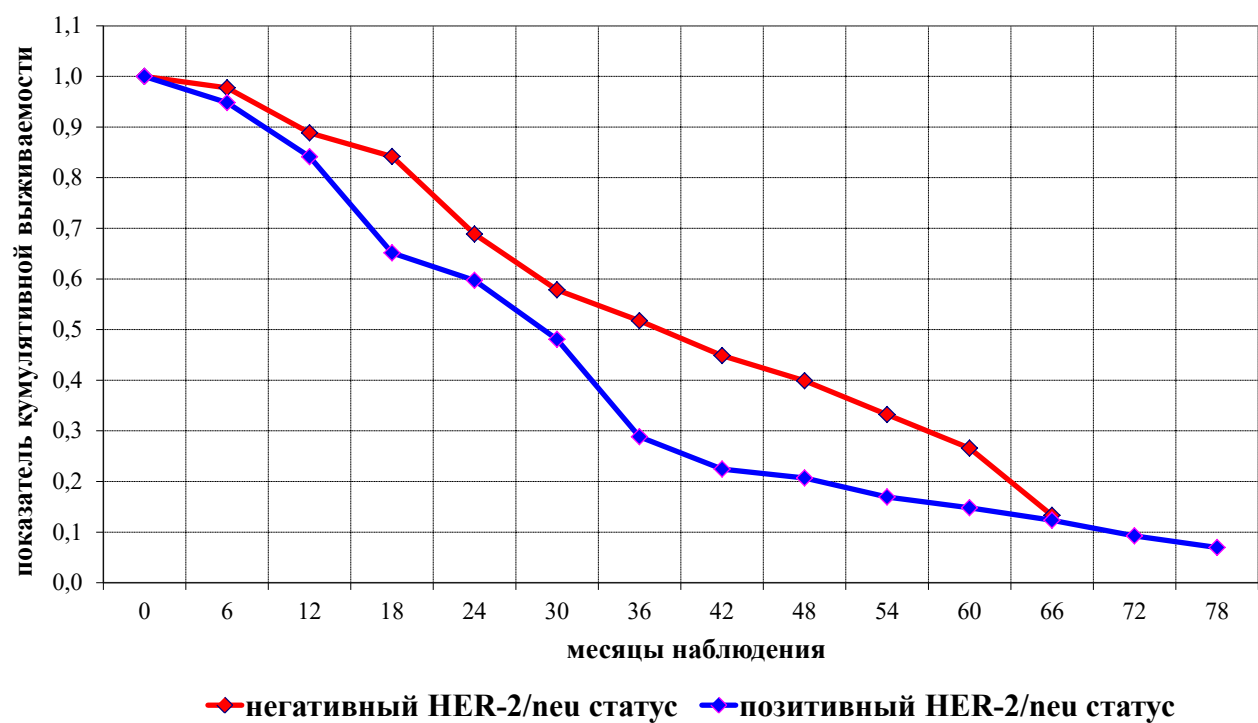


Рис. 2.45. Общая выживаемость больных серозным РЯ с различным HER-2/neu-статусом при положительной экспрессии РТ. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,06$

Таблица 2.33

**Показатели выживаемости больных серозным РЯ
в зависимости от HER-2/neu-статуса и экспрессии РСГ в клетках опухоли**

HER-2/neu статус опухоли	Общая выживаемость (%) и экспрессия РСГ в клетках опухоли											
	РЭ –		РЭ+		РП –		РП+		РТ –		РТ+	
	3-лет- няя	5-лет- няя	3-лет- няя	5-лет- няя	3-лет- няя	5-лет- няя	3-лет- няя	5-лет- няя	3-лет- няя	5-лет- няя	3-лет- няя	5-лет- няя
HER-2/neu- негативный	71,0	43,4	57,5	35,9	61,2	39,9	62,2	37,8	74,8	50,9	52,3	28,5
HER-2/neu- позитивный	41,4	11,7	27,5	13,5	39,5	10,3	30,3	15,1	39,9	10,7	27,6	14,8

Многофакторный анализ 3- и 5-летней общей выживаемости больных в зависимости от HER-2/neu-статуса и гормонально-рецепторного фенотипа опухолей проведен для пациенток, имеющих фенотипы серозного РЯ РЭ+РП+РТ+, РЭ+РП+РТ–, РЭ–РП–РТ–, РЭ–РП–РТ+ (см. табл. 2.31). Показатели 3- и 5-летней общей выживаемости больных серозным РЯ в зависимости от HER-2/neu-статуса и гормонально-рецепторного фенотипа опухолей представлены на рисунках 2.46–2.47. Как видно из данных рисунков, отмечены достоверно высокие показатели 3- и 5-летней выживаемости пациенток с HER-2/neu-негативной опухолью ($p=0,0002$). При этом самая высокая выживаемость наблюдалась у больных с фенотипами РЭ–РП–РТ– и РЭ+РП+РТ– HER-2/neu-негативной опухоли, как установлено нами выше у пациенток с негативным гормонально-рецепторным фенотипом опухоли наблюдалась наиболее высокая общая выживаемость по сравнению с таковой у больных с другими фенотипами серозного РЯ.

Самая низкая 3-летняя выживаемость выявлена у больных с положительным ГРС, 5-летняя – у пациенток с фенотипом РЭ–РП–РТ+ HER-2/neu-позитивной опухоли. Однако, интерес представил факт, что статистический анализ показал отсутствие достоверных межгрупповых разли-

чий показателей выживаемости больных в зависимости от гормонально-рецепторного фенотипа при HER-2/neu-позитивной или негативной опухоли ($p>0,005$).

Таким образом, 3- и 5-летняя выживаемость больных серозным РЯ с различным HER-2/neu-статусом не зависит от гормонально-рецепторного фенотипа опухолей.

Представленные нами результаты показали высокую частоту экспрессии HER-2/neu у больных серозным РЯ. Позитивная экспрессия HER-2/neu в опухолях яичника наблюдалась в 61,6 % случаев, из них 46,2 % – имели высокую степень и гиперэкспрессию этого маркера.

Данными исследования установлена ранговая корреляционная связь между экспрессией HER-2/neu в серозном РЯ и риском развития рецидива заболевания, при этом отмечено отсутствие связи со степенью дифференциации опухолей, возрастным периодом женщин, экспрессией всех РСГ и гормонально-рецепторным фенотипом опухолей.

Мы установили при однофакторном и многофакторном анализе достоверно низкую общую и безрецидивную выживаемость больных с HER-2/neu-позитивной опухолью независимо от ГРС серозного РЯ, показав прогности-

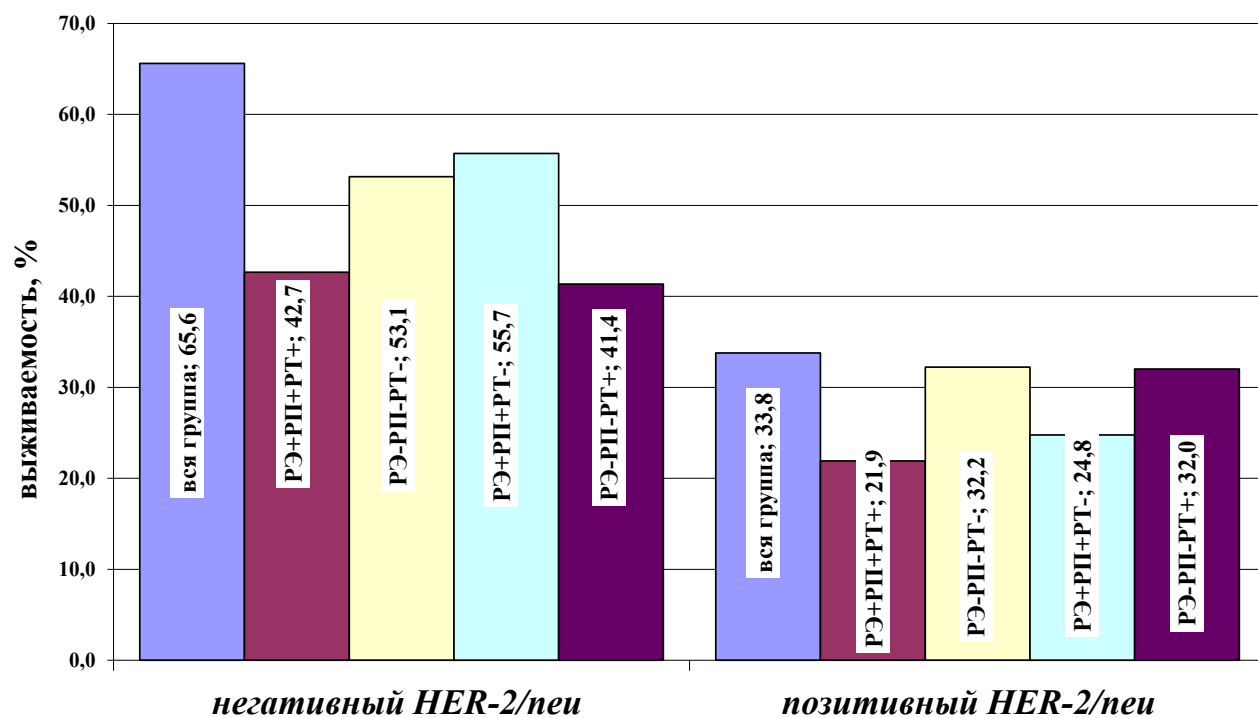


Рис. 2.46. 3-летняя общая выживаемость больных серозным РЯ в зависимости от HER-2/neu-статуса и гормонально-рецепторного фенотипа опухолей

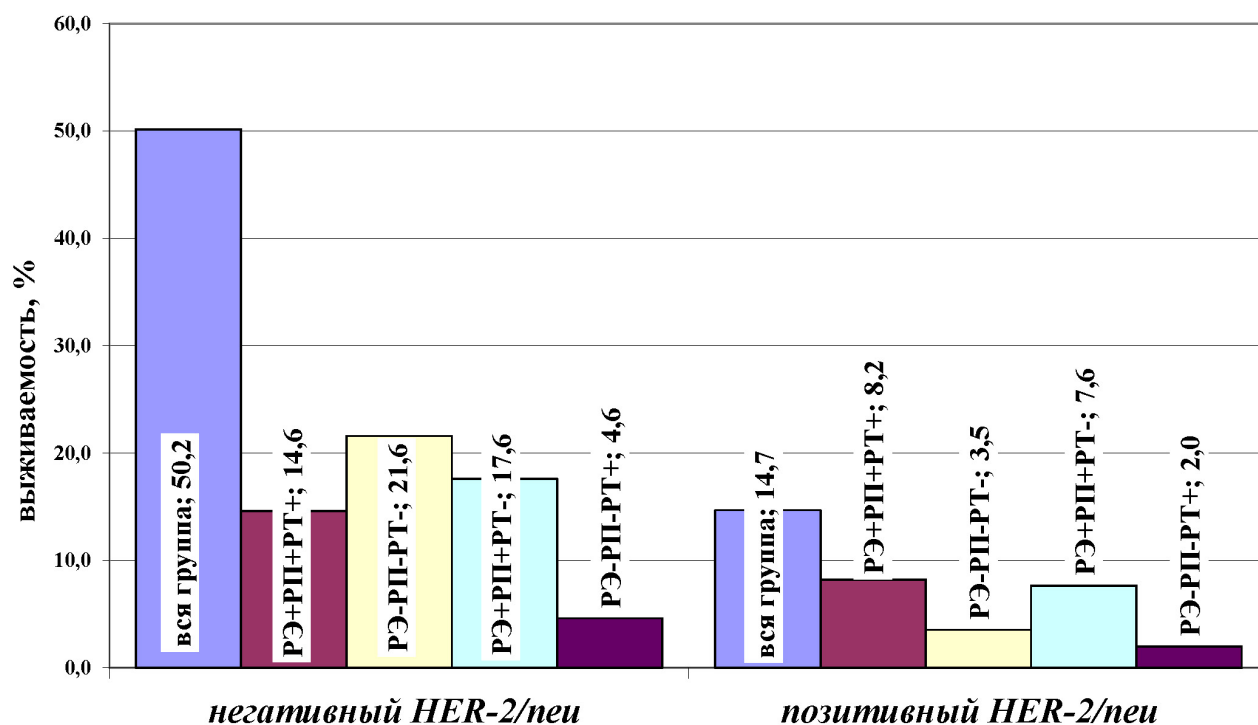


Рис. 2.47. 5-летняя общая выживаемость больных серозным РЯ в зависимости от HER-2/neu-статуса и гормонально-рецепторного фенотипа опухолей

ческое значение экспрессии HER-2/neu в клетках РЯ как неблагоприятного фактора течения опухолевого процесса. Однако прогностическое значение имела опухолевая экспрессия и РТ для пациенток с HER-2/neu-негативным РЯ, что также свидетельствует о неблагоприятном течении заболевания у больных с выраженной экспрессией РТ независимо от HER-2/neu-статуса опухолей.

РЕЗЮМЕ

Позитивная экспрессия HER-2/neu в опухолях яичника наблюдалась у 61,6 % больных, из них 46,2 % – имели высокую степень и гиперэкспрессию этого маркера.

Установлено отсутствие корреляционной связи между экспрессией HER-2/neu и степенью дифференциации опухолей, возрастным периодом женщин, экспрессией всех РСГ и гормонально-рецепторным фенотипом серозного РЯ.

У больных с HER-2/neu-позитивной опухолью отмечена достоверно низкая

5-летняя общая ($14,7 \pm 5,0$ %) и безрецидивная выживаемость ($11,5 \pm 4,6$ %), чем у пациенток с HER-2/neu-негативным серозным РЯ ($50,7 \pm 10,4$ и $47,5 \pm 10,7$ %, соответственно) независимо от ГРС ($p=0,0015$).

Установлена прямая корреляционная связь между экспрессией HER-2/neu в опухолях яичника и риском развития рецидива заболевания ($r=0,162$, $p=0,038$).

Положительные HER-2/neu опухоли (HR 1,8; 95 % CI 1,1–2,4), как и выраженная экспрессия РТ (HR 2,3; 95 % CI 2,0–3,4), независимо от HER-2/neu-статуса у больных серозным РЯ, являются независимыми факторами неблагоприятного течения опухолевого процесса.

HER-2/neu-статус серозного РЯ можно рассматривать не только как прогностический фактор, но и как критерий для решения вопроса применения таргетной терапии в комплексном лечении больных, что требует проведения дальнейших исследований в этом направлении.

РАЗДЕЛ 2.4

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ VEGF В КЛЕТКАХ СЕРОЗНОГО РАКА ЯИЧНИКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГОРМОНАЛЬНОГО РЕЦЕПТОРНОГО СТАТУСА ОПУХОЛЕЙ

Цель исследования – изучить экспрессию VEGF в клетках серозного РЯ, сопоставить результаты с гормональным рецепторным статусом опухолей и оценить их клиническое и прогностическое значение. Материалом исследования служили результаты ретроспективного анализа историй болезни тех же 104 больных серозным РЯ III стадии и их операционный материал, который был использован для исследования экспрессии HER-2/neu в опухолевых клетках яичника. Анализируя истории болезни указанных больных, мы также учитывали их возраст, степень дифференциации серозного РЯ, рецидивы заболевания.

Иммуногистохимическое исследование экспрессии VEGF в клетках яичника больных ретроспективного исследования проводили также на парафиновых срезах толщиной 4–5 микрон, которые помещали на стекла, обработанные поли-L-лизинном. В качестве первичных антител использовали МКАТ, специфичное к VEGF (табл. 2.34).

Для визуализации результатов реакции использовали набор реактивов En Vision system (DakoLSAB2 system, Denmark) в соответствии с рекомендациями производителя, срезы докрашивали гематоксилином Майера. Для оценки экспрессии VEGF применяли полуколичественный метод. При наличии специфического мембранно-цитоплазматического окрашивания для VEGF определяли количество имму-

нопозитивных и иммунонегативных клеток в процентах. В каждом гистологическом препарате анализировали экспрессию VEGF в 1000 клеток.

Степень экспрессии VEGF оценивали также в баллах: 0 баллов – отсутствует окрашивание цитоплазмы и мембраны клеток яичника; 1 балл – слабое окрашивание цитоплазмы и мембраны 1–25 % клеток яичника (VEGF+); 2 балла – умеренная степень равномерного мембранно-цитоплазматического окрашивания 26–50 % клеток яичника (VEGF++); 3 балла – высокая степень окрашивания или гиперэкспрессия – более 50 % клеток яичника (VEGF+++). За положительную экспрессию VEGF (VEGF+) считали более 25 % клеток с умеренной и высокой степенью окрашивания мембраны и цитоплазмы клетки [127].

В качестве положительного контроля применяли МКАТ против панцитокератинов, в качестве отрицательного контроля – забуференный физиологический раствор, который вместо МКАТ наносили на гистологические срезы.

Полученные препараты иммуногистохимического анализа операционного материала больных изучали и фотографировали также с помощью микроскопа Prima Star Carl Zeiss (Германия) и камерой Canon G5 (Япония), с оптическим увеличением $\times 200$, $\times 400$.

Таблица 2.34

Моноклональное антитело, специфичное к VEGF

Молекулярный маркер	МКАТ	Клон	Каталожный номер	Разведение	Видо-специфичность	Фирма и страна
VEGF	Anti-VEGF	Polyclonal	RB-9031-P	1:100	Human	Thermo Scientific, USA

2.4.1. Характеристика больных по VEGF-статусу и клинико-морфологическим показателям серозного рака яичника

По результатам иммуногистохимической экспрессии серозный РЯ разделили на VEGF-негативный (58/55,8 %) (рис. 2.48 А) и VEGF-позитивный (46/44,2 %) (рис. 2.48 В), как видно преобладали опухоли с VEGF-негативным статусом (табл. 2.35). В VEGF-позитивной опухоли выделили разную степень экспрессии фактора: умеренная степень экспрессии (VEGF ++) отмечена у 11,5 %, гиперэкспрессия (VEGF +++) – у 32,7 % пациенток. Возраст больных серозным РЯ колебался от 19 до 72 лет, составляя в среднем $51,7 \pm 0,8$ год (см. табл. 2.35). Средний возраст пациенток с VEGF-негативной опухолью составил $49,7 \pm 2,5$, с VEGF-позитивной – $52,1 \pm 3,1$, с гиперэк-

спрессией – $54,4 \pm 1,7$ года. Достоверности различий по возрасту не установлено ($p=0,46$).

Анализируя VEGF-статус РЯ в зависимости от возрастных периодов женщин, мы отметили, что VEGF-негативные опухоли чаще наблюдались в репродуктивном и перименопаузальном возрасте (59,4 и 66,7 %, соответственно), тогда как VEGF-позитивные – в постменопаузальном периоде (53,3 %), особенно в поздней постменопаузе (51,9 %) (табл. 2.36). Как установлено нами ранее [395, 398], пациентки с серозным РЯ именно в постменопаузальном возрасте имеют более агрессивное течение и неблагоприятный прогноз заболевания. Однако статистический анализ показал отсутствие достоверных различий между экспрессией VEGF и возрастным периодом больных ($p=0,462$), а также ранговой корреляционной связи между ними ($r=-0,061$, $p=0,54$) (табл. 2.42).

Таблица 2.35

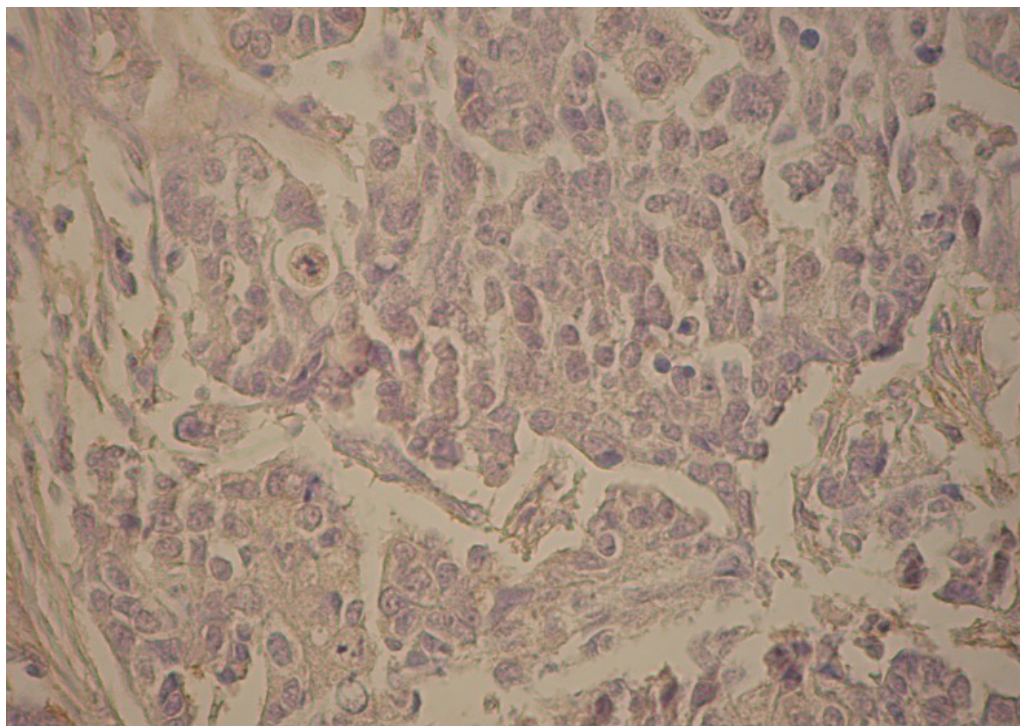
Характеристика больных серозным РЯ по VEGF-статусу и возрасту (n=104)

VEGF-статус опухоли	Количество больных		Средний возраст/ колебания, годы
	n	%	
VEGF –	58	55,8	$49,7 \pm 2,5 / 19-72$
VEGF +	46	44,2	$52,1 \pm 3,1 / 23-71$
VEGF ++	12	11,5	$49,8 \pm 4,9 / 23-71$
VEGF +++	34	32,7	$54,4 \pm 1,7 / 34-70$
Всего	104	100,0	$51,7 \pm 0,8 / 19-72$

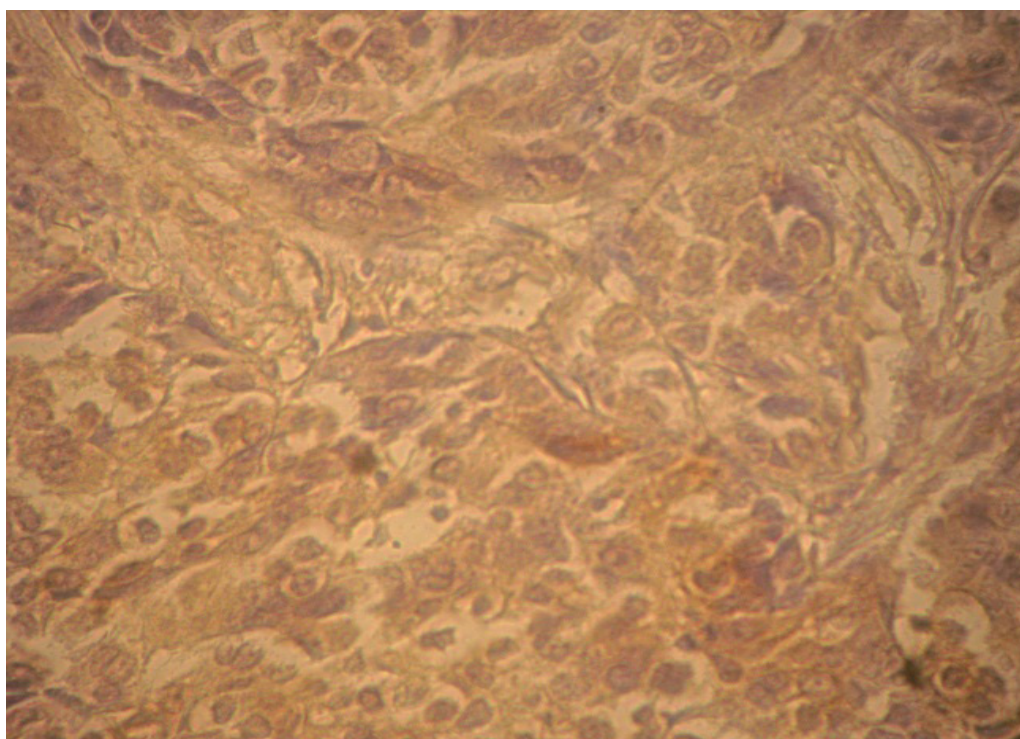
Таблица 2.36

Распределение больных серозным РЯ по VEGF -статусу в зависимости от возрастного периода (n=104)

Возрастной период	Общее количество больных		VEGF –		VEGF +	
	n	%	n	%	n	%
Репродуктивный	32	30,8/100,0	19	59,4	13	40,6
Перименопауза	27	26,0/100,0	18	66,7	9	33,3
Постменопауза	45	43,3/100,0	21	46,7	24	53,3
Ранняя постменопауза	18	17,3/100,0	8	44,4	10	55,6
Поздняя постменопауза	27	26,0/100,0	13	48,1	14	51,9



А



Б

Рис. 2.48. Серозный РЯ. Иммуногистохимическая экспрессия VEGF в опухолевых клетках, $\times 400$

Примечания:

А – экспрессия VEGF отсутствует; Б – позитивная экспрессия VEGF.

Таблица 2.37

**Распределение больных серозным РЯ по VEGF-статусу
и степени дифференциации опухолей (n=104)**

VEGF-статус опухоли	Количество больных		Степень дифференциации опухоли					
			высокая		умеренная		низкая	
	n	%	n	%	n	%	n	%
VEGF –	58	55,8/100,0	13	22,4	17	29,3	28	48,3
VEGF +	46	44,2/100,0	8	17,4	13	28,3	25	54,4
VEGF ++	12	11,5	2	4,3	5	10,9	5	10,9
VEGF +++	34	32,7	6	13,0	8	17,4	20	43,5
Всего	104	100,0	21	20,2	30	28,8	53	51,0

Одним из информативных показателей, имеющих значение для клинического течения опухолевого процесса, является степень дифференциации опухолей. Как свидетельствуют данные таблицы 2.37, у пациенток с VEGF-позитивным и негативным статусом РЯ преобладала низкая степень дифференциации, частота которой была больше у больных с VEGF-позитивной опухолью (54,4 %), чем у пациенток с VEGF-негативной (48,3 %). При этом частота высокой степени дифференциации серозного РЯ преобладала у больных с VEGF-негативной опухолью по сравнению с таковой у пациенток с VEGF-позитивной (22,4 против 17,4 %). Однако (см. табл. 2.42) различия между экспрессией VEGF и степенью дифференциации опухолей не имели достоверности ($p=0,65$), при этом установлено отсутствие ранговой корреляционной связи между этими показателями ($r=-0,109$, $p=0,28$).

**2.4.2. Анализ выживаемости больных
в зависимости от VEGF-статуса
серозного рака яичника**

В связи с полученными данными приобретают значение результаты однофакторного анализа общей и безрецидивной выживаемости больных серозным РЯ в зависимости от экспрессии VEGF (табл. 2.38, рис. 2.49 и 2.50). Как свидетельствуют данные таблицы 2.38, 3- и 5-летняя выживаемость больных с VEGF-позитивным статусом достоверно ниже, чем у пациенток с VEGF-негативной опухолью ($p=0,03$). Достоверно худшие показатели выживаемости отмечены у больных РЯ с гиперэкспрессией VEGF по сравнению с таковыми у пациенток с VEGF++ опухолью ($p=0,012$). Подобная тенденция наблюдалась и при сравнении 3- и 5-летней безрецидивной выживаемости больных с не-

Таблица 2.38

**Показатели общей и безрецидивной выживаемости больных серозным РЯ
в зависимости от VEGF-статуса**

VEGF-статус опухоли	Общая выживаемость, %		Безрецидивная выживаемость, %	
	3-летняя	5-летняя	3-летняя	5-летняя
VEGF –	64,6*±9,3	42,7*±11,9	58,8*±9,7	42,2*±11,7
VEGF ++	45,0*±8,0	29,4*±10,0	40,2*±8,3	25,0*±9,8
VEGF +++	31,3*±8,0	10,9*±6,0	19,1*±6,9	4,8*±3,8

Примечание. * $p<0,05$ различия показателей выживаемости больных

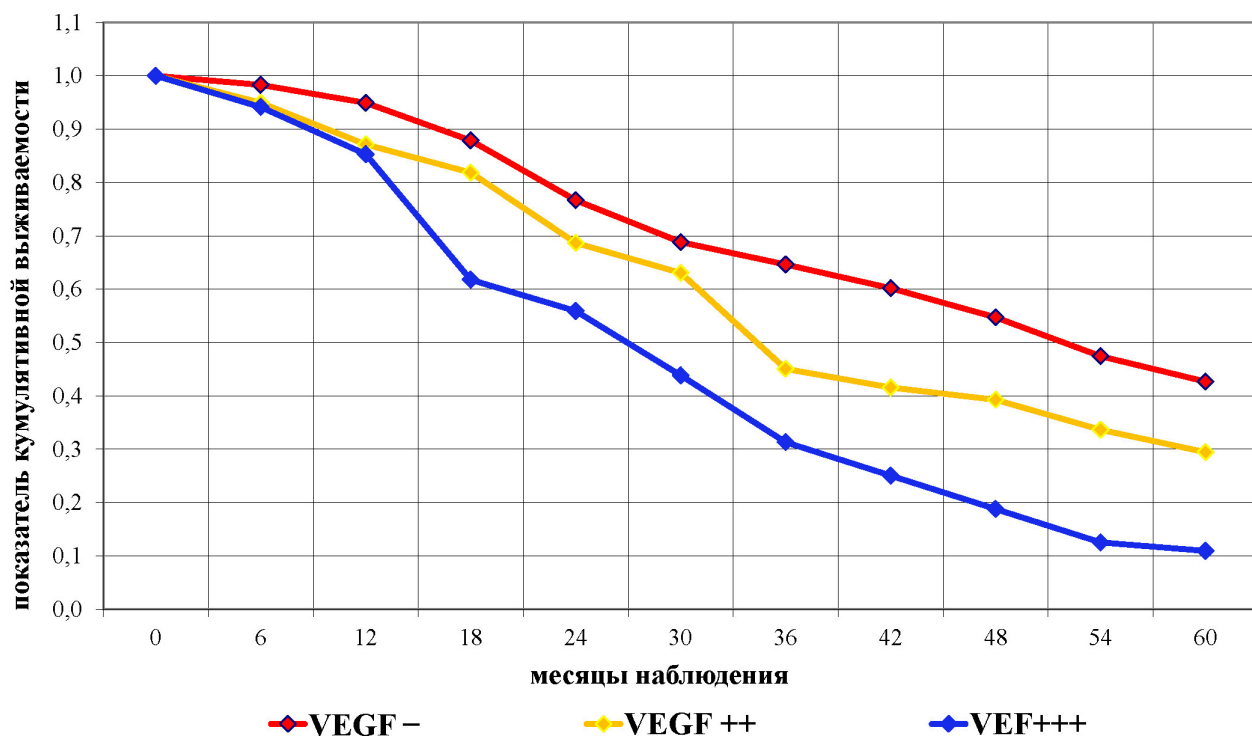


Рис. 2.49. Общая выживаемость больных серозным РЯ с различной степенью экспрессии VEGF.
Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, χ^2 критерий, $p=0,03$

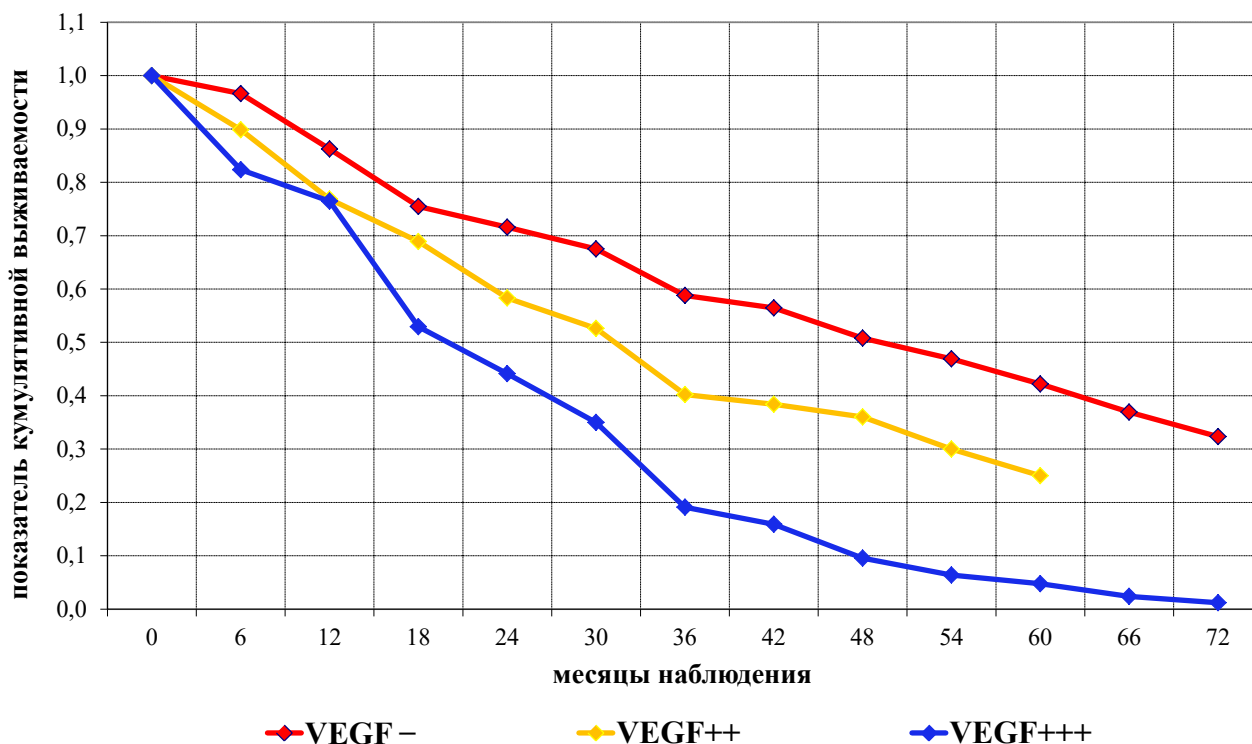


Рис. 2.50. Безрецидивная выживаемость больных серозным РЯ с различной степенью экспрессии VEGF.
Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, χ^2 критерий, $p=0,03$

гативным и позитивным VEGF-статусом опухолей ($p=0,03$), при этом достоверно худшие показатели выживаемости отмечены также у пациенток с VEGF+++ опухолью по сравнению с таковыми у больных, имеющих VEGF++ статус РЯ ($p=0,018$).

Важным заключением этого фрагмента исследования явились результаты статистического анализа – обнаружена ранговая корреляционная связь между экспрессией VEGF в опухоли яичника и риском развития рецидива заболевания ($r=-0,523$, $p=0,00001$) (см. табл. 2.42).

Оценивая прогностическое значение VEGF-статуса у больных серозным РЯ

Кокс-регрессионным анализом, также установлено, что общая (HR 1,5; 95 % CI 1,1–2,2) и безрецидивная (HR 1,6; 95 % CI 1,1–2,3) выживаемость достоверно ниже у больных РЯ с гиперэкспрессией VEGF в опухолевых клетках (табл. 2.39).

Учитывая полученные данные статистического анализа, VEGF-позитивные опухоли можно рассматривать как прогностический фактор неблагоприятного течения опухолевого процесса независимо от степени дифференциации серозного РЯ и возраста больных.

Таблица 2.39

Показатели Кокс-регрессионного анализа общей и безрецидивной выживаемости больных серозным РЯ в зависимости от экспрессии VEGF и ГРС опухолей

Рецепторный статус серозного РЯ	HR	95,0 %, CI		P
		нижний	верхний	
Общая выживаемость				
VEGF++ vs. VEGF–	1,3	0,9	1,6	0,207
VEGF+++ vs. VEGF–	1,6	1,1	2,3	0,038
VEGF+++ vs. VEGF++	1,3	1,1	2,0	0,024
РЭ+ VEGF+ vs. РЭ– VEGF+	2,1	1,4	3,2	0,003
ПП+ VEGF+ vs. ПП– VEGF+	2,1	1,1	3,0	0,002
PT+ VEGF+ vs. PT– VEGF+	1,4	0,9	1,7	0,079
РЭ+ VEGF– vs. РЭ– VEGF–	1,3	0,9	2,0	0,186
ПП+ VEGF– vs. ПП– VEGF–	1,3	0,5	1,8	0,325
PT+ VEGF– vs. PT– VEGF–	1,5	1,0	2,0	0,039
Безрецидивная выживаемость				
VEGF++ vs. VEGF–	1,3	0,9	2,3	0,125
VEGF+++ vs. VEGF–	1,5	1,1	2,2	0,015
VEGF+++ vs. VEGF ++	1,1	0,8	1,8	0,009
РЭ+ VEGF+ vs. РЭ– VEGF+	1,7	1,2	2,1	0,006
ПП+ VEGF+ vs. ПП– VEGF+	1,7	1,2	2,0	0,002
PT+ VEGF+ vs. PT– VEGF+	1,4	0,9	1,8	0,074
РЭ+ VEGF– vs. РЭ– VEGF–	1,5	1,0	1,9	0,055
ПП+ VEGF– vs. ПП– VEGF–	1,4	0,6	1,9	0,098
PT+ VEGF– vs. PT– VEGF–	1,5	1,0	2,0	0,041

Примечания:

HR – отношение рисков выживаемости сравниваемых групп больных;

CI – доверительный интервал.

2.4.3. Исследование экспрессии VEGF в опухолевых клетках в зависимости от гормонального рецепторного статуса серозного рака яичника

Провели сопоставление результатов экспрессии VEGF с экспрессией РСГ в опухолевых клетках серозного РЯ. Как свидетельствуют данные таблицы 2.40, среди исследованных опухолей выделены рецепторотрицательные и рецепторположительные для всех стероидных гормонов с количественным преобладанием последних независимо от VEGF-статуса опухолей. При этом, различия между частотой экспрессии стероидных рецепторов и степенью экспрессии VEGF статистически не имели достоверности (для РЭ $p=0,262$, РП – $p=0,665$, РТ – $p=0,41$). Установлено отсутствие ранговой корреляционной связи (см. табл. 2.42) между экспрессией РСГ и VEGF в опухолевых клетках яичника (для РЭ – $r=-0,192$, $p=0,09$, РП – $r=-0,029$, $p=0,80$, РТ – $r=0,054$, $p=0,68$).

Поскольку клиническое течение РЯ определяют молекулярно-биологические свойства опухоли, в частности, вариабельность маркерного фенотипа опухолевых клеток, это послужило основанием для оценки экспрессии VEGF

в клетках опухоли в зависимости от гормонально-рецепторного фенотипа серозного РЯ.

Этот анализ проведен для пациенток, имеющих фенотипы РЯ РЭ+РП+РТ+, РЭ+РП+РТ–, РЭ–РП–РТ–, РЭ–РП–РТ+, поскольку с данными фенотипами опухолей наблюдали наибольшее количество больных (табл. 2.41).

Как свидетельствуют данные таблицы 2.41, преобладали больные РЯ с положительным ГРС для всех стероидных гормонов (42/40,4 %), что согласуется с результатами наших ранее проведенных исследований и с данными литературы [8, 223, 267, 395, 398]. Среди пациенток с положительным ГРС только 45,2 % имели VEGF-позитивную опухоль. Как установлено нами ранее, положительный ГРС серозного РЯ является предиктивным фактором неблагоприятного течения опухолевого процесса. Однако статистический анализ показал (см. табл. 2.42) отсутствие достоверных различий VEGF-статуса от гормонально-рецепторного фенотипа опухолей ($p=0,47$), а также достоверной ранговой корреляционной связи между ними ($r=-0,013$, $p=0,92$).

Таблица 2.40

Распределение больных в зависимости от VEGF-статуса и экспрессии рецепторов стероидных гормонов в серозном РЯ (n=104)

VEGF-статус опухоли	Общее количество больных		Экспрессия рецепторов стероидных гормонов											
			РЭ				РП				РТ			
			РЭ+		РЭ–		РП+		РП–		РТ+		РТ–	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
VEGF–	58	55,8/100,0	41	70,7	17	29,3	40	69,0	18	31,0	35	60,3	23	39,7
VEGF+	46	44,2/100,0	25	54,3	21	45,7	29	63,0	17	37,0	26	56,5	20	43,5

Таблица 2.41

**Распределение больных серозным РЯ
по VEGF- и гормонально-рецепторному статусу опухолей (n=87)**

Фенотип опухоли по ГРС	Общее количество больных		Распределение больных РЯ по VEGF-статусу			
			VEGF–		VEGF+	
	n	%	n	%	n	%
РЭ+РП+РТ+	42	40,4/100,0	23	54,8	19	45,2
РЭ+РП+РТ–	17	16,3/100,0	13	76,5	4	23,5
РЭ–РП–РТ+	12	11,5/100,0	8	66,7	4	33,3
РЭ–РП–РТ–	16	15,4/100,0	5	31,3	11	68,7
Всего	87/83,7		49/47,1		38/36,6	

Таблица 2.42

**Ранговые корреляции Гамма между экспрессией VEGF, РСГ,
гормонально-рецепторным фенотипом серозного РЯ
и клиничко-морфологическими показателями (n=104)**

Показатель	Коэффициент корреляции	p
VEGF & РЭ	-0,192	0,09
VEGF & РП	-0,029	0,80
VEGF & РТ	0,054	0,68
VEGF & фенотип опухоли по ГРС	0,013	0,92
VEGF & степень дифференциации опухоли	-0,109	0,28
VEGF & возрастной период	-0,061	0,54
VEGF & рецидив заболевания	0,524	0,000001

**2.4.4. Анализ выживаемости больных
в зависимости от экспрессии VEGF
и гормонального рецепторного статуса
серозного рака яичника**

В дальнейшем мы провели многофакторный анализ 3- и 5-летней общей выживаемости больных серозным РЯ в зависимости от экспрессии VEGF и всех РСГ. Показатели 3- и 5-летней выживаемости больных представлены в таблице 2.43. Из данных таблицы следует, что 3- и 5-летняя выживаемость была достоверно выше у пациенток с VEGF-негативной опухолью независимо от экспрессии всех РСГ (результаты достоверности представлены на рис. 2.51–2.56). Статистический анализ установил, что раз-

личия показателей общей выживаемости больных РЯ по VEGF-статусу в зависимости от экспрессии стероидных рецепторов не имеют достоверности (для РЭ – $p=0,91$ (VEGF–) и $p=0,51$ (VEGF+), РП – $p=0,97$ и $p=0,54$, РТ – $p=0,21$ и $p=0,54$, соответственно). Однако многофакторный Кокс-регрессионный анализ показал достоверно значимое негативное влияние экспрессии РЭ и РП в VEGF-позитивной опухоли на общую и безрецидивную выживаемость больных серозным РЯ (см. табл. 2.39). При этом опухолевая экспрессия РТ имела неблагоприятное прогностическое влияние на выживаемость больных с VEGF-негативной опухолью, не показав прогностическую достоверную значимость на выживаемость

Таблица 2.43

**Показатели выживаемости больных серозным РЯ
в зависимости от VEGF-статуса и экспрессии РСГ**

VEGF- статус опухоли	Общая выживаемость (%) и экспрессия рецепторов стероидных гормонов											
	РЭ –		РЭ +		РП –		РП +		РТ –		РТ +	
	3- лет- няя	5- лет- няя	3- лет- няя	5- лет- няя	3- лет- няя	5- лет- няя	3- лет- няя	5- лет- няя	3- лет- няя	5- лет- няя	3- лет- няя	5- лет- няя
VEGF–	56,9	34,8	62,4	39,2	55,6	32,1	61,9	37,4	61,5	39,0	58,4	28,4
VEGF+	49,5	14,0	23,0	7,5	44,2	15,8	31,0	8,3	50,0	15,9	24,3	6,1

пациенток с VEGF-положительным статусом серозного РЯ.

Многофакторный анализ 3-летней общей выживаемости больных в зависимости от VEGF-статуса и гормонально-рецепторного фенотипа опухоли проведен для пациенток, имеющих фенотипы серозного РЯ РЭ+РП+РТ+, РЭ+РП+РТ–, РЭ–РП–РТ–, РЭ–РП–РТ+ (см. табл. 2.41 и рис. 2.57). Как видно из рисунка 2.57, отмечены достоверно низкие показатели выживаемости больных с VEGF-положительной опухолью и различным гормонально-рецепторным фенотипом ($p=0,027$). Самая низкая выживаемость наблюдалась у больных с положительным ГРС и фенотипом РЭ–РП–РТ+ VEGF-негативной опухоли, и с положительным ГРС среди пациенток с VEGF-положительной опухолью. Как установлено нами ранее [395, 398], положительный ГРС, как и выраженная экспрессия РТ у больных серозным РЯ являются предиктивными факторами неблагоприятного течения опухолевого процесса. Самая высокая 3-летняя выживаемость среди больных с VEGF-положительной опухолью отмечена у пациенток с отрицательным ГРС. Однако статистический анализ показал отсутствие достоверных межгрупповых различий показателей выживаемости больных в зависимости от гормонально-рецепторного фенотипа при VEGF-положительном или негативном серозном РЯ ($p>0,005$).

Представленные результаты показали, что позитивная экспрессия VEGF наблюдалась только у 44,2 % больных серозным РЯ, из них 32,7 % – имели гиперэкспрессию этого маркера. Данными исследования установлена ранговая корреляционная связь между экспрессией VEGF в серозном РЯ и риском развития рецидива заболевания. При этом мы показали отсутствие связи со степенью дифференциации опухолей, возрастным периодом больных, экспрессией всех РСГ и гормонально-рецепторным фенотипом серозного РЯ.

Однофакторным и многофакторным анализом установили достоверно низкую общую и безрецидивную выживаемость больных с VEGF-положительной опухолью независимо от ГРС, показав прогностическое значение степени экспрессии VEGF в клетках РЯ как неблагоприятного фактора течения опухолевого процесса. Однако многофакторный Кокс-регрессионный анализ показал достоверно значимое негативное влияние экспрессии РЭ и РП в VEGF-положительной опухоли на общую и безрецидивную выживаемость больных серозным РЯ.

При этом опухолевая экспрессия РТ имела неблагоприятное прогностическое значение на выживаемость пациенток с VEGF-негативной опухолью, не показав прогностическую достоверную значимость на выживаемость больных с VEGF-положительным статусом РЯ. Как установлено

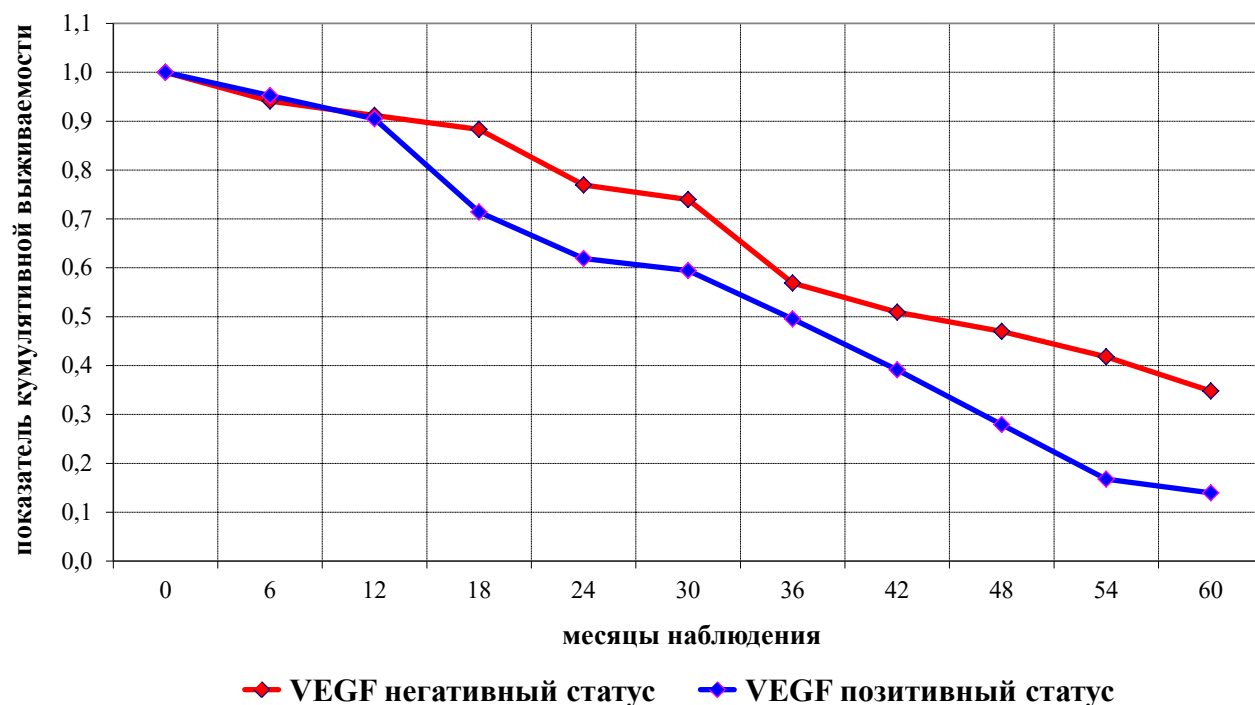


Рис. 2.51. Общая выживаемость больных серозным РЯ с различным VEGF-статусом при отсутствии экспрессии РЭ. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,009$

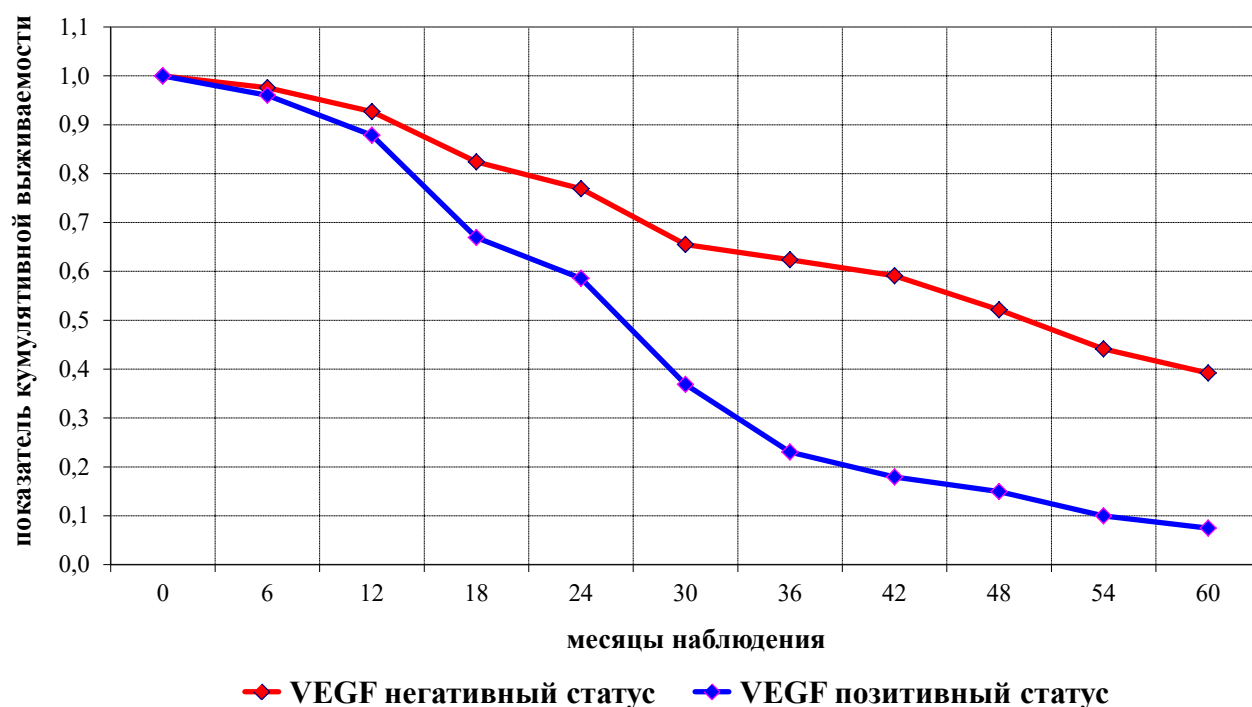


Рис. 2.52. Общая выживаемость больных серозным РЯ с различным VEGF-статусом при положительной экспрессии РЭ. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,0007$

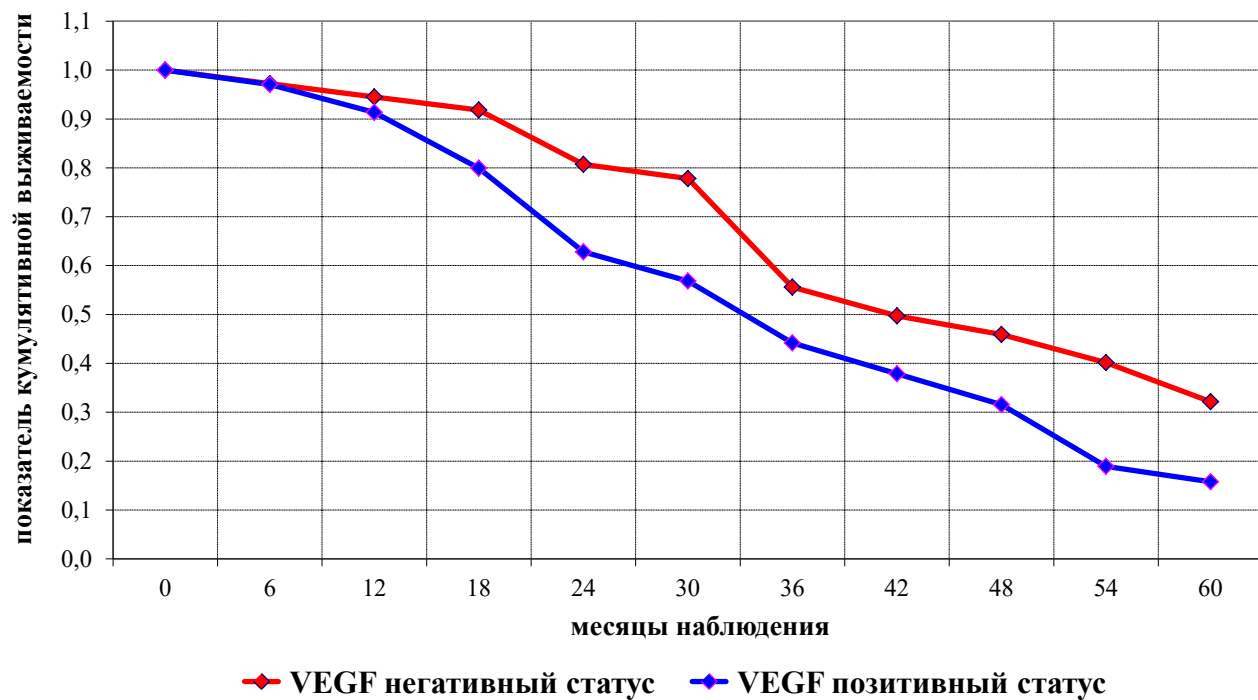


Рис. 2.53. Общая выживаемость больных серозным РЯ с различным VEGF-статусом при отсутствии экспрессии РП. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,002$

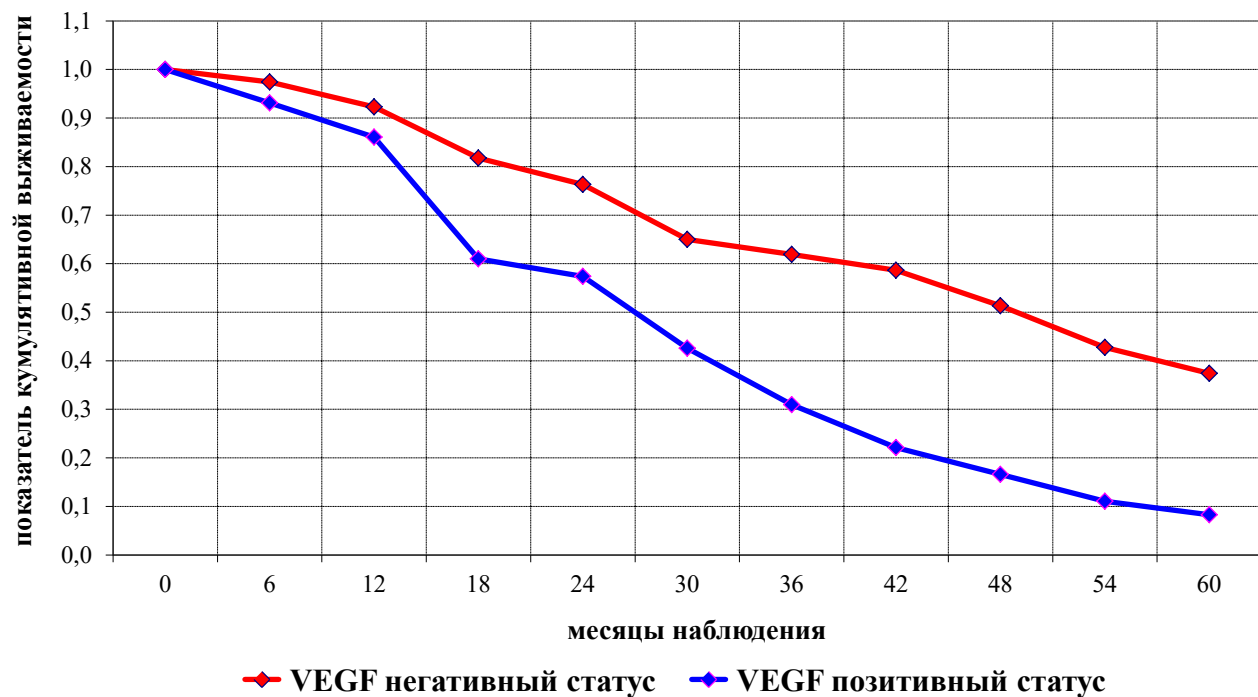


Рис. 2.54. Общая выживаемость больных серозным РЯ с различным VEGF-статусом при положительной экспрессии РП. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,02$

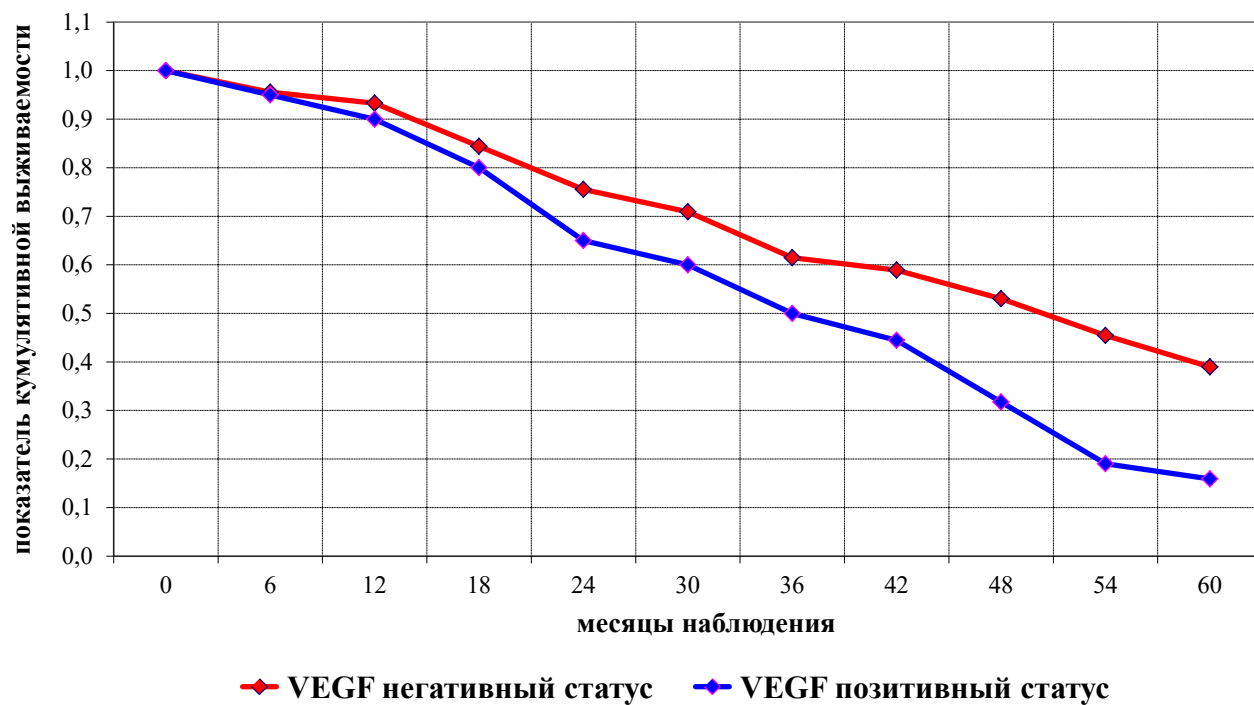


Рис. 2.55. Общая выживаемость больных серозным РЯ с различным VEGF-статусом при отсутствии экспрессии РТ. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,06$

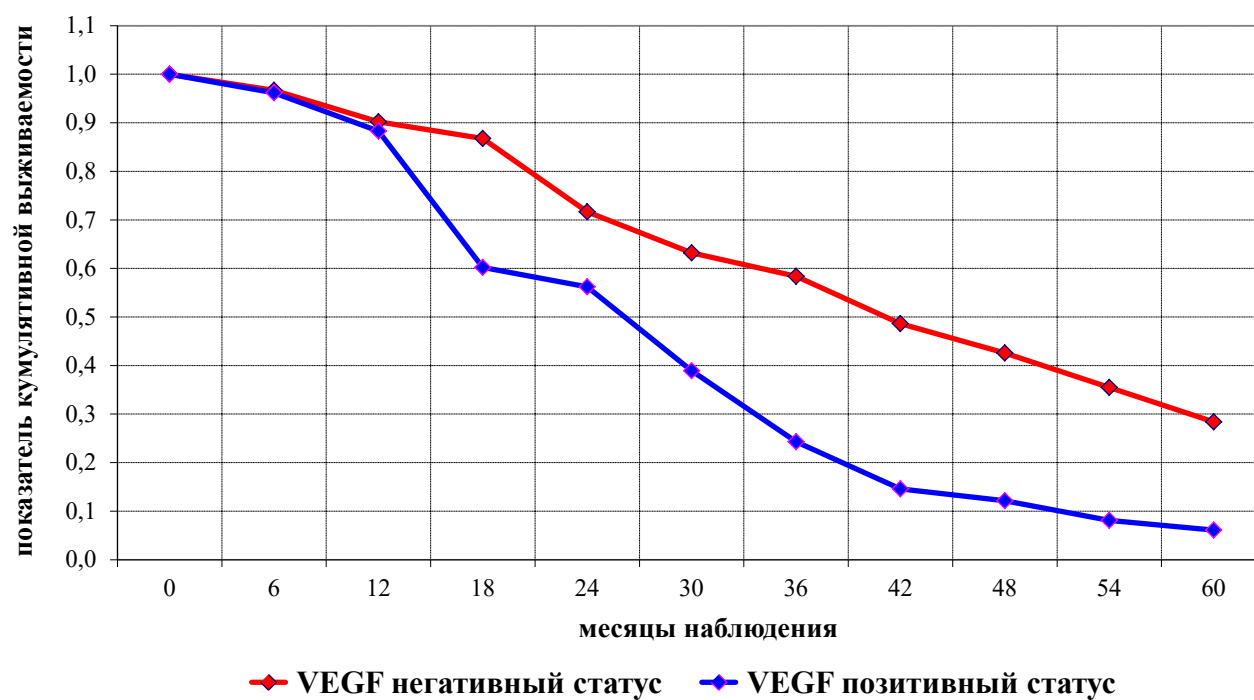


Рис. 2.56. Общая выживаемость больных серозным РЯ с различным VEGF-статусом при положительной экспрессии РТ. Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, *log-rank* критерий, $p=0,0002$

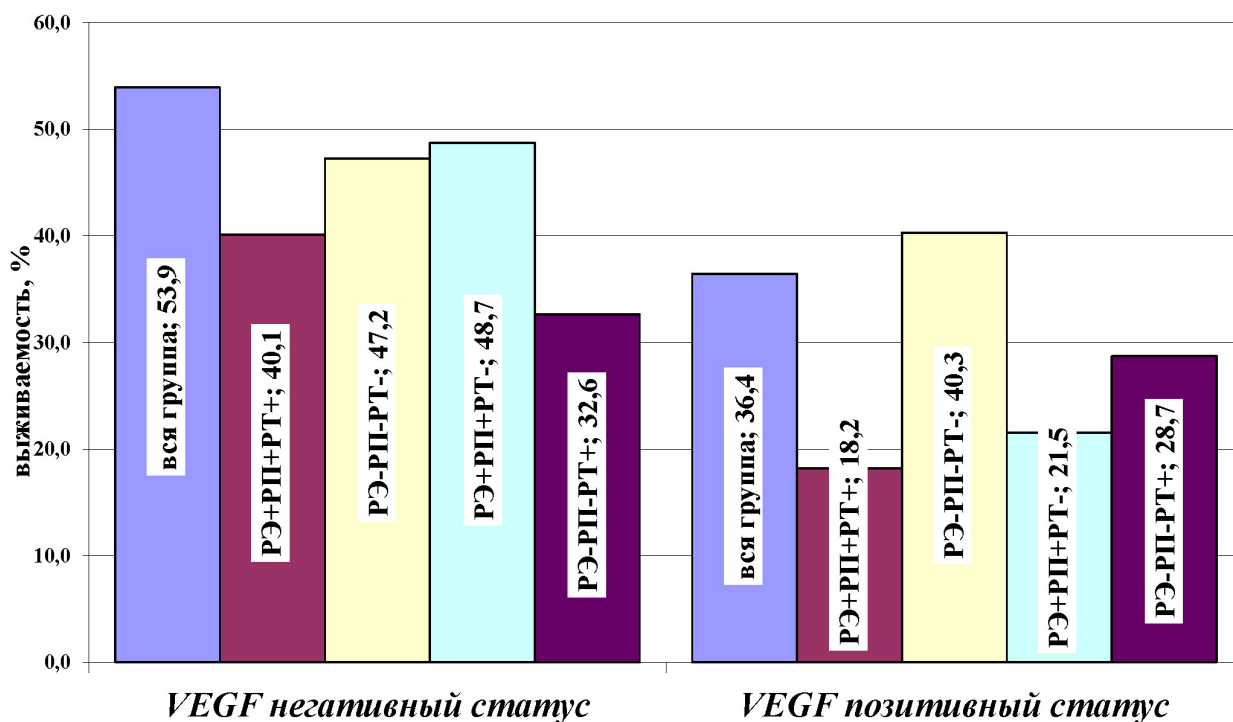


Рис. 2.57. 3-летняя общая выживаемость больных серозным РЯ в зависимости от экспрессии VEGF и гормонально-рецепторного фенотипа опухолей

нами ранее [395, 398], экспрессия РТ является фактором неблагоприятного течения опухолевого процесса. Такие разноречивые результаты многофакторных анализов выживаемости и Кокс-регрессионной модели, возможно, связаны с небольшой выборкой больных РЯ, особенно при распределении их по гормонально-рецепторному фенотипу опухолей.

Таким образом, учитывая результаты нашего и предыдущих исследований других ученых, следует отметить непосредственную связь гормональных факторов с экспрессией VEGF и его рецепторов, модулирующих процессы пролиферации и апоптоза в опухолевых клетках РЯ. Это указывает на целесообразность применения в комплексном лечении больных РЯ не только ингибиторов ангиогенеза, но и гормональных препаратов, влияющих как на процессы пролиферации, так и на неоангиогенез.

РЕЗЮМЕ

Позитивная экспрессия VEGF в опухолевых клетках наблюдалась у 44,2 % больных серозным РЯ, из них у 32,7 % пациенток выявлена гиперэкспрессия этого маркера.

Установлено отсутствие корреляционной связи между экспрессией VEGF и степенью дифференциации опухолей ($r=-0,109$, $p=0,28$), возрастным периодом больных ($r=-0,061$, $p=0,54$), экспрессией всех РСГ (для РЭ – $r=-0,192$, $p=0,09$, РП – $r=-0,029$, $p=0,8$, РТ – $r=0,054$, $p=0,68$) и гормонально-рецепторным фенотипом серозного РЯ ($r=0,013$, $p=0,92$). При этом отмечена прямая корреляция между экспрессией VEGF в опухоли яичника и риском развития рецидива заболевания ($r=0,524$, $p<0,001$).

Однофакторным и многофакторным анализом установлена достоверно низкая 5-летняя общая ($10,9\pm6,0$ %) и безрецидивная выживаемость ($4,8\pm3,8$ %) больных с VEGF-позитивной опухолью, по сравнению

с таковой у пациенток с VEGF-негативной ($42,7 \pm 11,9$ и $42,2 \pm 11,7$ %, соответственно, $p=0,03$), независимо от гормонального рецепторного статуса серозного РЯ.

Степень экспрессии VEGF в серозном РЯ коррелирует с выживаемостью больных (VEGF+++ vs. VEGF–: HR 1,6; 95 % CI 1,1–2,3 и VEGF+++ vs. VEGF++: HR 1,3; 95 % CI 1,1–2,0; $p<0,05$).

Выраженная экспрессия РЭ и РП в VEGF-позитивной опухоли имеет неблагоприятное прогностическое значение у больных РЯ ($p=0,003$, $p=0,002$, соответственно). VEGF-позитивный серозный

РЯ и выраженная экспрессия РЭ (HR 2,1; 95 % CI 1,4–3,2; $p=0,003$) и РП (HR 2,1; 95 % CI 1,1–3,0; $p=0,002$) в таких опухолях яичника являются предиктивными факторами неблагоприятного течения опухолевого процесса.

Гиперэкспрессию VEGF, РЭ и РП в серозном РЯ можно рассматривать не только как прогностический фактор, но и как критерий для решения вопроса применения таргетной и гормональной терапии в комплексном лечении больных, что требует проведения дальнейших исследований в этом направлении.

РАЗДЕЛ 2.5

ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЙ СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КЛИНИЧЕСКОГО РЕТРОСПЕКТИВНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ С ПОМОЩЬЮ ЭКСПОНЕНЦИАЛЬНОЙ РЕГРЕССИОННОЙ МОДЕЛИ

Для оценки степени достоверности показателей выживаемости больных серозным РЯ в зависимости от возраста, гормонального рецепторного статуса опухолей, экспрессии HER-2/neu, VEGF в опухолевых клетках яичника, мы построили экспоненциальную регрессионную модель общей и безрецидивной выживаемости больных с расчетом прогностического β -коэффициента (табл. 2.44–2.45, рис. 2.58–2.59).

Представленные данные таблиц и графиков остатков экспоненциальной регрессионной модели свидетельствуют о достоверно значимом влиянии на об-

щую и безрецидивную выживаемость больных серозным РЯ изученных нами показателей, которые следует расценивать как независимые прогностические факторы неблагоприятного течения опухолевого процесса.

Независимыми прогностическими факторами неблагоприятного клинического течения серозного рака яичника являются:

1. **Постменопаузальный возраст больных.**

2. **Положительный гормональный рецепторный статус опухолей,** в частности экспрессия всех рецепторов половых стероидных гормонов, особенно **РЭ** и **РТ**,

Таблица 2.44

Экспоненциальная регрессионная модель
общей выживаемости больных серозным РЯ

Показатель	β	p
Возраст	-0,035	<0,05
РЭ	-0,008	<0,05
РП	-0,004	<0,05
РТ	-0,004	<0,05
HER-2/neu	-0,005	<0,05
VEGF	-0,007	<0,05
Константа	6,37	–

Таблица 2.45

Экспоненциальная регрессионная модель
безрецидивной выживаемости больных серозным РЯ

Показатель	β	p
Возраст	-0,032	<0,05
РЭ	-0,011	<0,05
РП	-0,003	<0,05
РТ	-0,003	<0,05
HER-2/neu	-0,008	<0,05
VEGF	-0,006	<0,05
Константа	6,2	–

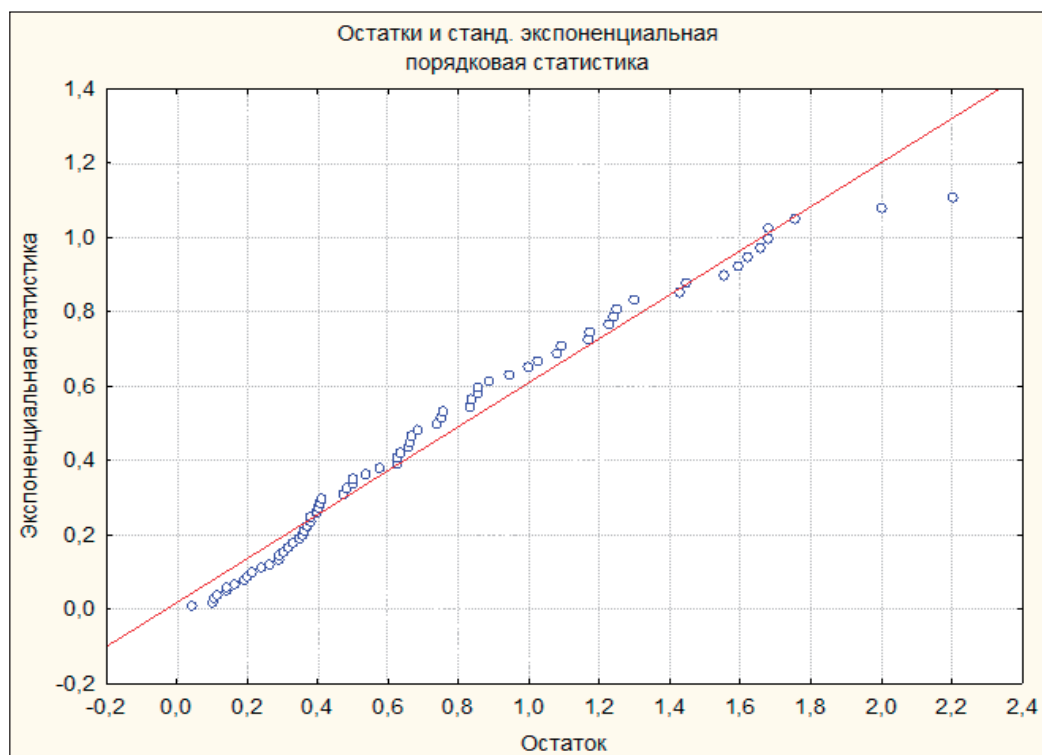


Рис. 2.58. График остатков экспоненциальной регрессионной модели общей выживаемости больных серозным РЯ, χ^2 критерий, $p=0,00016$

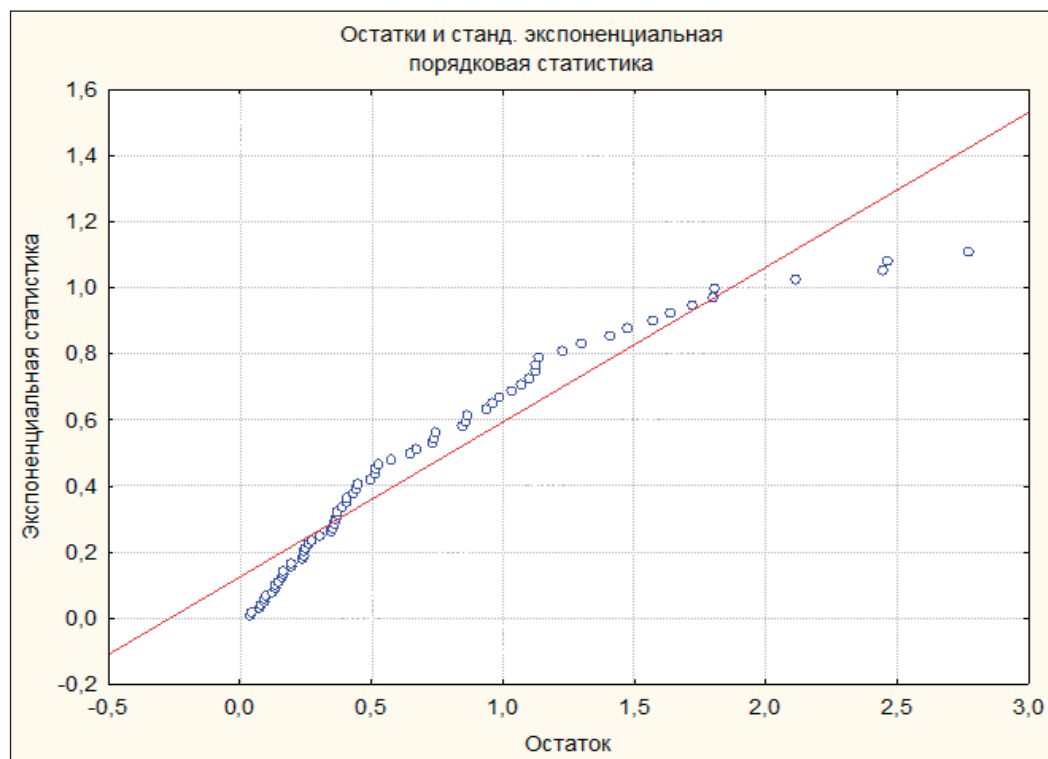


Рис. 2.59. График остатков экспоненциальной регрессионной модели безрецидивной выживаемости больных серозным РЯ, χ^2 критерий, $p=0,00003$

и позитивный гормонально-рецепторный фенотип серозного РЯ (**РЭ+РП+РТ+**).

3. Экспрессия HER-2/neu в опухолевых клетках яичника.

4. Высокая степень экспрессии VEGF в клетках серозного РЯ.

Данные показатели необходимо использовать не только как факторы неблагоприятного прогноза, но и как критерии назначения гормональной и таргетной терапии в адъювантном режиме комплексного лечения больных серозным раком яичника.

ГЛАВА 3

КЛИНИЧЕСКОЕ ПРОСПЕКТИВНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ СЕРОЗНОГО РАКА И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ КИСТ ЯИЧНИКА

ГОРМОНАЛЬНЫЙ ГОМЕОСТАЗ У БОЛЬНЫХ С РЕЦИДИВОМ СЕРОЗНОГО РАКА ЯИЧНИКА

Цель исследования – изучить и сопоставить особенности ГРС, экспрессию HER 2/neu, VEGF в клетках серозного РЯ и яичниках пациенток, оперированных по поводу доброкачественной гормонозависимой патологии матки (контрольная группа); исследовать и сопоставить гормональный гомеостаз у больных с рецидивом серозного РЯ (основная группа) и пациенток контрольной группы.

В исследовании приняла участие 41 больная с рецидивом серозного РЯ III стадии (основная группа), которой в научно-исследовательском отделении онкогинекологии (руководитель – д.мед.н., профессор Л. И. Воробьева) Национального института рака (директор – д.мед.н., профессор И. Б. Щепотин) проведено комбинированное лечение в период 2011–2012 гг., согласно стандартам диагностики и лечения онкологических больных, утвержденным Приказом МЗ Украины от 17.09.2007 г. № 554 [91]. Комбинированное лечение заключалось в проведении циторедуктивной операции с последующей химиотерапией в адъювантном режиме или в комбинации с неоадъювантной химиотерапией.

Мы проанализировали истории болезни 41 больной с рецидивом серозного РЯ. При этом учитывали возраст пациенток на момент проведения первичного лечения и развития рецидива заболевания, возрастной период женщин на момент проведения иммунохимического исследования уровня гонадотропных и периферических стероидных половых гормонов в сыворотке крови. Рецидив заболевания

у этих больных установлен спустя 12–18 месяцев после завершения первичного комбинированного лечения на основании клинических, инструментально-лабораторных, цитологических и морфологических исследований, проведенным согласно стандартным методикам.

Кроме того, в исследовании принимали участие 35 женщин с хирургической менопаузой, которым выполнено хирургическое лечение в объеме экстирпации матки с придатками по поводу лейомиомы матки в центральной городской больнице Новомосковска Днепропетровской области (заведующая гинекологическим отделением к.мед.н. С. Е. Коротич) в 2011–2012 гг. – контрольная группа.

При изучении истории болезни 35 пациенток контрольной группы также учитывали возраст на момент проведения хирургического лечения и иммунохимического исследования уровня сывороточных гонадотропных и периферических стероидных половых гормонов.

Диагноз серозный РЯ и гормонозависимые доброкачественные заболевания матки и яичника у больных проспективного исследования верифицирован на основании гистологического анализа их операционного материала (научно-исследовательское отделение патологической анатомии и гистологии Национального института рака, руководитель – д.мед.н., профессор А. Н. Грабовой; отделение патологической анатомии и гистологии Дорожной Клинической больницы на ст. Днепропетровск Приднепровской Железной Дороги, заведующий

О. С. Коцарев). Применялась стандартная методика морфологического исследования операционного материала больных двух групп согласно гистологической классификации опухолей яичника ВОЗ (2013); клиническое стадирование РЯ – по международной классификации FIGO (2010). Диагноз лейомиома матки и морфологические изменения эндометрия установлен с помощью морфологического исследования операционного материала пациенток контрольной группы согласно гистологической классификации мезенхимальных опухолей тела матки ВОЗ (2003, 2014) и гистологической классификации гиперпластических процессов эндометрия ВОЗ (1994).

У всех пациенток получено информированное согласие на использование операционного материала с диагностической целью.

Особое внимание уделили анализу результатов морфологического исследования операционного материала больных данного исследования, выявлению сопутствующих ГПЭ и их гистологический тип. Иммуногистохимический анализ операционного материала пациенток двух групп проведен совместно с заведующей лабораторией механизмов медикаментозной резистентности, д.б.н. Н. Ю. Лукьяновой в отделе мониторинга опухолевого процесса и дизайна терапии Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого (заведующий – академик НАН Украины В. Ф. Чехун). Иммуногистохимическое исследование экспрессии РЭ, РП, РТ, HER-2/neu и VEGF в опухолевых клетках яичника больных с рецидивом серозного РЯ и яичников пациенток контрольной группы выполнено согласно методике, описанной выше (см. гл. 2, разд. 2.2–2.4).

Всем больным серозным РЯ при первичном комбинированном лечении про-

ведена химиотерапия комбинацией препаратов платины и таксаносодержащих или платины и циклофосфида:

ТС: Паклитаксел 175 мг/м² 3-х часовая внутривенная инфузия 1-й день, Карбоплатин AUC 5–6 внутривенная инфузия 1-й день.

Повторение цикла каждые 3 недели.

ТР: Паклитаксел 175 мг/м² 3-х часовая внутривенная инфузия 1-й день, Цисплатин 75 мг/м² внутривенная инфузия с гидратацией 1-й день.

Повторение цикла каждые 3 недели.

ДС: Доцетакс 75 мг/м² внутривенная инфузия 1-й день, Карбоплатин AUC 5–6 внутривенная инфузия 1-й день.

Повторение цикла каждые 3 недели.

ДР: Доцетакс 75 мг/м² внутривенная инфузия 1-й день, Цисплатин 75 мг/м² внутривенная инфузия с гидратацией 1-й день.

Повторение цикла каждые 3 недели.

СР: Цисплатин 75 мг/м² внутривенная инфузия с гидратацией 1-й день, Циклофосфамид 600–750 мг/м² внутривенная инфузия 1-й день.

Повторение цикла каждые 3 недели.

СС: Циклофосфамид 600 мг/м² внутривенная инфузия 1-й день, Карбоплатин AUC 5–6 внутривенная инфузия 1-й день.

Повторение цикла каждые 3–4 недели.

Результатами наших ранее проведенных исследований установлено, что неоадывантная химиотерапия не влияет на экспрессию РСГ и отсутствует корреляция последней со степенью дифференциации опухолей яичника разного гистогенеза [395, 398], поэтому мы не распределяли больных РЯ в зависимости от проведения химиотерапии в неоадывантном или адывантном режимах и по степени дифференциации серозного РЯ.

Иммунохимический анализ сывороточных гонадотропных и периферических стероидных половых гормонов больных проспективного исследования проводился в сети медицинских лабораторий «Synevo» Киева и Днепропетровска (руководитель клинического направления лабораторной диагностики медицинской лаборатории «Synevo» в Киеве – О. В. Рыкова). Уровень сывороточных гормонов ФСГ, ЛГ, эстрадиола (E_2), прогестерона и тестостерона (свободного) у пациенток двух групп оценивался в возрастной период на момент проведения этого исследования. Анализ у больных с рецидивом РЯ осуществлялся при диагностировании рецидива заболевания (спустя 12–18 месяцев после завершения первичного лечения) до проведения лекарственной терапии, у женщин контрольной группы – спустя 12–18 месяцев после хирургического лечения. Длительность хирургической менопаузы у пациенток двух групп была сопоставимой.

У всех больных получено информированное согласие на исследование их гормонального гомеостаза.

Уровни ФСГ, ЛГ, E_2 и прогестерона определялись иммунохимическим методом с электрохемилюминесцентной детекцией (ECLIA), при помощи тест-системы Roche Diagnostics и анализатора Cobas 6000 (Switzerland). Набор реактивов для каждого сывороточного эндокринного маркера представлен в таблице 3.1.

Принцип метода – принцип «сэндвича», заключался в формировании специфического иммунокомплекса, меченного рутением, генерирующего электрохимическое свечение. Общая продолжительность анализа 18 минут.

Принцип метода

- 1-я инкубация: 20 мкл образца (сыворотка крови пациенток), биотинилированное моноклональное гормон-специфическое антитело и моноклональное гормон-специфическое анти-

Таблица 3.1

Методы иммунохимического анализа, тест-системы, анализаторы и наборы реактивов, применяемые при исследовании гормонального гомеостаза пациенток двух групп

Сывороточный половой гормон	Метод	Набор реактивов	Каталожный номер	Тест-система	Анализатор
ФСГ	Иммунохимический с электрохемилюминесцентной детекцией (ECLIA)	Elecsys ФСГ (Switzerland)	1775863	Roche Diagnostics (Switzerland)	Cobas 6000 (Switzerland)
ЛГ		Elecsys ЛГ (Switzerland)	1732234		
E_2		Elecsys Эстрадиол II (Switzerland)	03000079		
Прогестерон		Elecsys Прогестерон II (Switzerland)	2145383		
Тестостерон (свободный)	Твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA)	Free Testosterone ELISA (Germany)	AA E-1400	EUROIMMUN (Germany)	EUROIMMUN (Germany)

тело, помеченное комплексом рутения реагируют и образуют «сэндвичный» комплекс.

- 2-я инкубация: после добавления покрытых стрептавидином микрочастиц комплекс связывается с твердой фазой посредством взаимодействия биотина и стрептавида.
- Реакционная смесь аспирируется в измерительную ячейку, где микрочастицы оседают на поверхность электрода вследствие магнитного взаимодействия. Затем удаляются несвязанные вещества с помощью раствора ПроСелл. После этого приложенное к электроду напряжение вызывает хемилюминесцентную эмиссию, которая измеряется фотоумножителем.
- Результаты определяются с помощью калибровочной кривой, получаемой специальным для данного прибора способом калибровки по двум точкам, и референсной калибровочной кривой, получаемой со штрихового кода реактива.

Уровень тестостерона (свободного) определяли твердофазным иммуноферментным методом при помощи тест-системы и анализатора EUROIMMUN (Germany), и набора реактивов Free Testosterone ELISA (AA E-1400) (см. табл. 3.1).

Принцип метода такой же как и при определении уровней ФСГ, ЛГ, Э₂ и прогестерона, в качестве твердой фазы для отделения свободного конъюгата от связанного использовались пластинки с ковшиками или магнитные частицы, в качестве маркеро- фермента – пероксидаза хрена. Для положительной и отрицательной пробы применялись готовые контрольные сыворотки с заданными параметрами, которые предоставляет сам производитель каждой тест-системы. Результаты оценивались согласно диапазону измерений, представленному в каждой тест-системе. Концентрацию

каждого гормона в образцах (сыворотка крови пациентки) рассчитывали автоматически в следующих единицах: для ФСГ и ЛГ в мМЕ/мл, Э₂ и тестостерона (свободного) в пг/мл, прогестерона – нг/мл.

Для статистического анализа полученных результатов применяли методы статистической обработки данных, используемые нами выше (см. гл. 2–3).

3.1. Характеристика больных по возрасту, морфологической структуре яичников и эндометрия

Возраст больных серозным РЯ на момент проведения хирургического лечения колебался от 34 до 68 лет, составляя в среднем $50,3 \pm 1,3$ лет, пациенток контрольной группы – $47,1 \pm 1,3$ лет (38–62 года). Различия по возрасту пациенток двух групп статистически не достоверны ($p=0,25$).

Результаты исследований также оценивали в зависимости от возрастных периодов женщин обеих групп согласно классификации ВОЗ (1980): репродуктивный (до 45 лет), перименопауза (46–55 лет), ранняя постменопауза (56–60 лет) и поздняя постменопауза (61 год и \geq). Поскольку в исследовании принимала участие небольшая выборка больных, женщин постменопаузального периода не разделяли на пациенток ранней и поздней постменопаузы. Распределение больных с рецидивом РЯ в зависимости от возрастного периода представлены в таблице 3.2. Как свидетельствуют результаты исследований, представленных нами ранее [395, 398], и данные таблицы 3.2, наибольшему количеству больных серозным РЯ было проведено первичное лечение в перименопаузальном возрасте (23/56,1 %), тогда как наибольшее количество женщин контрольной группы прооперировано в репродуктивном периоде (18/51,4 %).

Таблица 3.2

**Распределение больных с рецидивом серозного РЯ
в зависимости от возрастного периода (n=41)**

Возрастной период	Количество больных с рецидивом серозного РЯ	
	n	%
Репродуктивный	8	19,5
Перименопауза	23	56,1
Постменопауза	10	24,4
Всего	41	100,0

На момент проведения исследования длительность хирургической менопаузы у больных с рецидивом серозного РЯ и пациенток контрольной группы была сопоставимой (12–18 месяцев).

Большинство женщин контрольной группы имели функциональные кисты яичника (17/48,6 %): фолликулярные (11,4 %) и кисты желтого тела (37,2 %). У 11 (31,4 %) пациенток наблюдались инволютивные изменения яичников, у 3 (8,6 %) – серозные кисты и только у 4 (11,4 %) женщин диагностированы яичники с нормальной морфологической структурой.

Распределение женщин контрольной группы в зависимости от возрастных периодов и морфологической структуры яич-

ника представлены в таблице 3.3, из данных которой следует, что морфологически не измененный яичник и функциональные кисты диагностированы у женщин репродуктивного возраста (11,4 и 40,0 %, соответственно), тогда как у пациенток перименопаузального и постменопаузального периода наблюдались инволютивные изменения в яичниках (31,4 %). Функциональные кисты верифицированы у 8,6 % больных перименопаузы, серозная киста яичника – у 8,6 % женщин пери- и постменопаузального возраста.

Анализ результатов морфологического исследования операционного материала больных основной и контрольной групп, показал наличие сопутствующих ГПЭ у пациенток двух групп. Гистологическая

Таблица 3.3

**Распределение женщин контрольной группы
в зависимости от возрастного периода и морфологической структуры яичника (n=35)**

Возрастной период	Морфологическая структура яичника											
	Нормальная структура		Инволютивные изменения		Фолликулярная киста		Киста желтого тела		Серозная киста		Всего	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
РП	4	11,4	0	0,0	4	11,4	10	28,6	0	0,0	18	51,4
ПериМ	0	0,0	7	20,0	0	0,0	3	8,6	2	5,7	12	34,3
ПМ	0	0,0	4	11,4	0	0,0	0	0,0	1	2,9	5	14,3
Всего	4	11,4	11	31,4	4	11,4	13	37,2	3	8,6	35	100

Примечания:

РП – репродуктивный период; ПериМ – перименопауза; ПМ – постменопаузальный период.

характеристика эндометрия у больных с рецидивом РЯ и пациенток контрольной группы в зависимости от возрастного периода представлена в таблице 3.4. Как свидетельствуют данные этой таблицы, у 29 (70,8 %) больных с рецидивом РЯ наблюдались сопутствующие ГПЭ, при этом КНАГЭ диагностирована у 24 (58,6 %) пациенток. Среди женщин контрольной группы сопутствующие ГПЭ отмечены у 24 (68,2 %) пациенток, из них у 18 (51,5 %) – регистрирована КНАГЭ. Таким образом, частота выявления сопутствующих ГПЭ, в частности КНАГЭ, не имела достоверных различий у больных основной и контрольной групп. Как упо-

миналось нами выше, КНАГЭ, по данным литературы и клинических наблюдений, является результатом хронической гиперэстрогении, поэтому представленные данные указывают на определенное значение общих факторов риска и механизмов гормональных нарушений у больных РЯ и пациенток контрольной группы [51, 57, 131, 134].

Более того, среди больных контрольной группы наибольшая частота КНАГЭ отмечена у женщин репродуктивного периода (12/34,3 %), тогда как у больных с рецидивом РЯ КНАГЭ чаще наблюдалась среди пациенток перименопаузы (17/41,5 %). Однако необходимо отметить, что боль-

Таблица 3.4

Гистологическая характеристика эндометрия у больных с рецидивом серозного РЯ и пациенток контрольной группы в зависимости от возрастного периода

Возрастной период	Количество больных серозным РЯ (n=41/100,0 %)									
	Атрофичный эндометрий		Эндометрий фазы пролиферации		КНАГЭ		ПНАГЭ		Полипы железисто-кистозные	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
РП, n=8/19,5%	0	0,0	1	2,4	5	12,2	2	4,9	0	0,0
ПериМ, n=23/56,1%	2	4,9	3	7,3	17	41,5	0	0,0	1	2,4
ПМ, n=10/24,4%	6	14,6	0	0,0	2	4,9	0	0,0	2	4,9
Всего n=41/100%	8	19,5	4	9,7	24	58,6	2	4,9	3	7,3
Пациентки контрольной группы (n=35/100,0 %)										
РП, n=18/51,4%	1	2,9	4	11,4	12	34,3	1	2,9	0	0,0
ПериМ, n=12/34,3%	0	0,0	3	8,6	5	14,3	0	0,0	4	11,4
ПМ, n=5/14,3%	3	8,6	0	0,0	1	2,9	0	0,0	1	2,9
Всего n=35/100%	4	11,4	7	20,0	18	51,5	1	2,9	5	14,3

Примечания:

РП – репродуктивный период; ПериМ – перименопауза; ПМ – постменопаузальный период; ПНАГЭ – простая неатипическая гиперплазия эндометрия.

шую часть пациенток контрольной группы составили женщины репродуктивного периода (51,4 %), тогда как среди больных с рецидивом РЯ – пациентки перименопаузального возраста (56,1 %) (см. табл. 3.4). Как указывалось нами ранее, больные РЯ перименопаузального и постменопаузального периода имеют наиболее агрессивное и неблагоприятное течение опухолевого процесса [395, 398].

В дальнейшем у женщин контрольной группы оценили морфологическую структуру яичника и сопоставили с гистологической структурой эндометрия (табл. 3.5).

Как свидетельствуют данные таблицы 3.5, большинство женщин контрольной группы имели функциональные кисты яичника (17/48,6 %): фолликулярные (4/11,4 %) и кисты желтого тела (13/37,2 %). Более того, у пациенток с функциональными кистами яичника наблюдались сопутствующие ГПЭ

(14/40,1 %), среди которых в 34,3 % случаев диагностирована КНАГЭ. И только у 8,6 % женщин контрольной группы выявились серозные кисты яичника без эпителиальной выстилки, которые, как известно, являются конечным этапом развития и существования некоторых фолликулярных кист и кист желтого тела. Потеря эпителиальной выстилки в результате сращивания или атрофии, частого склерозирования или гиалинизации подлежащих слоев не дает возможности при морфологическом исследовании точно указать гистогенез этих кист [27, 111, 113].

Функциональные кисты яичника возникают из его физиологических структур. Важнейшей их чертой в значительном количестве случаев является транзиторный характер существования, регрессирование наступает через 2–4 месяца. Достоверно известно, что к формированию фолликулярных кист ведет персистенция непроовулировавшего фолликула, в полости

Таблица 3.5

**Гистологическая структура яичника и эндометрия
у пациенток контрольной группы (n=35)**

Гистологическая структура эндометрия	Гистологическая структура яичника											
	Нормальная структура		Инволютивные изменения		Фолликулярная киста		Киста желтого тела		Серозная киста		Всего	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Атрофичный эндометрий	0	0,0	2	5,7	0	0,0	1	2,9	1	2,9	4	11,4
Эндометрий фазы пролиферации	3	8,6	2	5,7	1	2,9	1	2,9	0	0,0	7	20,0
КНАГЭ	1	2,9	4	11,4	3	8,6	9	25,7	1	2,9	18	51,4
ПНАГЭ	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	2,9	0	0,0	1	2,9
Полипы железисто-кистозные	0	0,0	3	8,6	0	0,0	1	2,9	1	2,9	5	14,3
Всего	4	11,4	11	31,4	4	11,4	13	37,2	3	8,6	35	100,0

Примечание: ПНАГЭ – простая неатипическая гиперплазия эндометрия

которого накапливается фолликулярная жидкость. Стенки кисты содержат гранулезные и тека-клетки. Фолликулярные кисты являются результатом многофакторных причин, среди которых ведущая роль отводится нарушению в системе гипоталамус-гипофиз-яичники, что приводит к десинхронизации активности биохимических факторов, участвующих в интрафолликулярном механизме овуляции, включая простагландины, протеолитические ферменты, окситоцин и релаксин. Образование кист желтого тела вызвано также гормональным дисбалансом и нарушением кровообращения и лимфооттока в тканях яичника. Лютеинизированные гранулезные клетки и тека-клетки располагаются в стенке кисты в виде пластов или отдельных групп. В норме желтое тело обладает самым высоким уровнем васкуляризации в организме человека, этот процесс непосредственно регулируется высокой экспрессией VEGF. Ангиогенная актив-

ность находится под контролем основных ростовых факторов: HER-2/neu, IGF-1, фактора роста фибробластов, тромбоцитов, тумор некротического фактора, а также интерлейкинов 1 и 6 [125, 130, 414]. Исходя из выше изложенного, нами изучена и сопоставлена экспрессия PCG, HER-2/neu, VEGF в серозном РЯ и в яичниках, с различными морфологическими изменениями, пациенток основной и контрольной групп.

3.2. Особенности гормонального рецепторного статуса, экспрессии HER-2/neu, VEGF в серозном раке и функциональных кистах яичника

Результаты иммуногистохимического исследования экспрессии PCG, HER-2/neu, VEGF в серозном РЯ и яичниках пациенток основной и контрольной групп представлены на рисунках 3.1–3.2 и в таблице 3.6. Из данных этой таблицы следует, что

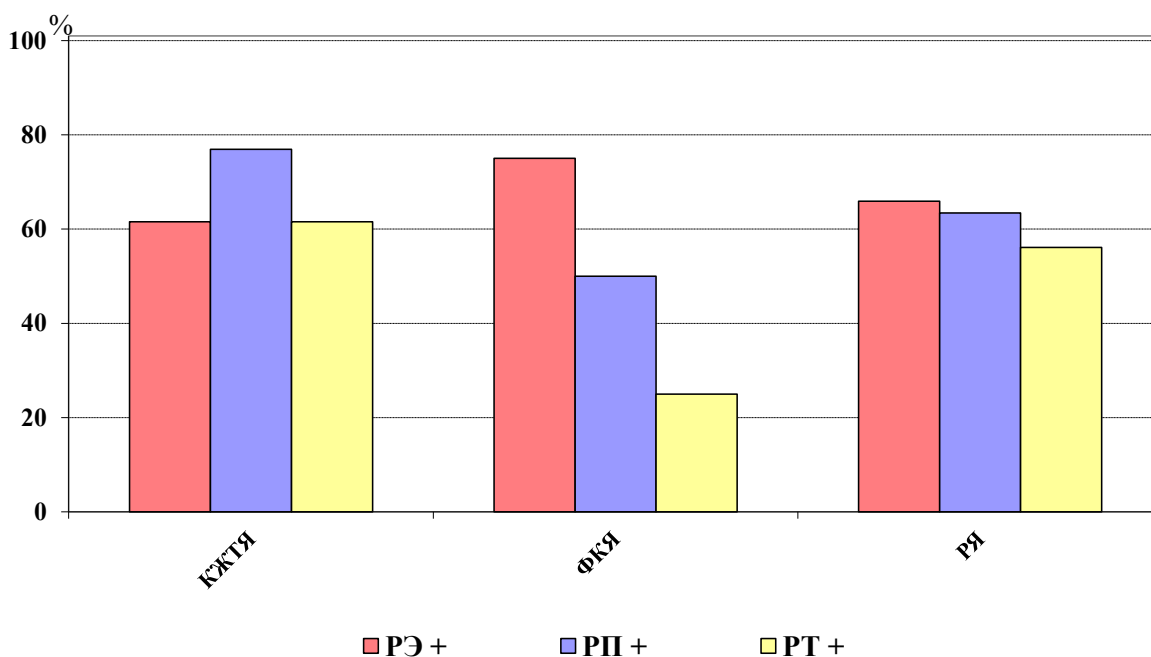
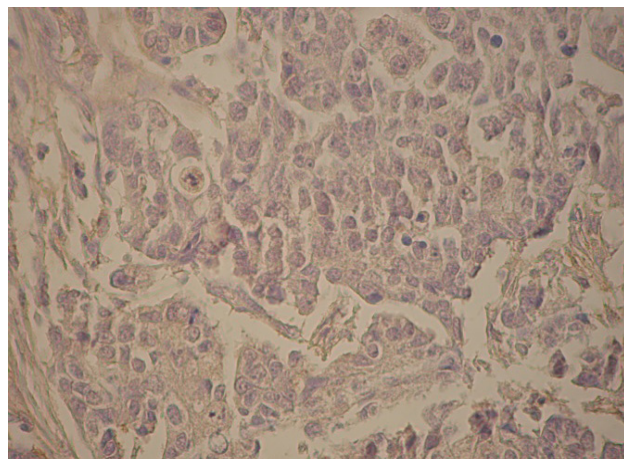


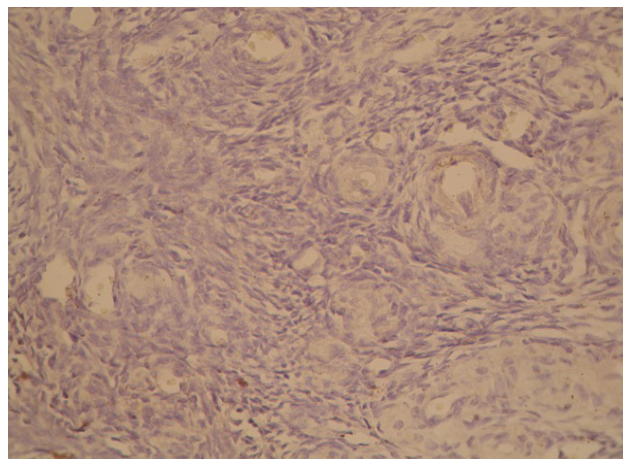
Рис. 3.1. Частота экспрессии РСГ в клетках серозного РЯ и функциональных кист яичника

Примечания:

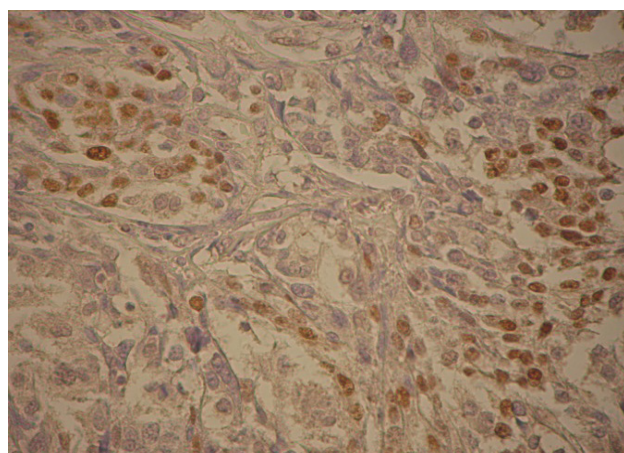
КЖТЯ – киста желтого тела яичника; ФКЯ – фолликулярная киста яичника; РЯ – рак яичника.



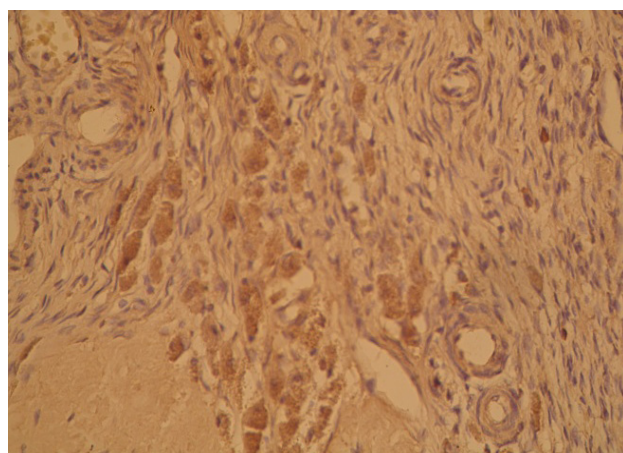
А



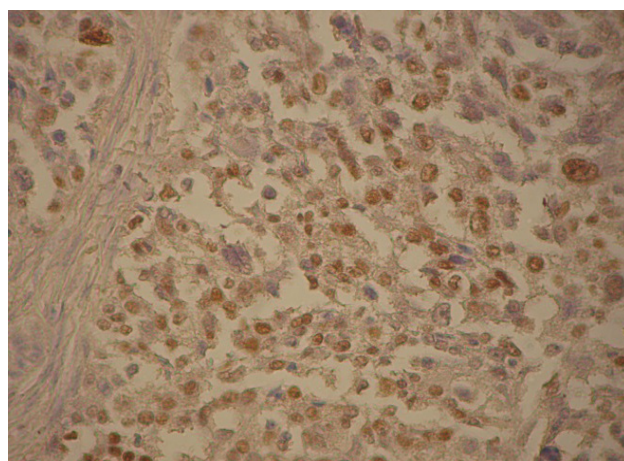
Б



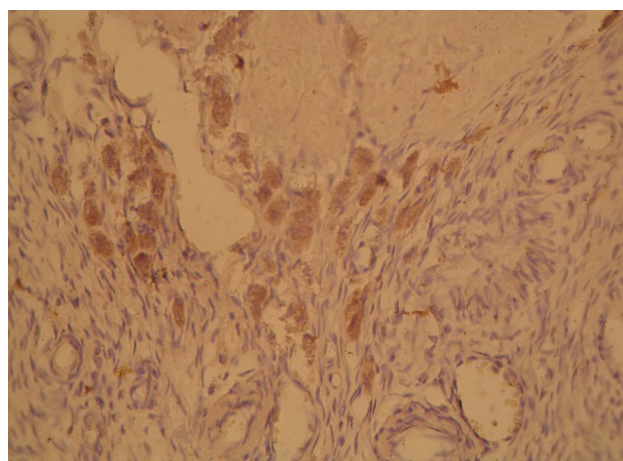
В



Г



Д

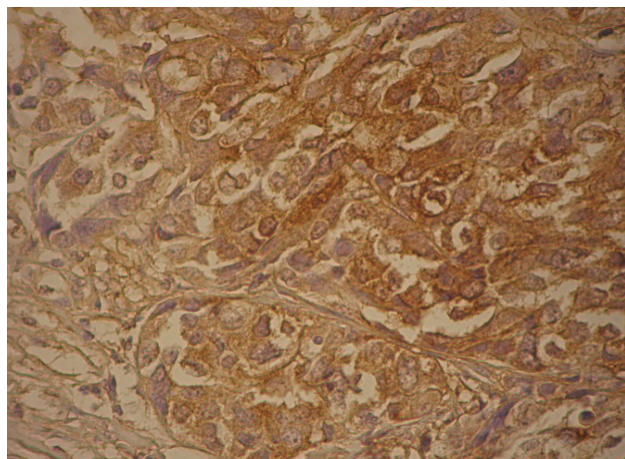


Е

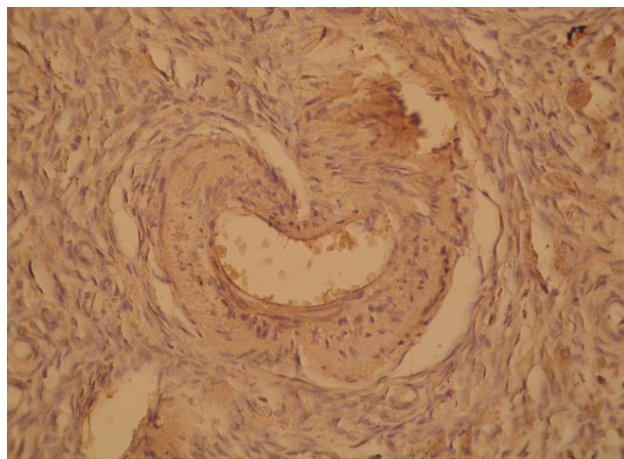
Рис. 3.2. Иммуногистохимическая картина

Примечания:

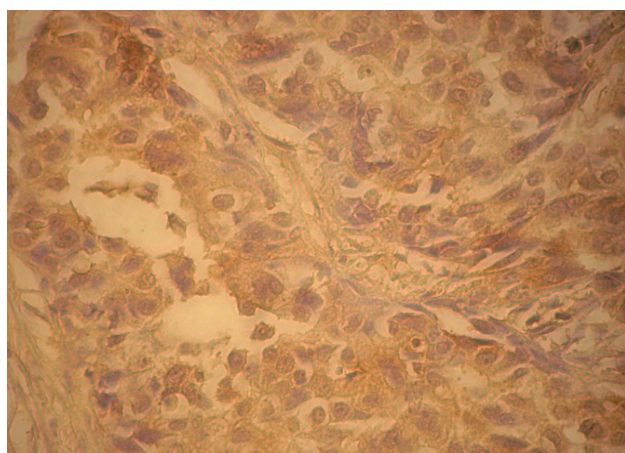
А – отсутствие экспрессии исследуемых маркеров в клетках серозного РЯ; Б – отсутствие экспрессии маркерной степени экспрессии РЭ в клетках кисты желтого тела; Д – высокая степень экспрессии РП в клетках экспрессии РТ в клетках серозного РЯ; 3 – умеренная степень экспрессии РТ в клетках кисты желтого тела; HER-2/neu в клетках кисты желтого тела; Л – высокая степень экспрессии VEGF в клетках серозного РЯ;



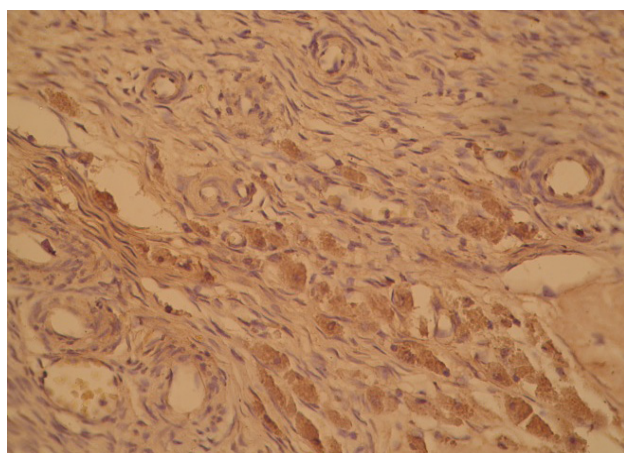
Ж



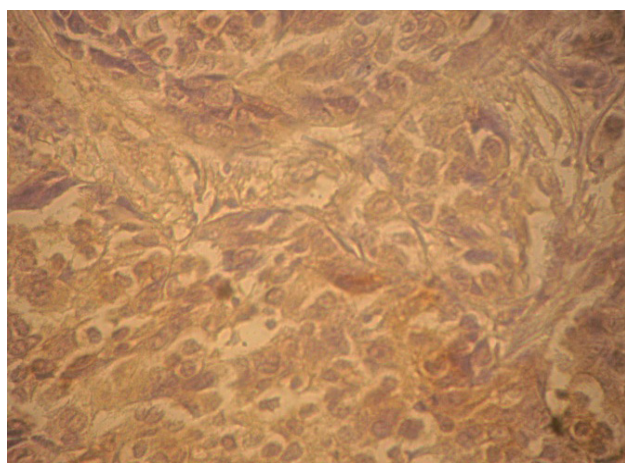
З



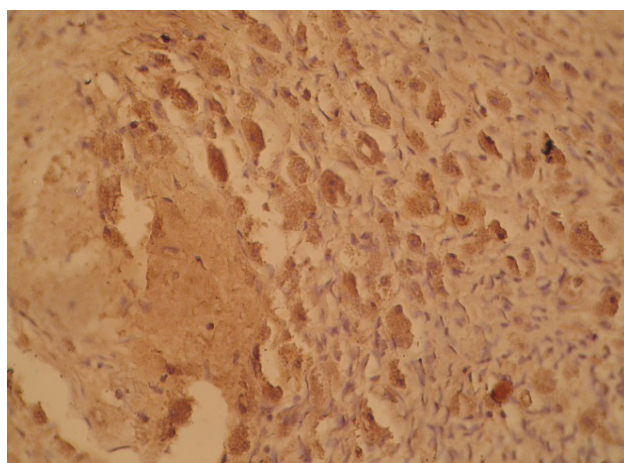
И



К



Л



М

в клетках серозного РЯ и кисты желтого тела, $\times 400$

керо в клетках кисты желтого тела; В – высокая степень экспрессии РЭ в клетках серозного РЯ; Г – умеренного РЯ; Е – умеренная степень экспрессии РП в клетках кисты желтого тела; Ж – высокая степень экспрессии РЭ в клетках серозного РЯ; И – высокая степень экспрессии HER-2/neu в клетках серозного РЯ; К – высокая степень экспрессии VEGF в клетках кисты желтого тела.

Таблица 3.6

Экспрессия PCГ, HER-2/neu, VEGF в клетках серозного РЯ больных основной группы и яичниках пациенток контрольной группы

Серозный РЯ, n=41/100%	Больные основной группы (n=41)									
	РЭ +		РП +		РТ +		HER-2/neu		VEGF	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
	27	65,9	26	63,4	23	56,1	27	65,9	20	48,8
Морфологическая структура яичника	Пациентки контрольной группы (n=35)									
	РЭ +		РП +		РТ +		HER-2/neu		VEGF	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Нормальная структура яичника, n=4/100 %	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Инволютивные изменения, n=11/100 %	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Серозные кисты, n=3/100 %	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Фолликулярные кисты, n=4/100 %	3	75,0	2	50,0	1	25,0	3	75,0	2	50,0
Кисты желтого тела, n=13/100 %	8	61,5	10	76,9	8	61,5	12	92,3	9	69,2

в клетках серозного РЯ наблюдалась высокая частота позитивной экспрессии РЭ, РП, РТ, HER-2/neu и VEGF (65,9 %, 63,4 %, 56,1 %, 65,9 и 48,8 %, соответственно).

Анализируя результаты экспрессии PCГ, HER-2/neu и VEGF в яичниках пациенток контрольной группы, установлено полное отсутствие экспрессии перечисленных маркеров в эпителиальных, стромальных, гранулезных и тека-клетках морфологически не измененного яичника, яичника с инволютивными изменениями, а также яичника с серозными кистами. Однако наблюдалась высокая частота позитивной экспрессии PCГ, HER-2/neu и VEGF в гранулезных, тека- и лютеиновых клетках функциональных кист яичника: фолликулярных – 75,0 %, 50,0 %, 25,0 %, 75,0 и 50,0 %, соответственно, кист желтого тела – 61,5 %, 76,9 %, 61,5 %, 92,3 и 69,2 %, соответ-

ственно. Различия в частоте экспрессии PCГ, HER-2/neu, VEGF в серозном РЯ и функциональных кистах не имели достоверности ($p>0,05$). Исключением явилась достоверно более низкая частота экспрессии РТ в клетках фолликулярных кист по сравнению с таковой в кистах желтого тела и серозном РЯ ($p=0,03$). Как установлено нами ранее, выраженная экспрессия РТ в серозном РЯ является фактором неблагоприятного течения опухолевого процесса [395, 398].

Таким образом, высокая частота экспрессии PCГ, HER-2/neu, VEGF в клетках серозного РЯ и функциональных кист яичника позволяет предположить о наличии общих факторов риска и механизмов развития РЯ и доброкачественных гормонозависимых заболеваний матки и яичника.

3.3. Рецепторный статус серозного рака и функциональных кист яичника в зависимости от возраста больных

Нами проанализирована и сопоставлена частота экспрессии РСГ, HER-2/neu, VEGF в серозном РЯ и функциональных кистах яичника пациенток основной и контрольной групп в зависимости от возрастного периода (табл.3.7 и рис. 3.3–3.7).

Как свидетельствуют данные таблицы 3.7 и рисунков 3.3–3.7, наибольшее количество эстроген-, прогестерон- и тестостерон-рецепторположительных опухо-

лей наблюдалось у больных с рецидивом РЯ перименопаузального возраста – 63,0 %, 61,5 и 65,2 %, соответственно. При этом наибольшее количество VEGF и HER-2/neu-положительных опухолей тоже выявлено у пациенток этого возрастного периода (60,0 и 55,6 %, соответственно). Однако следует отметить, что большую часть больных с рецидивом РЯ составили женщины перименопаузального возраста (56,1 %). Второе место по частоте встречаемости эстроген-, прогестерон-, тестостерон-рецепторположительных опухолей отводится больным постменопаузального периода (22,2 %, 26,9 и 21,7 %, соответственно).

Таблица 3.7

Частота экспрессии РСГ, HER-2/neu, VEGF в клетках серозного рака и функциональных кист яичника в зависимости от возраста больных

Возрастной период, n=41/100%	Больные с рецепторположительным серозным РЯ (основная группа, n=41)									
	РЭ +		РП +		РТ +		HER-2/neu		VEGF	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Репродуктивный период, n=8/19,5%	4	14,8	3	11,6	3	13,1	7	25,9	4	20,0
Перименопауза, n=23/56,1%	17	63,0	16	61,5	15	65,2	15	55,6	12	60,0
Постменопауза, n=10/24,4%	6	22,2	7	26,9	5	21,7	5	18,5	4	20,0
Всего	27	65,9/100,0	26	63,4/100,0	23	56,1/100,0	27	65,9/100,0	20	48,8/100,0
Возрастной период, n=35/100%	Пациентки с рецепторположительными функциональными кистами яичника (контрольная группа, n=35)									
	РЭ +		РП +		РТ +		HER-2/neu		VEGF	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Репродуктивный период, n=18/51,4%	11	100,0	11	91,7	8	88,9	13	86,7	10	90,9
Перименопауза, n=12/34,3%	0	0,0	1	8,3	1	11,1	2	13,3	1	9,1
Постменопауза, n=5/14,3%	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
Всего	11	31,4/100,0	12	34,3/100,0	9	25,7/100,0	15	42,9/100,0	11	31,4/100,0

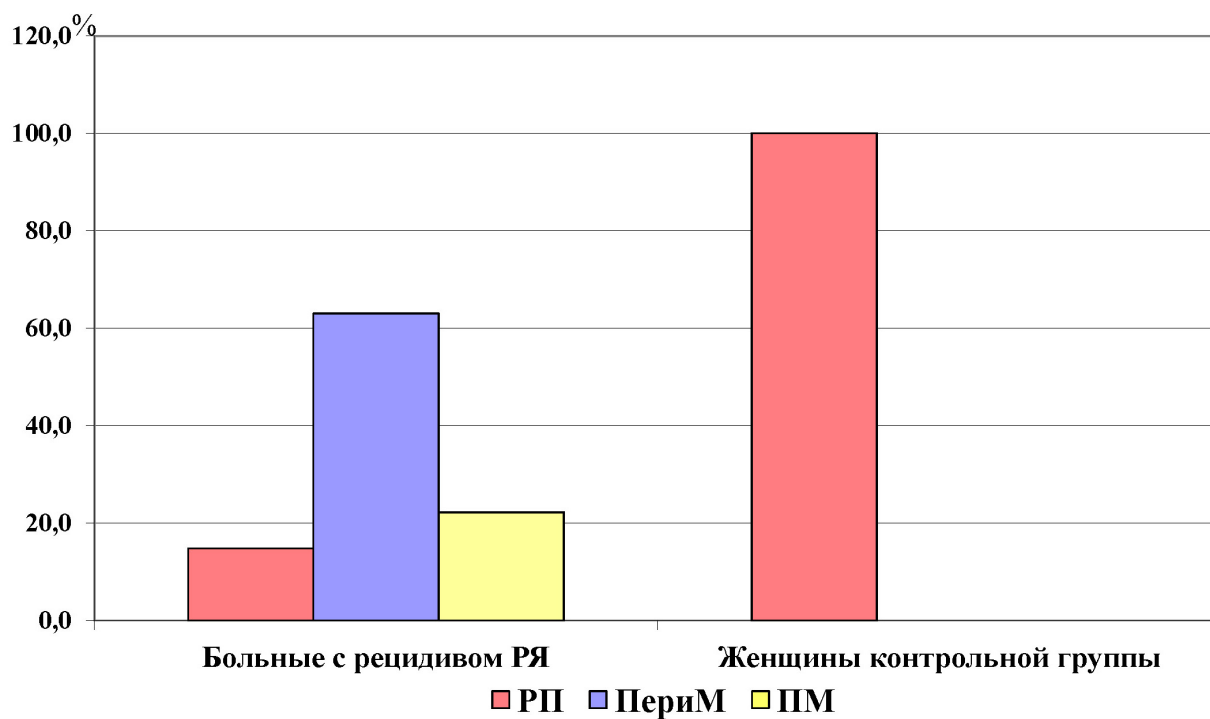


Рис. 3.3. Частота экспрессии РЭ в клетках серозного РЯ и функциональных кист яичника пациенток основной и контрольной групп в зависимости от возрастного периода

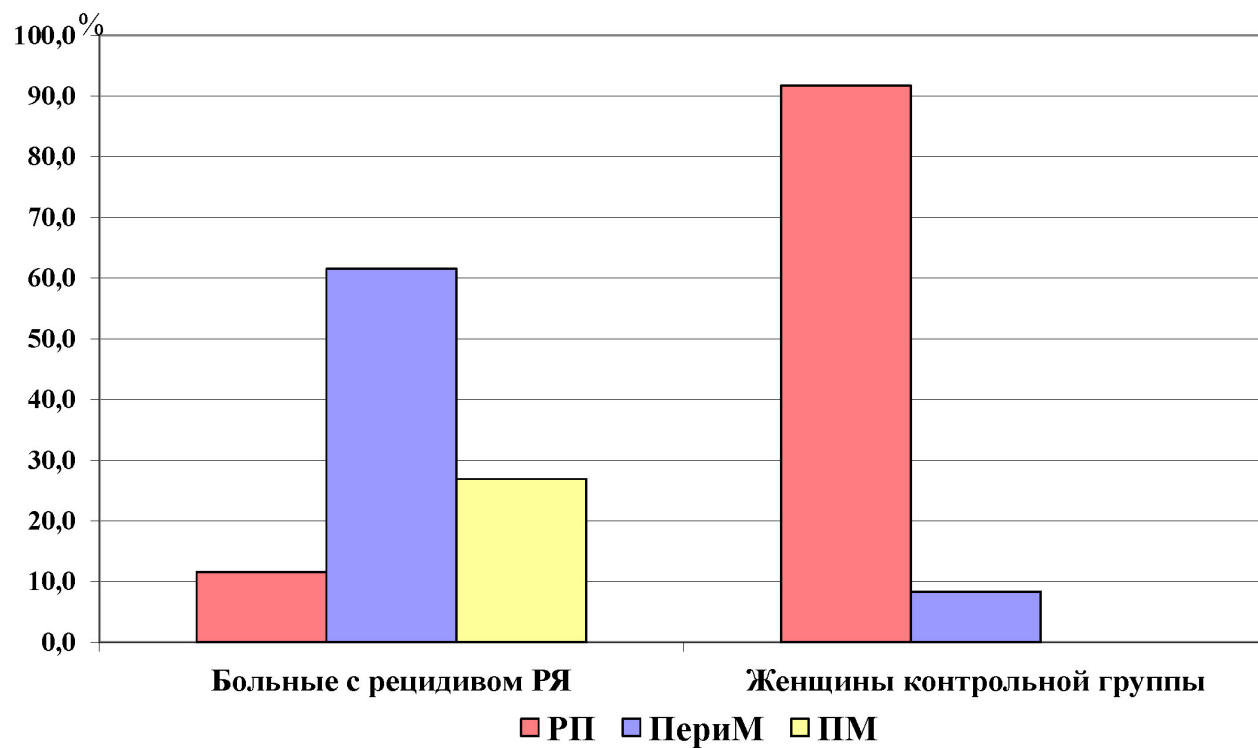


Рис. 3.4. Частота экспрессии РП в клетках серозного РЯ и функциональных кист яичника пациенток основной и контрольной групп в зависимости от возрастного периода

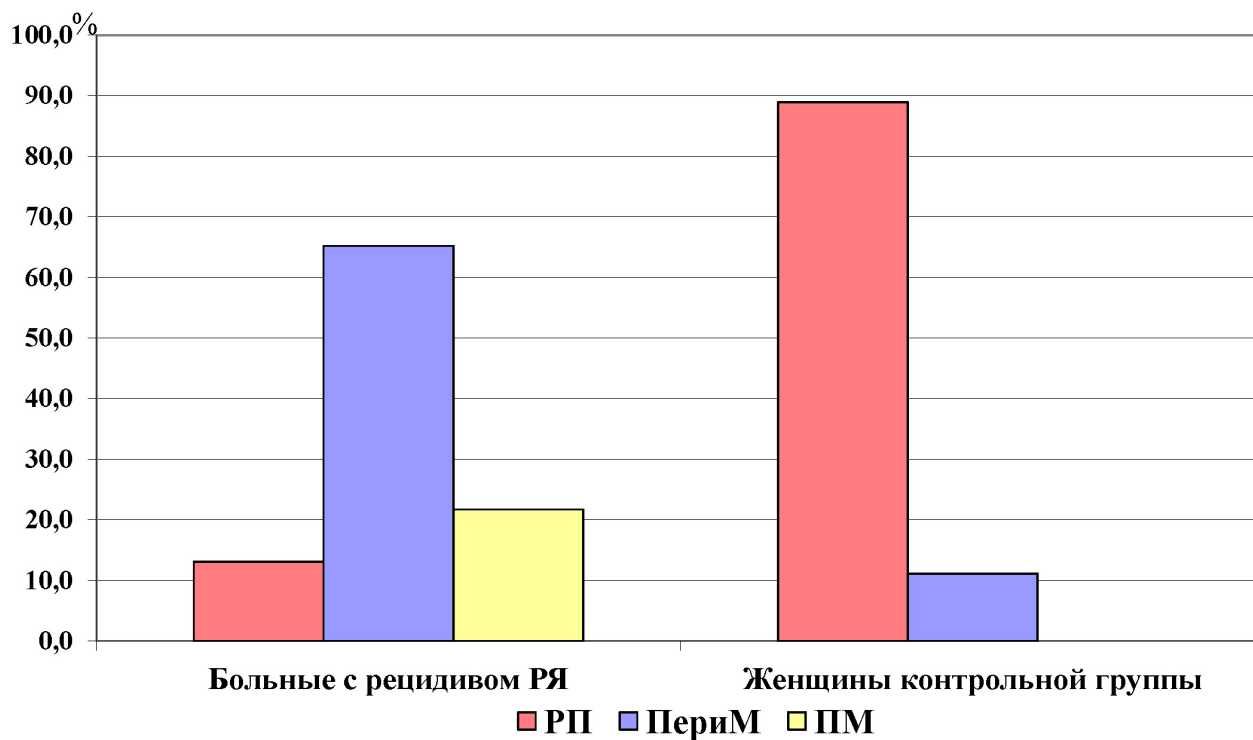


Рис. 3.5. Частота экспрессии РТ в клетках серозного РЯ и функциональных кист яичника пациенток основной и контрольной групп в зависимости от возрастного периода

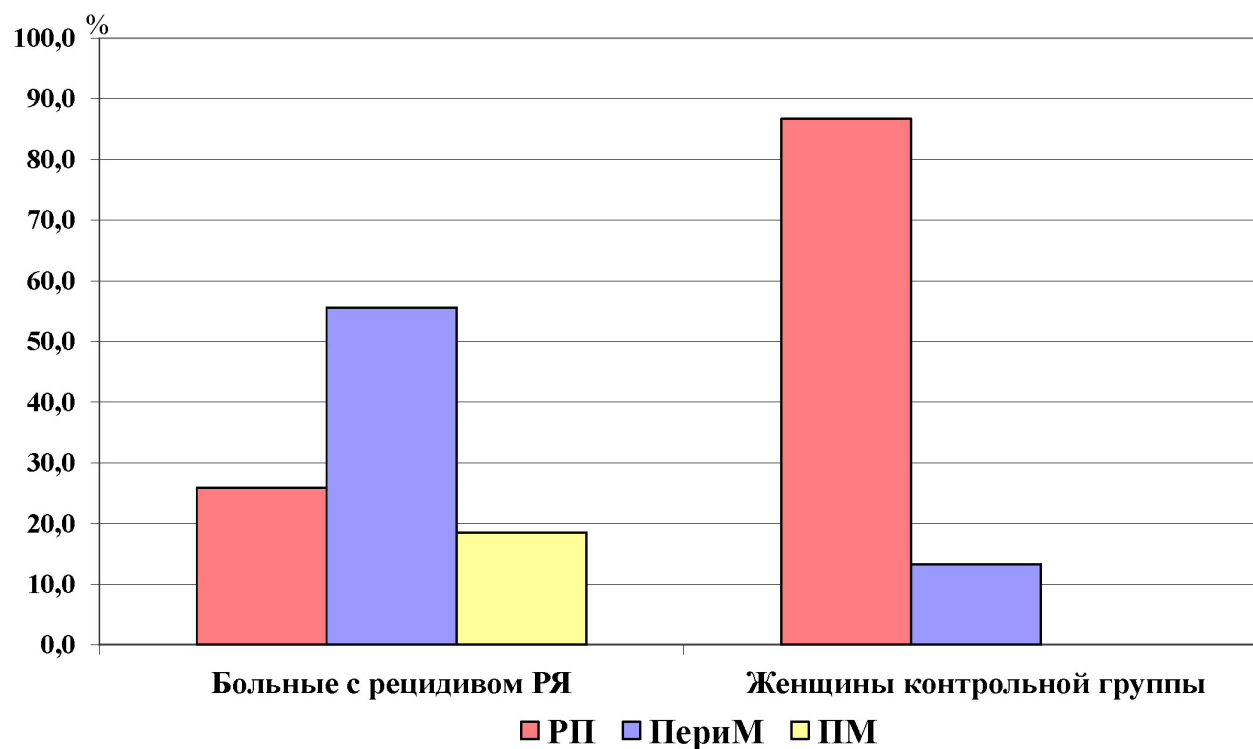


Рис. 3.6. Частота экспрессии HER-2/neu в клетках серозного РЯ и функциональных кист яичника пациенток основной и контрольной групп в зависимости от возрастного периода

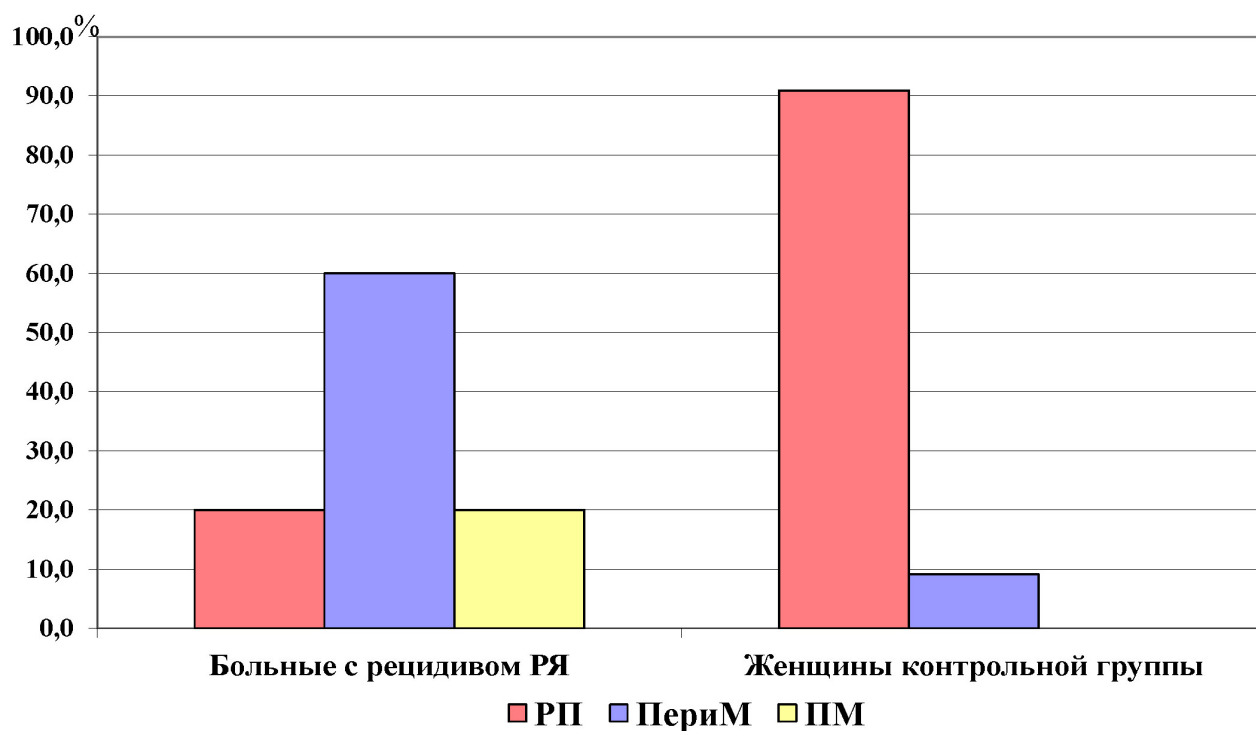


Рис. 3.7. Частота экспрессии VEGF в клетках серозного РЯ и функциональных кист яичника пациенток основной и контрольной групп в зависимости от возрастного периода

Примечания:

РП – репродуктивный период; ПериМ – перименопауза; ПМ – постменопауза.

соответственно). Наименьшая частота рецепторпозитивного серозного РЯ наблюдалась у пациенток репродуктивного возраста: по РЭ – 14,8 %, РП – 11,6 % и РТ – 13,1 %. Различия между показателями частоты экспрессии РСГ в серозном РЯ больных разных возрастных периодов достоверно значимы (репродуктивный период и перименопауза – $p=0,01$, перименопауза и постменопауза – $p=0,03$, постменопауза и репродуктивный период – $p=0,04$). Результаты ранее проведенных наших и других исследований показано, что больные РЯ перименопаузы и постменопаузы имеют наиболее агрессивное течение и неблагоприятный прогноз заболевания [19, 20, 141, 229, 395, 398]. Более того, у больных серозным РЯ постменопаузального возраста отмечена наивысшая частота опухолей

с положительным ГРС, и выживаемость этих пациенток была достоверно ниже, чем у больных с рецепторотрицательным серозным РЯ.

Анализируя зависимость экспрессии РСГ в клетках серозного РЯ между собой (табл. 3.8), отмечена прямая корреляционная связь между частотой экспрессии РЭ и РП ($p=0,001$), РЭ и РТ ($p=0,003$), РП и РТ ($p=0,002$), особенно значимая между РЭ и РП ($r=0,823$). Кроме того, установлена достоверная прямая корреляция между частотой экспрессии РЭ, РП и возрастным периодом больных с рецидивом РЯ ($r=0,354$, $p=0,001$ и $r=0,342$, $p=0,031$, соответственно), и отсутствие таковой для экспрессии РТ ($r=-0,117$, $p=0,6$). Полученные данные согласуются с результатами, ранее проведенных нами исследований [395, 398].

Таблица 3.8

Ранговые корреляции Гамма между экспрессией PCT, HER-2/neu, VEGF в клетках серозного РЯ, возрастом больных (n=41)

Показатель	Коэффициент корреляции	p
PЭ & возрастной период	0,354	0,001
PЭ & PП	0,823	0,001
PЭ & PT	0,426	0,003
PЭ & HER-2/neu	-0,112	0,462
PЭ & VEGF	0,254	0,151
PП & возрастной период	0,342	0,031
PП & PЭ	0,823	0,001
PП & PT	0,397	0,002
PП & HER-2/neu	0,125	0,317
PП & VEGF	0,027	0,763
PT & возрастной период	-0,117	0,591
PT & PЭ	0,426	0,003
PT & PП	0,397	0,002
PT & HER-2/neu	0,012	0,879
PT & VEGF	0,059	0,692
HER-2/neu & возрастной период	-0,014	0,851
HER-2/neu & PЭ	-0,112	0,462
HER-2/neu & PП	0,125	0,317
HER-2/neu & PT	0,012	0,879
HER-2/neu & VEGF	0,925	0,001
VEGF & возрастной период	-0,036	0,727
VEGF & PЭ	0,254	0,151
VEGF & PП	0,027	0,763
VEGF & PT	0,059	0,692
VEGF & HER-2/neu	0,925	0,001

Частота экспрессии VEGF в опухолевых клетках яичника больных с рецидивом РЯ репродуктивного и постменопаузального возраста была одинаковой – 20,0 % (см. табл. 3.7). Различия в показателях частоты экспрессии HER-2/neu

в серозном РЯ больных этих возрастных категорий (25,9 и 18,5 %, соответственно) не имели достоверности ($p > 0,05$). Более того, статистический анализ показал отсутствие корреляционной связи между частотой экспрессии HER-2/neu,

VEGF в серозном РЯ и возрастом больных ($r=-0,014$, $p=0,85$ и $r=-0,036$, $p=0,73$, соответственно). При этом установлена значимая корреляция экспрессии HER-2/neu с экспрессией VEGF в клетках серозного РЯ ($r=0,925$, $p=0,001$) (см. табл. 3.8). Таким образом, представленные данные подтверждают полученные результаты ранее проведенных нами исследований [137, 138].

При оценке связи экспрессии HER-2/neu и VEGF с экспрессией PCG в опухолевых клетках яичника отмечено отсутствие достоверной корреляции между ними (см. табл. 3.8). Полученные данные также согласуются с результатами ранее проведенных нами исследований, в которых установлено, что экспрессия HER-2/neu и VEGF в серозном РЯ являются независимыми факторами агрессивного и неблагоприятного течения опухолевого процесса [137, 138].

Анализируя частоту экспрессии РЭ, РП, РТ, HER-2/neu и VEGF в клетках функциональных кист яичника пациенток контрольной группы, отмечены самые высокие показатели среди женщин репродуктивного периода – 100 %, 91,7 %, 88,9 %, 86,7 и 90,9 %, соответственно. И только в единичных случаях наблюдалась экспрессия этих маркеров в функциональных кистах яичника женщин перименопаузального возраста (см. табл. 3.7 и рис. 3.3–3.7). Полученные данные объяснимы возрастным физиологическим состоянием пациенток контрольной группы, поскольку наличие функциональных кист яичника характерно только для менструирующих женщин [27, 86, 125].

В дальнейшем проведена оценка ранговых корреляций между экспрессией PCG, HER-2/neu, VEGF в функциональных кистах яичника и возрастом пациенток контрольной группы (табл. 3.9).

Как свидетельствуют данные таблицы 3.9, установлены достоверные корреляционные связи между всеми показателями, исключением явилось отсутствие корреляции между экспрессией РТ и VEGF ($r=0,173$, $p=0,46$), экспрессией HER-2/neu, VEGF и возрастным периодом женщин ($r=-0,073$, $p=0,7$ и $r=-0,026$, $p=0,91$, соответственно).

Полученные данные подтверждают непосредственное участие экспрессии PCG, HER-2/neu и VEGF в гранулезных, тека- и лютеиновых клетках в регуляции нормального овариально-менструального цикла женщин [130, 414].

Далее, проведен анализ средней степени экспрессии PCG, HER-2/neu, VEGF в клетках серозного РЯ и функциональных кист яичника, результаты представлены в таблице 3.10 и рисунке 3.8.

Из данных таблицы 3.10 следует, что в функциональных кистах яичника наблюдалась достоверно низкая степень экспрессии РЭ, РП и РТ ($10,0\pm3,3$ %, $12,6\pm4,1$ и $10,0\pm3,8$ %, соответственно), при этом, учитывая статистическую стандартную ошибку, в некоторых случаях уровень экспрессии РЭ и РТ можно расценить как негативный. И, напротив, в серозном РЯ отмечалась умеренная степень экспрессии PCG, при этом самая высокая зарегистрирована для РЭ ($33,7\pm4,9$ %).

Таким образом, средний уровень экспрессии PCG в серозном РЯ достоверно выше, чем в функциональных кистах яичника (для РЭ – $p=0,0002$, РП – $p=0,009$, РТ – $p=0,02$). Подобная тенденция отмечена и при оценке средней степени экспрессии HER-2/neu в клетках РЯ и функциональных кист яичника ($38,5\pm5,6$ % против $18,6\pm4,6$ %, $p=0,008$).

Средняя степень экспрессии VEGF в серозном РЯ была также выше ($28,9\pm4,7$ %) по сравнению с таковой

Таблица 3.9

Ранговые корреляции Гамма между экспрессией PСГ, HER-2/neu, VEGF
в клетках функциональных кист яичника, возрастом пациенток (n=35)

Показатель	Коэффициент корреляции	p
РЭ & возрастной период	-0,658	0,001
РЭ & РП	0,871	0,001
РЭ & РТ	-0,726	0,001
РЭ & HER-2/neu	0,627	0,002
РЭ & VEGF	0,554	0,005
РП & возрастной период	-0,497	0,032
РП & РЭ	0,871	0,001
РП & РТ	-0,645	0,002
РП & HER-2/neu	-0,425	0,031
РП & VEGF	0,627	0,002
РТ & возрастной период	0,526	0,017
РТ & РЭ	-0,526	0,016
РТ & РП	-0,645	0,002
РТ & HER-2/neu	0,523	0,012
РТ & VEGF	0,173	0,456
HER-2/neu & возрастной период	-0,073	0,701
HER-2/neu & РЭ	0,627	0,002
HER-2/neu & РП	-0,425	0,031
HER-2/neu & РТ	0,523	0,012
HER-2/neu & VEGF	0,658	0,001
VEGF & возрастной период	-0,026	0,912
VEGF & РЭ	0,554	0,005
VEGF & РП	0,627	0,002
VEGF & РТ	0,173	0,456
VEGF & HER-2/neu	0,658	0,001

Таблица 3.10

Средняя степень экспрессии PСГ, HER-2/neu, VEGF
в клетках серозного РЯ и функциональных кист яичника

Показатель	Среднее количество иммунопозитивных клеток, %		p
	Серозный РЯ	Функциональные кисты яичника	
РЭ	33,7±4,9	10,0±3,3	0,0002
РП	29,5±4,8	12,6±4,1	0,009
РТ	23,7±4,1	10,0±3,8	0,02
HER-2/neu	38,5±5,6	18,6±4,6	0,008
VEGF	28,9±4,7	16,9±4,7	0,08

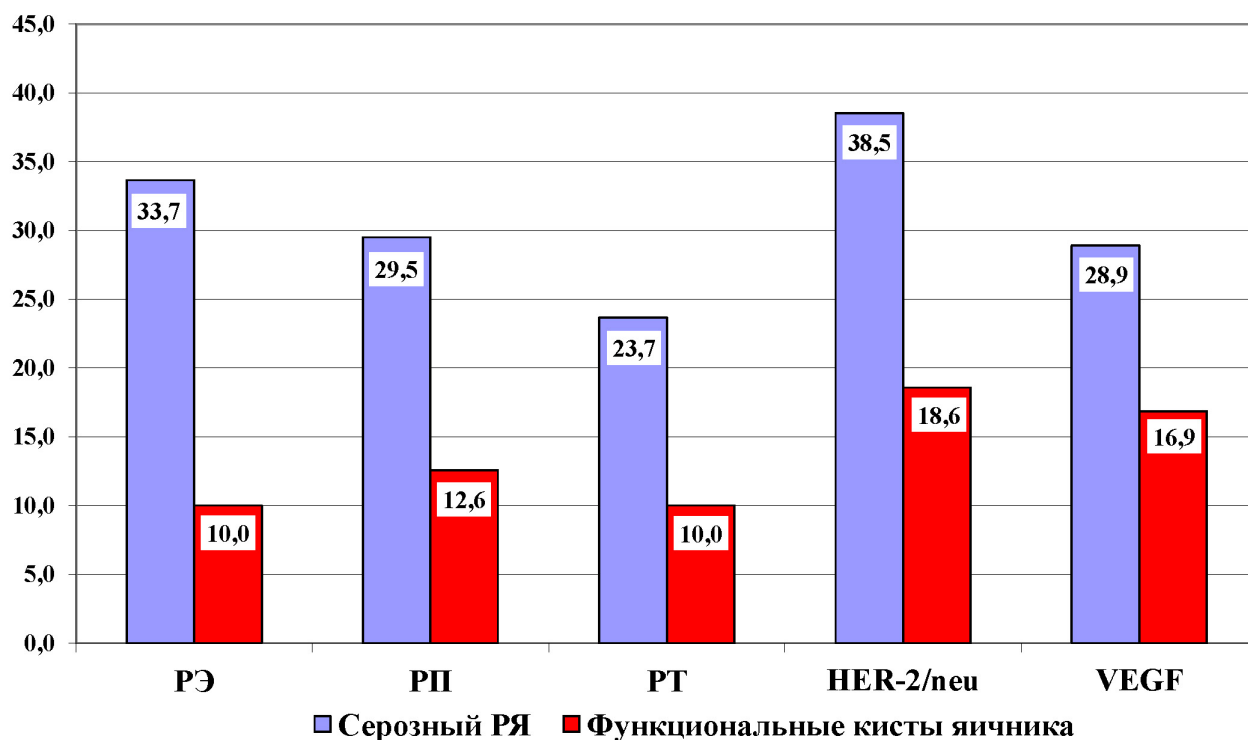


Рис. 3.8. Средняя степень экспрессии PCG, HER-2/neu и VEGF в клетках серозного РЯ и функциональных кист яичника ($p < 0,05$)

в функциональных кистах яичника ($16,9 \pm 4,7$ %), однако статистический анализ не установил достоверных различий между показателями ($p = 0,08$).

3.4. Гормональный гомеостаз у больных с рецидивом серозного РЯ

Проведено исследование гормонального гомеостаза у больных с рецидивом серозного РЯ и пациенток контрольной группы, результаты представлены в таблице 3.11. Следует отметить, что период хирургической менопаузы у женщин основной и контрольной групп был одинаков (≈ 18 месяцев). Как свидетельствуют данные таблицы 3.11, средний возраст больных с рецидивом РЯ и пациенток контрольной группы статистически не различался ($51,1 \pm 1,3$ и $48,7 \pm 1,3$ лет, соответственно, $p = 0,25$). Анализируя средние уровни гонадотропных и периферических стероидных половых гормонов в сыворотке

крови больных основной и контрольной групп, отмечено отсутствие достоверных различий в показателях гормонального гомеостаза пациенток двух групп: для ФСГ – $p = 0,15$, ЛГ – $p = 0,23$, Э_2 – $p = 0,29$, прогестерона – $p = 0,07$, тестостерона – $p = 0,19$.

Показатели гормонального гомеостаза пациенток этих групп соответствовали референтным значениям сывороточных уровней половых гормонов постменопаузального периода. Это доказывает тот факт, что оценка уровней гормонов в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста не дает полной информации о возможных вариантах развития патологических процессов, так как для реализации гормонального эффекта необходимо наличие достаточного уровня половых стероидных рецепторов в клетках тканей-мишеней. Более того, эстрогенизация у женщин постменопаузального периода определяется большей степенью

Таблица 3.11

Средние уровни гонадотропных и периферических стероидных половых гормонов в сыворотке крови больных с рецидивом РЯ и пациенток контрольной группы

Средний показатель/ колебания	Референтные значения	Больные с рецидивом РЯ, n=41	Пациентки контрольной группы, n=35	p
Возраст на момент проведения анализа, годы	Постменопауза	51,8±1,3/36–69	48,7±1,3/39–63	0,25
ФСГ , мМЕ/мл	25,2–134,8	83,0±5,3/3,5–191,2	76,3±6,1/7,8–165,4	0,15
ЛГ , мМЕ/мл	7,7–58,5	40,7±2,3/18–70,9	36,5±2,5/5,1–75,7	0,23
Э₂ , пг/мл	до 54,7	18,3±1,0/4,8–30,5	21,5±6,6/4,8–176,9	0,29
Прогестерон , нг/мл	0,1–0,8	0,3±0,03/0,03–0,9	0,4±0,1/0,04–2,3	0,07
Тестостерон , пг/мл	0,1–1,7	1,2±0,1/0,01–3,3	1,4±0,2/0,07–5,9	0,19

не уровнем половых гормонов в сыворотке крови, а локальной концентрацией их в тканях [6, 11, 15, 73].

Представленные результаты показали, что у больных с рецидивом серозного РЯ и пациенток контрольной группы с одинаковой частотой диагностирована КНАГЭ (58,6 и 51,5 %, соответственно).

У больных с рецидивом РЯ наблюдалась высокая частота экспрессии РСГ, HER-2/neu и VEGF в клетках первичной опухоли. У пациенток контрольной группы экспрессия РСГ, HER-2/neu и VEGF выявлена только в клетках фолликулярных кист и кист желтого тела яичника, при этом частота экспрессии этих маркеров была также высокой. Это указывает на наличие общих факторов риска, гормонального патогенеза РЯ и гормонозависимых доброкачественных заболеваний матки и яичника.

Наибольшее количество эстроген-, прогестерон- и тестостерон-рецептор-положительных опухолей с достоверной значимостью отмечено у больных с рецидивом РЯ перименопаузального периода, тогда как наименьшая частота рецептор-положительного серозного РЯ определялась у пациенток репродуктивного возраста. Подтверждено наличие ранговой корреляционной связи между экспрессией всех

рецепторов стероидных гормонов, а также между экспрессией РЭ, РП и возрастным периодом больных с рецидивом РЯ, что было установлено нами ранее [395, 398].

Показано отсутствие корреляции экспрессии HER-2/neu и VEGF с возрастом больных с рецидивом РЯ, что также было установлено результатами ранее проведенных нами исследований [137, 138]. Представленные данные еще раз подтверждают то, что экспрессия HER-2/neu и VEGF в серозном РЯ являются независимыми факторами агрессивного и неблагоприятного течения опухолевого процесса.

Самая высокая частота экспрессии РСГ, HER-2/neu и VEGF в гранулезных, тека- и лютеиновых клетках функциональных кист яичника регистрирована у пациенток репродуктивного периода. При этом установлены достоверно значимые корреляции между экспрессией всех РСГ в клетках функциональных кист яичника; экспрессией РЭ, РП с экспрессией HER-2/neu и VEGF; между экспрессией всех стероидных рецепторов и возрастным периодом женщин. Эти данные подтверждают непосредственное участие экспрессии РСГ, HER-2/neu, VEGF в гранулезных, тека- и лютеиновых клетках в регуляции овариально-менструального цикла женщин [130, 414].

Отмечена достоверно более высокая степень экспрессии PCG и HER-2/neu в клетках серозного РЯ по сравнению с таковой в функциональных кистах яичника. По результатам ранее проведенных исследований, нами установлено, что положительный гормональный рецепторный статус серозного РЯ является фактором неблагоприятного течения опухолевого процесса [395, 398]. Это позволяет заключить, что степень экспрессии рецепторов стероидных гормонов имеет определенное значение в клиническом течении РЯ.

Установлено отсутствие достоверных различий гормонального гомеостаза у больных с рецидивом РЯ и пациенток контрольной группы, показатели которого соответствовали референтным значениям уровней половых гормонов постменопаузального периода, что позволяет предположить о значимой роли локальной концентрации половых гормонов в опухолях яичника.

Таким образом, представленные результаты свидетельствуют о наличии общих факторов риска, единого патогенетического механизма развития РЯ и гормонозависимых доброкачественных заболеваний матки и яичника, что аргументирует гормонообусловленность и гормонозависимость ЗОЯ. Однако сложные механизмы реализации гормонально-рецепторного сигнала в опухолевых клетках яичника, запускающие процессы трансформации, пролиферации, инвазии и метастазирования, остаются до конца не изученными, что требует продолжения исследований для обоснования целесообразности применения гормональной терапии не при рецидивах заболевания, а в I линии комплексного лечения больных.

РЕЗЮМЕ

У больных с рецидивом РЯ и пациенток контрольной группы с одинаковой частотой диагностирована КНАГЭ (58,6 и 51,5 %, соответственно).

Установлено, что у женщин контрольной группы экспрессия PCG, HER-2/neu и VEGF наблюдалась только в клетках функциональных кист яичника. Отмечена высокая частота экспрессии указанных маркеров, как в клетках серозного РЯ (РЭ – 65,9 %, РП – 63,4 %, РТ – 56,1 %, HER-2/neu – 65,9 и VEGF – 48,8 %), так и в клетках функциональных кист яичника (фолликулярные кисты: РЭ – 75,0 %, РП – 50,0 %, РТ – 25,0 %, HER-2/neu – 75,0 и VEGF – 50,0 %; кисты желтого тела: РЭ – 61,5 %, РП – 76,9 %, РТ – 61,5 %, HER-2/neu – 92,3 и VEGF – 69,2 %). Однако степень экспрессии этих маркеров, кроме VEGF, была достоверно выше в серозном РЯ ($33,7 \pm 4,9$ %, $29,5 \pm 4,8$ %, $23,7 \pm 4,1$ и $38,5 \pm 5,6$ % против $10,0 \pm 3,3$ %, $12,6 \pm 4,1$ %, $10,0 \pm 3,8$ и $18,6 \pm 4,6$ %, соответственно, $p < 0,05$).

Наибольшее количество эстроген-, прогестерон- и тестостерон-рецепторопозитивных опухолей с достоверной значимостью определялось у больных с рецидивом РЯ перименопаузального периода (63,0 %, 61,5 и 65,2 %, соответственно), тогда как наименьшая частота рецепторопозитивного серозного РЯ зарегистрирована у пациенток репродуктивного возраста (14,8 %, 11,6 и 13,1 %, соответственно).

Показано отсутствие корреляционной связи между экспрессией HER-2/neu и VEGF с возрастным периодом больных с рецидивом РЯ ($r = -0,014$, $p = 0,85$ и $r = -0,036$, $p = 0,73$, соответственно). При этом выявлена значимая корреляция между экспрессией HER-2/neu и VEGF в клетках серозного РЯ ($r = 0,925$, $p = 0,001$).

Самая высокая частота экспрессии РЭ, РП, РТ, HER-2/neu, VEGF в гранулезных, тека- и лютеиновых клетках функциональных кист яичника отмечена у пациенток репродуктивного периода (100 %, 91,7 %, 88,9 %, 86,7 и 90,9 %, соответственно). Более того, установлены достоверно значимые корреляции между экспрессией всех

PCГ в клетках функциональных кист яичника; экспрессией РЭ, РП с экспрессией HER-2/neu и VEGF; между экспрессией всех PCГ и возрастным периодом женщин.

Показатели гормонального гомеостаза больных с рецидивом серозного РЯ не име-

ли достоверных различий от таковых у пациенток с хирургической менопаузой, оперированных по поводу доброкачественной патологии матки ($p>0,05$), и соответствовали референтным значениям уровней половых гормонов постменопаузального периода.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ *IN VIVO*

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ ЦИСПЛАТИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АГОНИСТА ГОНАДОТРОПИН-РЕЛИЗИНГ ГОРМОНА И ИНГИБИТОРА АРОМАТАЗЫ НА МОДЕЛИ АСЦИТНОЙ ОПУХОЛИ ЯИЧНИКА

Цель данного исследования – изучить противоопухолевую активность агониста гонадотропин-рилизинг гормона трипторелина и ингибитора ароматазы экземестана в монотерапии и в комбинации с цитотоксиком цисплатином на модели перевиваемой злокачественной асцитной эстроген- и прогестерон-рецепторпозитивной опухоли яичника; оценить лечебный патоморфоз и экспрессию VEGF в опухолевых клетках яичника, выживаемость крыс с перевиваемой опухолью яичника при использовании лекарственных средств в монотерапии и в политерапии цитотоксика с гормональными препаратами.

Животные. В опыте использованы половозрелые 72 крысы-самки линии Wistar с начальной массой тела 130–150 г из разводки вивария Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого НАН Украины (Киев). Все процедуры по уходу осуществляли в соответствии с рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных (Женева, 1985). Крысы получали стандартный брикетированный комбикорм и питьевую воду без ограничений, находились при естественном освещении.

Модель опухоли. Использован штамм злокачественной асцитной опухоли яичника (ОЯ), созданный в 1958 г. перевивкой опухоли яичника от крысы, подвергшейся трансплацентарному воздействию 7,12-диметилбенз(а)антрацена. Штамм асцитной ОЯ приобретен в РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН (Москва, Россия).

После предварительного пассажа, на 9-й день после внутрибрюшинной перевивки ОЯ, от одной крысы была взята ас-

цитическая жидкость и перевита 72 крысам внутрибрюшинно по 0,5 мл, разведенной физиологическим раствором и содержащей по 5×10^6 клеток/животное. Проведен иммуноцитохимический анализ для определения экспрессии РЭ и РП в опухолевых клетках перевиваемой асцитической жидкости.

Лечение крыс с перевиваемой ОЯ. Для лечения крыс с перевиваемой ОЯ использовали лекарственные препараты, которые представлены в таблице 4.1.

Почему выбраны именно эти лекарственные препараты для противоопухолевой терапии животных с перевиваемой ОЯ? Ниже описан механизм действия каждого лекарственного средства и какой терапевтический эффект мы преследовали в нашем исследовании, применяя эти препараты в монотерапии и в различных комбинациях.

Цисплатин – (цис-диаминдихлорплатина) – антинеопластическое средство, содержит тяжелый металл платину, обладает выраженным цитотоксическим, бактерицидным, мутагенным, иммунодепрессивным, радиосенсибилизирующим действием. Механизм действия сходен с алкилирующими средствами. Бифункционально алкилирует нити ДНК путем образования координационных связей между атомом платины и двумя основаниями ДНК (гуаниновыми) с образованием внутри- и межспиральных сшивок, которые изменяют структуру ДНК с нарушением транскрипции и репликации, что в свою очередь приводит к задержке клеточного цикла, в частности митозу. Поврежденная ДНК вызывает механизмы ее репарации и поскольку восстановление невозможно – активируется

Таблица 4.1

**Лекарственные препараты, применяемые для лечения крыс
с перививаемой асцитной опухолью яичника**

Лекарственный препарат	Действующее вещество	Состав и форма выпуска
CISPLATIN-TEVA (Pharmachemie B.V., the Netherlands)	Cisplatin	Раствор для инъекций 0,5 мг/мл в 100 мл
DIPHERELINE® 0,1 мг (Ipsen Pharma Biotech, France)	Triptorelin	Флакон с сухим веществом трипторелина ацетата 0,1 мг + маннит 10 мг и растворитель в виде натрия хлорида 0,9 % 1 мл
AROMASIN® (Pfiser, Italy S.r.l.)	Exemestane	Таблетки 1 таблетка содержит 25 мг экземестана

апоптоз. В меньшей степени, подавляет синтез белка и РНК. Не обладает специфичностью в отношении клеточного цикла, действует в фазе G0. Блокирование нитей ДНК сохраняется в течение нескольких дней после введения цисплатина [9, 128].

Максимальная концентрация препарата в плазме крови достигается непосредственно после внутривенной инъекции (биодоступность 100 %, после быстрой инфузии – 15–60 минут). Сразу после внутривенного введения препарат диссоциирует с образованием свободной формы платины, которая и обладает цитотоксическим действием. Если цисплатин вводить путем внутривенной инфузии в течение 6 и 24 часов, концентрация препарата и свободной платины в плазме крови увеличивается постепенно на протяжении инфузии, а пик отмечается сразу после ее окончания. Величина AUC (площадь под кривой «концентрация-время») для свободной платины не зависит от продолжительности инфузии. Цисплатин необратимо почти полностью связывается с белками тканей и плазмы крови (альбумин, глобулин и трансферин) – 90 %; через несколько часов после внутривенного введения цисплатина 2–10 % от дозы введенного препарата отмечается в крови в свободной форме

[официально утвержденная инструкция по применению препарата CISPLATIN-TEVA].

Цисплатин характеризуется экстенсивным распределением в биологических жидкостях организма и в тканях. Максимальная концентрация препарата отмечается в почках, печени и в предстательной железе; более низкая – в мочевом пузыре, яичках, мышцах, поджелудочной железе, селезенке. Цисплатин также распределяется в тканях тонкого и толстого кишечника, надпочечниках, сердце, легких, лимфатических узлах, щитовидной и вилочковой железах, желчного пузыря, яичниках, матке, костях, тканях мозга и мозжечка. Незначительное количество препарата выявляется в лейкоцитах и эритроцитах. Цисплатин имеет способность к кумуляции в тканях на протяжении более 6 месяцев. Цисплатин плохо проникает через гемато-энцефалический барьер, однако значительная концентрация препарата может накапливаться в опухолях мозга, при этом она ниже, чем в других опухолевых тканях.

Биотрансформация цисплатина осуществляется в печени путем быстрого не ферментативного превращения с образованием ряда неактивных метаболитов. Цисплатин выделяется преимущественно

с мочой – 27–43 % препарата в течение первых 5 дней, 15–25 % – в неизмененном виде, 20–75 % – в первые 24 часа. После внутривенного введения фармакокинетические параметры описываются двухфазной фармакокинетической кривой. $T_{1/2}$ в начальной фазе составляет 25–49 минут; в конечной фазе при нормальной выделительной функции почек – 58–73 часа, при анурии – до 240 часов. Строгой корреляции между почечным клиренсом свободной (ультрафильтрующейся) платины или цисплатина и клиренсом креатинина не установлено. При ежедневном введении цисплатина существует опасность накопления свободной (ультрафильтрующейся) платины в плазме крови [официально утвержденная инструкция по применения препарата CISPLATIN-TEVA].

По расчетной модели оказалось, что в скорости выведения активных форм препарата важную роль играет время инфузии: при быстрой инфузии период полувыведения равен 25 минут, а при медленной – 50–60 минут. У человека после быстрого введения цисплатина кривая клиренса в плазме крови носит бифазный характер с периодом полувыведения 24,4 минуты для быстрой фазы и 58–73 часа — для медленной. При введении препарата больным в течение 1 часа эти значения составили 23 минуты и 67 часов, соответственно. С мочой из организма выводится за 4 часа 17 % и за 24 часа – 23 % лекарства. Всего с мочой экскретируется 70–90 % препарата. У человека, как и у животных, цисплатин локализуется преимущественно в печени и почках, выводится главным образом с мочой, причем в течение первых двух суток выделяется около 50 % введенного препарата в неизмененном виде, после чего экскреция значительно замедляется. Данные по фармакокинетике позволили усовершенствовать режим введения цисплатина.

Оказалось, что после инфузии в течение 20 часов, в отличие от инфузии в течение 1 часа, препарат более длительно задерживается в организме и меньше активного несвязанного цисплатина выводится с мочой. За 2 дня после часовой инфузии выводится 26,6–50 % лекарства, а после 20-часовой – 21,4–25,9 %. Способность задерживать цисплатин в организме и уменьшать его выведение с мочой проявил маннитол – с маннитолом за сутки экскретируется 16 %, а без него – 40 %. На основании этих данных рекомендовано в клинике использовать метод длительной инфузии, при котором снижается выведение лекарства и повышается его накопление в тканях, в том числе в опухолях. Длительная задержка препарата в организме наблюдается также при наличии асцита.

Цисплатин входит в стандарты лечения многих онкологических заболеваний, и составляет основу комбинаций первой линии химиотерапии РЯ (частота объективных ответов более 70 %), а также рецидивного платино-чувствительного РЯ. В комбинации с другими химиопрепаратами стандартной считается доза 75 мг/м², при монотерапии – 100 мг/м² [91, 107, 161].

Цель назначения **цисплатина (ЦП)** крысам с перевиваемой ОЯ – изучить противоопухолевую активность комбинации цисплатина с экземеостаном и трипторелином, и сравнить с таковой при монотерапии цитотоксиком на модели перевиваемой злокачественной асцитной эстроген- и прогестерон-рецепторпозитивной ОЯ; оценить лечебный патоморфоз и экспрессию VEGF в опухолевых клетках яичника при лечении цисплатином в монотерапии и при комбинированном применении цитотоксика и гормональных препаратов, сопоставить полученные результаты.

Диферелин (трипторелин) – синтетический декапептид, аналог природно-

го Гн-РГ. Синтез и секреция ЛГ и ФСГ в гипофизе осуществляется одними и теми же клетками – гонадотрофами, на их поверхности имеются рецепторы к Гн-РГ, плотность которых зависит от уровня стероидных гормонов в крови и от концентрации Гн-РГ. Соединение Гн-РГ с рецептором вызывает массивное поступление ионов кальция внутрь клетки, что через несколько минут ведет к выбросу запаса ЛГ и ФСГ в кровоток. Кроме того, Гн-РГ вызывает стимуляцию синтеза ЛГ и ФСГ, и поддерживает целостность гонадотрофов. Связывание агонистов Гн-РГ с одноименными рецепторами гипофиза специфическое и обратимое. Сродство агонистов к их рецепторам намного больше, чем у натурального Гн-РГ, поэтому диферелин в 36 раз активнее нативного Гн-РГ. Как установлено ранее, при пульсирующем ритме выделения Гн-РГ не все гонадотрофные рецепторы аденогипофиза связываются одним импульсом Гн-РГ, поэтому происходит постоянная реэкспрессия рецепторов. Следовательно, клетки аденогипофиза в состоянии отвечать на последующие стимулы Гн-РГ. Длительное назначение агонистов Гн-РГ сначала ведет к связыванию значительной части рецепторов Гн-РГ аденогипофиза, что проявляется в транзитном повышении ЛГ, ФСГ и эстрадиола в сыворотке крови, достигая максимума через 4 часа после введения агонистов с последующим снижением уровня гонадотропинов и эстрадиола. По мере непрерывного введения аналогов Гн-РГ происходит потеря функциональной активности клеточных рецепторов аденогипофиза, то есть рецепторы теряют способность отвечать на секреторные сигналы. Этот процесс достоверного снижения уровня рецепторов аденогипофиза называется down-регуляцией, которая характеризуется низкой секрецией и блокадой ЛГ. Поэтому, при непрерывном

и длительном введении агонистов Гн-РГ наблюдается двухфазный ответ гипофиза: 1-я фаза активации – короткая стимуляция рецепторов аденогипофиза; 2-я фаза «десенситизации» – стойкая десенсибилизация рецепторов гипофиза с последующей блокадой секреции гонадотропинов, так как непрерывное введение агониста Гн-РГ предупреждает экспрессию новых рецепторов в количестве, достаточном для синтеза и секреции ЛГ. Это в свою очередь тормозит синтез яичниками стероидных половых гормонов (эстрогенов, прогестерона и андрогенов), снижая их уровень в периферической крови до кастрационных значений, вызывая медикаментозную менопаузу или обратимую медикаментозную гонадэктомию. Происходит блокада стероидогенеза в яичниках [86, 89, 125, 128, 361]. После окончания действия агонистов Гн-РГ функциональная активность репродуктивной системы восстанавливается, но скорость этого восстановления различна и зависит от многих факторов: уровня гипофизарных рецепторов к Гн-РГ, индивидуальной чувствительности, исходного состояния репродуктивной системы, возраста женщины. При выраженной блокаде рецепторов гипоталамуса может уменьшиться их количество, что способствует отсроченному восстановлению менструаций или переходу в естественную менопаузу, особенно у женщин старшего возраста.

Препараты трипторелина выпускаются в форме депо, имеющие пролонгированное действие в течение 1-го или 3-х месяцев – **Диферелин** (Ipsen Pharma Biotech, France) или **Декапептил** (Ferring, Germany) 3,75 и 11,25 мг в виде лиофилизированного порошка для приготовления суспензии для внутримышечного введения. Кроме того, существуют дейли-формы для ежедневного применения – **Диферелин** 0,1 мг или **Декапептил** 0,1 и 0,5 мг в виде лиофилизированного порошка для приго-

товления суспензии для внутримышечного или подкожного введения [89, 128].

Поскольку в нашем исследовании использована дейли-форма диферелина, то рассмотрим фармакокинетику этого препарата в дозе 0,1 мг. После подкожного или внутримышечного введения диферелин быстро всасывается с максимум концентрации в плазме – $C_{max}=1,85\pm 0,23$ нг/мл. Биодоступность составляет 69 %, время достижения максимальной концентрации (TC_{max}) – 1 час, на 4-й день – повторное повышение концентрации, последующие инъекции в интервале 28 суток не вызывают повышение концентрации препарата. Распределение по органам и тканям заканчивается через 4 часа, объем распределения – 1562 ± 158 мл/кг. Период полувыведения составляет 7,6 часов. Плазменный клиренс 161,7 мл/мин, двухфазный. Выводится в 3 раза медленнее природного Гн-РГ (низкая скорость метаболизации) [официально утвержденная инструкция по применению препарата DIPHERELINE® 0,1 мг].

Показания к применению диферелина [86, 89, 128, 130].

Диферелин 0,1 мг (ежедневно)

- Женское бесплодие: используется в протоколах экстракорпорального оплодотворения и других вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) совместно с гонадотропинами для индукции овуляции.

Диферелин 3,75 мг (1 раз в 28 дней)

- Женское бесплодие в программах ВРТ.
- Эндометриоз генитальный и экстрагенитальный I–IV стадии. Курс лечения 3–6 месяцев.
- Гиперпластические процессы эндометрия: рецидивирующая простая/комплексная неатипическая гиперплазия

эндометрия в репродуктивном периоде; комплексная неатипическая гиперплазия эндометрия в перименопаузе; простая и комплексная атипическая гиперплазия эндометрия в репродуктивном возрасте; гиперпластические процессы эндометрия в сочетании с лейомиомой матки или аденомиозом. Курс лечения до 6 месяцев.

- Преждевременное половое созревание у детей (заболевание у мальчиков в возрасте до 10 лет, у девочек в возрасте до 8 лет).
- Лейомиома матки: диферелин уменьшает фиброматозные узлы, уменьшает симптомы, связанные с лейомиомой матки, улучшает гематологический статус больной. Препарат применяют в предоперационной подготовке с целью улучшения оперативной техники и уменьшение кровопотери при операциях. Курс лечения 3–6 месяцев.
- Гормонозависимый РГЖ у менструирующих женщин в составе адъювантного лечения.
- Прогрессирующий или распространенный рак предстательной железы.

Диферелин 11,25 мг (1 раз в 3 месяца)

- Эндометриоз генитальный и экстрагенитальный I–IV стадии.
- Лейомиома матки.
- Гормонозависимый РГЖ у менструирующих женщин.
- Прогрессирующий или распространенный рак предстательной железы.

Основная задача применения агонистов Гн-РГ животным с перевиваемой опухолью яичника – снизить уровень периферических стероидных половых гормонов, поскольку на сегодня доказана митогенная роль эстрогенов в клетках РЯ *in vitro* и *in vivo*. Однако каскадный сигнальный механизм пролиферации в ре-

зультате действия эстроген-рецепторного комплекса в клетках РЯ включает в себя множество путей, которые еще не полностью изучены [290]. Более того, доказано, что эстрадиол индуцирует через эстроген-рецепторные-сигнальные пути экспрессию VEGF и его рецепторов в клетках органов репродуктивной системы при физиологическом и опухолевом ангиогенезе [241]. Многими учеными в своих работах отмечено, что высокая экспрессия VEGF в опухолевых клетках яичника является фактором агрессивного течения и неблагоприятного прогноза заболевания [334, 391]. Роль прогестерона и его рецепторов на сегодня однозначно не определена. Эстрадиол способен регулировать уровень экспрессии не только собственных рецепторов, и рецепторов андрогенов, в частности повышать ее [73, 130, 290]. Ныне установлено, что андроген-регулируемые гены стимулируют экспрессию EGFR, VEGF и циклин-зависимых киназ 2 и 4. При этом оказывают репрессирующее действие на экспрессию ТФР-β и Bcl-2 [237], а дигидротестостерон в клеточных линиях РЯ и рака грудной железы вызывает репрессию p27 [380]. Кроме того, некоторые ученые наблюдали активацию теломеразы тестостероном и андростендионом в клеточных линиях РЯ, увеличивая жизнеспособность опухолевых клеток [342]. Результаты многих исследований показано, что выраженная экспрессия рецепторов андрогенов наблюдается как в клеточных линиях (OVCAR3, OSEC2), так и в инвазивном РЯ, а гиперандрогения может быть риском возникновения и прогрессирования этого заболевания [377, 408].

Цель применения **трипторелина (Т)** у крыс с перевиваемой ОЯ – снизить гонадный синтез эстрогенов; изучить противоопухолевую активность трипторелина в монотерапии и в комбинации с цисплатином на модели перевиваемой злокачественной

асцитной эстроген- и прогестерон-рецепторположительной ОЯ; оценить лечебный патоморфоз и экспрессию VEGF в опухолевых клетках яичника при лечении трипторелином в монотерапии и в комбинированном применении с цисплатином.

Аромазин (экземестан) – антинеопластическое средство, необратимый селективный стероидный ингибитор ароматазы, подобный по химической структуре природному андростендиону. Ароматаза является ферментным комплексом микросом, членом цитохрома P450, необходимым в организме для завершения синтеза эстрогенов путем уникальной реакции ароматизации C19-стероидов, а именно биосинтеза эстрона из андростендиона, эстрадиола из тестостерона. Эти реакции происходят в яичниках, плаценте, грудных железах, матке, жировой ткани, головном мозге, кровеносных сосудах, сердце, печени, костях, скелетных мышцах, мочевом пузыре и уретре, кишечнике и многих других тканях. Таким образом, ароматизация является универсальной реакцией организма гонадного и внегонадного синтеза эстрогенов. При этом у женщин репродуктивного периода преобладает гонадный синтез эстрогенов, среди которых самым активным является эстрадиол, тогда как у женщин постменопаузального возраста эстрогены образуются преимущественно за счет внегонадной ароматизации андрогенов в надпочечниках и других тканях организма (большой частью жировой). Поэтому эстрогенизация у женщин постменопаузального периода определяется не уровнем циркулирующих в сыворотке крови гормонов, а локальной их концентрацией во всех тканях организма. Среди менопаузальных эстрогенов преобладают эстрон и неклассические фенолстероиды. Более того, при некоторых патологических состояниях внегонадное эстрогенообразование служит источником дополнительной эстрогенной стимуляции [10, 12–15, 73].

Активность ароматазы снижается и ингибируется вследствие связывания экземестана с активной субъединицей этого фермента – геном цитохрома P450, что приводит к снижению биосинтеза эстрогенов во всех тканях организма, в том числе в тканях эстрогензависимых опухолей, вызывая их регрессию. Экземестан не обладает прогестагенной и эстрогенной активностью. Незначительную андрогенную активность, связанную с 17-гидродериватом, отмечали преимущественно при применении препарата в высоких дозах. В ходе исследований с продолжительным ежедневным приемом экземестан не влиял на синтез таких гормонов, как кортизол и альдостерон, уровень которых изменялся до или после теста с адренокортикотропным гормоном. Это подтверждает избирательность действия препарата и по отношению к другим ферментам, участвующих в гормональном метаболизме, что спасает пациента от многих побочных эффектов и их дополнительного медикаментозного купирования. Незначительное увеличение уровней ЛГ и ФСГ в сыворотке крови отмечается даже при низких дозах экземестана; этот эффект является ожидаемым для препаратов данной фармакологической группы; он развивается по принципу обратной связи, на уровне гипофиза: снижение концентрации эстрогенов стимулирует секрецию гонадотропинов в аденогипофизе также как у здоровых женщин в постменопаузе. У пациенток в постменопаузе с диагнозом РГЖ, получавших 25 мг препарата ежедневно, общий уровень эстрогенов в организме снижался на 90 %, фермента ароматазы – 98 %.

После приема внутрь экземестан быстро и экстенсивно абсорбируется. Доза, которая поглощается из желудочно-кишечного тракта, высокая. Абсолютной биологической доступности не установлено, однако распределение ограничено

эффектом первого прохождения через печень. При однократном приеме препарата в дозе 25 мг после приема пищи С_{тах} составляет 17 нг/мл и достигается в течение 2 часов. Установлено, что пища улучшает абсорбцию: достигаемый при этом уровень экземестана в плазме крови на 40 % выше, чем после приема препарата натощак. Фармакокинетика экземестана является линейной и не зависит от времени; при длительном применении аккумуляции не наблюдалось. После повторных приемов в дозе 25 мг в сутки концентрация в плазме неизмененного препарата была сходна с таковой после однократного приема. После достижения максимума уровень активного вещества в плазме снижается, при этом конечный T_{1/2} составляет приблизительно 24 часа. Экземестан широко распределяется в тканях, на что указывает большой объем распределения. Связывание экземестана с белками плазмы составляет приблизительно 90 %; при этом степень связывания не зависит от общей концентрации. Препарат и его метаболиты не связываются с эритроцитами.

Экземестан метаболизируется путем окисления метиленовой группы (6) при участии изофермента CYP 3A4 и/или путем восстановления 17-кетогруппы при участии альдокеторедуктазы с последующей конъюгацией. Клиренс экземестана 500 л/ч. При ингибировании ароматазы образовавшиеся метаболиты либо неактивны, либо менее активны, чем исходное соединение. После перорального приема одноразовой дозы экземестана, меченного радиоактивным изотопом ¹⁴C, установлено, что элиминация препарата и его метаболитов в основном завершалась в течение недели, при этом равные части дозы выводились с мочой и калом (40 %). И только 0,1–1,0 % радиоактивной дозы выделялось с мочой в виде неизмененного радиоактив-

но меченного экземестана [официально утвержденная инструкция по применению препарата AROMASIN®].

По существу, ингибиторы ароматазы являются антиэстрогенами. Достоверно известно, что высокие уровни эстрогенов по механизму отрицательной обратной связи подавляют продукцию ФСГ, что блокирует развитие фолликулов в яичнике. Снижение уровня эстрогенов приводит к повышению выработки ФСГ из гипофиза, что в свою очередь, обеспечивает рост и развитие фолликулов. Эти эффекты лежат в основе действия антиэстрогенных препаратов, используемых для стимуляции функции яичников [187, 206, 234]. В течение последних 10 лет проводятся многочисленные исследования по применению ингибиторов ароматазы в репродуктивной медицине с положительным эффектом, и обсуждается возможность использования этих лекарственных средств в индукции овуляции, однако четкий ответ об их эффективности и безопасности до сих пор не получен [89, 248, 270].

Ингибиторы ароматазы входят в стандарты лечения гормонозависимого РГЖ у женщин с естественным или индуцированным постменопаузальным статусом.

Показания к применению **аромазина**.

- Адювантная терапия ранних стадий РЭ-позитивного РГЖ у женщин постменопаузального периода для снижения риска развития отдаленных, локо-региональных или контрлатеральных метастазов. Аромазин принимается по 25 мг в сутки ежедневно в течение 5 лет или до появления признаков прогрессирования заболевания.
- Как препарат первого ряда для лечения распространенного гормонозависимого РГЖ у женщин с естественным или индуцированным постменопаузальным статусом.
- Как препарат второго ряда для лечения распространенного гормонозависимого РГЖ у женщин с естественным или индуцированным постменопаузальным статусом, у которых выявлено прогрессирование заболевания на фоне монотерапии антиэстрогенами.
- Как препарат третьего ряда для лечения распространенного гормонозависимого РГЖ у женщин с естественным или индуцированным постменопаузальным статусом, у которых выявлено прогрессирование заболевания на фоне полигормональной терапии [официально утвержденная инструкция по применению препарата AROMASIN®].

Многие ученые наблюдали, *in vitro* и *in vivo*, снижение экспрессии VEGF и РЭ при лечении ингибиторами ароматазы и антиэстрогенами РЭ-позитивный РЯ, отметив уменьшение пролиферации и апоптоз опухолевых клеток [266, 319, 406]. Некоторые исследователи при лечении больных с рецидивом РЯ ингибиторами ароматазы достигли положительной динамики и стабилизации болезни, установив прямую корреляцию эффективности лечения от уровня экспрессии РЭ в клетках РЯ [195, 310, 351, 385]. Кроме того, результатами некоторых работ показана выраженная экспрессия рецепторов ароматазы в клетках РГЖ, эндометрия и РЯ, что аргументирует определенную роль экспрессии указанных рецепторов в развитии и прогрессировании заболевания [202].

Цель применения **экземестана (Э)** у крыс с перевиваемой ОЯ – снизить гонадный и внегонадный синтез эстрогенов в тканях организма; изучить противоопухолевую активность экземестана в монотерапии и в комбинации с цисплатином на модели перевиваемой злокачественной асцитной эстроген- и прогестерон-рецепторпозитивной ОЯ; оценить лечебный патоморфоз и экспрессию VEGF

в опухолевых клетках яичника при лечении экземестаном в монотерапии и в комбинированном применении с цисплатином.

Для животных с перевиваемой ОЯ использованы лекарственные препараты цисплатин, диферелин (трипторелин), аромазин (экземестан) в терапевтических дозах и продолжительностью курса лечения, согласно действующим методическим рекомендациям и данным ранее проведенных исследований [149, 261, 272, 417, 418].

Лечение крыс с перевиваемой ОЯ экземестаном было начато в день перевивки и проводилось в течение 10 дней, цисплатином и трипторелином – через 48 часов после перевивки продолжительностью 5 дней.

Животных распределили на 8 групп по 9 в каждой в зависимости от проводимого лечения (табл. 4.2).

Почему курс лечения животных экземестаном составил 10 дней по сравнению с 5-дневными курсами терапии крыс цисплатином и трипторелином?

Биодоступность лекарственных средств, вводимых перорально, в несколько раз ниже по сравнению с лекарствами, которые имеют парентеральный путь введения, в частности внутрибрюшинный и внутримышечный. При пероральном введении лекарственное средство экземестан после всасывания в желудке и кишечнике через систему портальной вены поступает в печень, где частично метаболизируется, конъюгируется и инактивируется, затем через нижнюю половую вену, попадая в большой круг кровообращения, лекарственное вещество доставляется к органам и тканям, где реализуется конечное терапевтическое действие. Поэтому фармакологический эффект экземестана в суточной дозе достаточно низкий, чем у цисплатина и трипторелина, которые имеют высокую биодоступность однократной суточной дозы, поскольку при парентеральном введении эти лекарственные средства, минуя стадию первичного прохождения через печень, по-

Таблица 4.2

Распределение крыс с перевиваемой ОЯ по группам
в зависимости от проводимого лечения (n=72)

Животные, n=72	Лечение
1 группа Контрольная (К), n=9	Физиологический раствор внутрибрюшинно по 0,5 мл в течение 5 дней и перорально по 0,5 мл в течение 10 дней
2 группа (ЦП), n=9	Цисплатин внутрибрюшинно по 1,0 мг/кг/сутки – 0,15 мг/крыса/сутки или 0,3 мл + 0,3 мл физиологического раствора/крыса/сутки в течение 5 дней
3 группа (Т), n=9	Трипторелин внутримышечно по 0,7 мг/кг/сутки – 0,1 мг/крыса/сутки в течение 5 дней.
4 группа (Э), n=9	Экземестан перорально по 12,5 мг (100 мкг/кг) + 0,5 мл физиологического раствора/крыса/сутки, 10 дней
5 группа (ЦП+Т), n=9	Комбинация цисплатина и трипторелина по вышеуказанным дозам в течение 5 дней
6 группа (ЦП+Э), n=9	Комбинация цисплатина (5 дней) и экземестана (10 дней) по вышеуказанным дозам
7 группа (ЦП+Т+Э), n=9	Комбинация цисплатина (5 дней), трипторелина (5 дней) и экземестана (10 дней) по вышеуказанным дозам
8 группа (Т+Э), n=9	Комбинация трипторелина (5 дней) и экземестана (10 дней) по вышеуказанным дозам

падают в систему малого и большого круга кровообращения, с последующей доставкой в органы и ткани [9].

Учитывая низкую биодоступность экземестана и высокую агрессивность модели асцитной опухоли яичника, лечение данным лекарственным средством начато в более ранние сроки (в день перевивки) и имело более продолжительный курс (10 дней), тогда как применение цисплатина и трипторелина, обладающих более высокой биодоступностью при введении в организм животных, начато спустя 48 часов после перевивки асцитической жидкости крысам, и проводилось в течение 5 дней.

Наблюдение начинали спустя 24 часа после последнего введения экземестана крысам 4-й, 6-й, 7-й и 8-й групп, при этом анализировали динамику появления асцита у животных всех групп.

Павших или умерщвленных животных подвергали аутопсии для макроскопической оценки распространения опухолевого процесса и патологических изменений внутренних органов. Пораженные опухолью органы брюшной полости и таза крыс удаляли для гистологического и иммуногистохимического исследования. С целью объективной оценки динамики опухолевого процесса у испытуемых животных проводили умерщвление по 1 крысе с каждой группы методом декапитации на 14-е, 17-е, 19-е сутки наблюдения. Кроме того, выполнено макроскопическое исследование внутренних органов интактных крыс для объективного анализа патологических изменений органов брюшной полости и таза исследуемых животных.

О противоопухолевой эффективности лекарственных препаратов судили по выживаемости животных, анализу лечебного патоморфоза и экспрессии VEGF в ОЯ. Продолжительность жизни крыс оценива-

ли по средней продолжительности жизни (СПЖ) и увеличению продолжительности жизни (УПЖ) животных по сравнению с продолжительностью жизни крыс контрольной группы.

УПЖ в процентах рассчитывали по формуле 4.1:

$$\text{УПЖ} = \frac{\text{СПЖ}_0 - \text{СПЖ}_к}{\text{СПЖ}_к} \times 100 \%, \quad (4.1)$$

где

УПЖ – увеличение продолжительности жизни опытных животных по сравнению с продолжительностью жизни крыс контрольной группы;

СПЖ₀ – средняя продолжительность жизни опытных крыс;

СПЖ_к – средняя продолжительность жизни крыс контрольной группы.

Токсическое действие противоопухолевых препаратов оценивали по уменьшению массы селезенки (косвенные признаки общей и гематологической токсичности), которую взвешивали на торсионных весах, и макроскопическому исследованию патологических изменений печени и почек животных.

Иммуноцитохимическое исследование клеток асцитической жидкости крыс с перевиваемой ОЯ проводили с целью изучения экспрессии РЭ и РП в опухолевых клетках яичника. Анализ выполняли совместно с заведующей лабораторией механизмов медикаментозной резистентности, д.б.н. Н. Ю. Лукьяновой в отделе мониторинга опухолевого процесса и дизайна терапии Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого (заведующий – академик НАН Украины В. Ф. Чехун). Из суспензии опухолевых клеток в забуференном физиологическом растворе изготавливали цитоцентрифужные препараты ($0,5 \times 10^3$ клеток/мл), которые фиксировали в смеси метанол–ацетон

Таблица 4.3

Моноклональные антитела, специфичные к РЭ и РП

Молекулярный маркер	МКАТ	Клон	Каталожный номер	Разведение	Видо-специфичность	Фирма и страна
РЭ	Anti-Rat Estrogen Receptor alfa	Clone 6F11	MA5-13304	1:80	Human, Rat	Thermo Scientific, USA
РП	Anti-Rat Progesterone Receptor	Clone PR-AT 4,14	MA1-410	1:200	Human, Mouse, Rat, Rabbit, Non-human primate, Bovine	Thermo Scientific, USA

(1:1) в течение 2 часов при $t - 20^{\circ}\text{C}$. Затем препараты инкубировали с 1 % раствором бычьего сывороточного альбумина (BSA) в течение 20 минут. В качестве первичных антител использовали МКАТ, специфичные к РЭ и РП (табл. 4.3).

Первичные моноклональные антитела наносили в разведениях, согласно инструкции производителя, на 60 минут. Для визуализации результатов реакции применяли систему Poly Vue (Thermo Scientific, USA), конъюгированную с пероксидазой, и проявляли активность фермента с применением в качестве субстрата 3,3-диаминобензидина (Thermo Scientific, USA). После проведения иммуноцитохимической реакции препараты промывали водой и окрашивали гематоксилином Майера (Sigma, USA) в течение 15–30 секунд. Для оценки экспрессии РЭ и РП применяли полуколичественный метод. При наличии специфического ядерного окрашивания для стероидных рецепторов определяли количество иммунопозитивных и иммунонегативных клеток в процентах. В каждом цитологическом препарате анализировали экспрессию стероидных рецепторов в 1000 опухолевых клеток.

Для суммарной оценки экспрессии РЭ и РП в клетках ОЯ использовали методы, применяемые нами ранее [395, 398]. Степень экспрессии стероидных рецепторов учитывали в баллах: 0 баллов – отсутствует окрашивание ядер клеток переви-

ваемой ОЯ; 1 балл – слабое окрашивание ядер $\leq 10\%$ клеток; 2 балла – умеренная степень окрашивания – 11–50 % клеток; 3 балла – высокая степень – 51–80 % клеток; 4 балла – гиперэкспрессия – $>80\%$ окрашенных клеток перевиваемой ОЯ.

За положительную экспрессию стероидных рецепторов считали количество окрашенных ядер клеток яичника более 10 % с умеренной и высокой степенью окрашивания.

В качестве положительного контроля применяли моноклональные антитела против пан-цитокератинов, в качестве отрицательного контроля – забуференный физиологический раствор, который наносили вместо первичных МКАТ на стекла с цитологическим материалом. Полученные препараты изучали с помощью микроскопа Prima Star Carl Zeiss (Германия) и оптическим увеличением $\times 200$, $\times 400$.

Кроме того, проводилось гистологическое исследование опухолевых тканей крыс с перевиваемой злокачественной асцитной опухолью яичника 1–8 групп (научно-исследовательское отделение патологической анатомии и гистологии Национального института рака, руководитель – д.мед.н., профессор А. Н. Грабовой).

Анализ лечебного патоморфоза в опухолевых тканях крыс с перевиваемой асцитной ОЯ проводили по методике К. А. Галахина [38, 43], определяя объемную долю жизнеспособной опухолевой ткани

(ОДЖОТ, %) после лечебного воздействия по отношению ко всей исследуемой опухоли.

Применялась стандартная обработка материала с фиксацией в забуференном 10 % формалине с рН 7,4. При подготовке исследуемого опухолевого материала для микроскопического анализа из трех зон опухоли (периферической, промежуточной и центральной) вырезали по одной тканевой пластинке и заключали в парафиновые блоки с применением гистопроцессора Histos-5 (Milestone, Italy). Из каждого парафинового блока изготавливали по 3 гистологических среза (толщиной 5 мкм) на 3-х его уровнях (верхний, средний и нижний).

В сумме 3 блока \times 3 уровня \times 3 среза = 27 срезов. Гистологические срезы изготавливались с помощью микротомы Microm HM325 (Thermo Scientific, Germany), окрашивались гематоксилином и эозином (H & E).

В каждом срезе при стандартном увеличении ($\times 100$) изучали 10 полей зрения микроскопа с использованием сетки Автандилова с 25 тест-точками, изображение которой проецировалось на профиль гистологического среза, что соответствовало одному полю зрения. В этом поле подсчитывали:

- количество тест-точек, которые накладывались на опухолевую ткань, сохранившуюся после лечебного воздействия, то есть структурно жизнеспособную (критерий – «остаточная», уцелевшая паренхима);
- количество тест-точек, которые накладывались на участки нежизнеспособной опухолевой паренхимы (критерий – «утрата» паренхимы);
- количество тест-точек, которые накладывались на неопухолевые компоненты (соединительная ткань, сосуды, воспалительные инфильтраты, очаги геморагий и т.п.).

Интегральный морфометрический анализ составлял в сумме: 27 срезов \times

10 полей зрения \times 25 точек = 6750 тест-точек, что является репрезентативным числом для получения статистически достоверных результатов на одно исследование объекта опухоли.

Статистические расчеты проводили по формулам, общепринятым в количественной морфологии с получением гистостереометрического показателя объемной доли жизнеспособной опухолевой ткани (ОДЖОТ, $M \pm m$, %).

Полученные препараты изучали и фотографировали с помощью микроскопа Nikon Eclipse 80i и камерой DS-5SMc/L2 (Япония) с оптическим увеличением $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$.

Оценку доли структурной нежизнеспособности опухолевой паренхимы, вызванной антибластным лечением проводили по 7-ступенчатой шкале лечебного патоморфоза (табл. 4.4).

Иммуногистохимический анализ материала экспериментального исследования *in vivo* выполнен в отделе патологической анатомии и гистологии Национального института рака (руководитель – профессор А. Н. Грабовой). Исследование экспрессии VEGF в опухолевых клетках яичника крыс с перевиваемой ОЯ проводили на парафиновых срезах толщиной 4–5 микрон, которые помещали на стекла, обработанные поли-L-лизинном. В качестве первичных антител использовали МКАТ, специфичное к VEGF (табл. 4.5).

Для визуализации результатов реакции использовали набор реактивов En Vision system (DakoLSAB2 system, Denmark) в соответствии с рекомендациями производителя, срезы докрашивали гематоксилином Майера. Для оценки экспрессии VEGF применяли полуколичественный метод. При наличии специфического мембранно-цитоплазматического окрашивания для VEGF определяли количество иммунопозитивных и иммунонегативных кле-

Таблица 4.4

Семиступенчатая шкала оценки лечебного патоморфоза в опухоли [38]
(К. А. Галахин, Е. Г. Курик)

0 степень	После противоопухолевого воздействия сохранилось не менее 95 % опухолевых клеток . Лечение неэффективно, результат плохой.
1-я степень	Сохранилось от 75 до 95 % опухолевых клеток . Лечение низкой эффективности, результат незначительный.
2-я степень	Сохранилось от 50 до 75 % опухолевых клеток . Лечение средней эффективности, результат посредственный.
3-я степень	Сохранилось от 25 до 50 % опухолевых клеток . Лечение средней эффективности, результат удовлетворительный.
4-я степень	Сохранилось от 10 до 25 % опухолевых клеток . Лечение с эффектом выше среднего, результат хороший.
5-я степень	Сохранилось менее 10 % опухолевых клеток . Лечение высокой эффективности, результат очень хороший.
6-я степень	Отсутствие сохранных опухолевых клеток . Лечение максимально высокой эффективности, результат отличный.

Таблица 4.5

Моноклональное антитело, специфичное к VEGF

Молекулярный маркер	МКАТ	Клон	Каталожный номер	Разведение	Видо-специфичность	Фирма и страна
VEGF	Anti-VEGF	Clone Ab-1	RB-222-P	1:100	Human, Mouse, Rat	Thermo Scientific, USA

ток в процентах. В каждом гистологическом препарате анализировали экспрессию VEGF в 1000 клеток.

Для суммарной оценки экспрессии VEGF в клетках яичника использовали методы, применяемые нами ранее [137, 139]. Степень экспрессии VEGF оценивали также в баллах: 0 баллов – отсутствует окрашивание цитоплазмы и мембраны клеток яичника; 1 балл – слабое окрашивание цитоплазмы и мембраны 1–25 % клеток яичника (VEGF+); 2 балла – умеренная степень равномерного мембранно-цитоплазматического окрашивания 26–50 % клеток яичника (VEGF++); 3 балла – высокая степень окрашивания или гиперэкспрессия – более 50 % клеток яичника (VEGF+++).

За положительную экспрессию VEGF (VEGF+) считали более 25 % клеток с умеренной и высокой степенью окрашивания мембраны и цитоплазмы клетки [127].

В качестве положительного контроля применяли МКАТ против пан-цитокератинов, в качестве отрицательного контроля – забуференный физиологический раствор, который вместо МКАТ наносили на гистологические срезы.

Полученные препараты иммуногистохимического исследования опухолевых тканей крыс с перевиваемой ОЯ изучали и фотографировали с помощью микроскопа Nikon Eclipse 80i и камерой DS-5SMc/L2 (Япония) с оптическим увеличением $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$.

Для статистического анализа полученных результатов применяли методы статистической обработки данных, используемые нами выше (см. гл. 2–3).

По результатам иммуноцитохимического исследования асцитической жидкости, наблюдалась высокая степень экспрессии РЭ и РП в опухолевых клетках перевиваемой асцитной ОЯ – по 60 %, соответственно.

4.1. Первая группа крыс – контрольная (К)

Макроскопическая оценка органов брюшной полости и таза. Инструментальный анализ массы селезенки. У всех животных, которым была введена суспензия клеток перевиваемой ОЯ и получивших физиологический раствор, наблюдался выраженный геморрагический асцит, объем асцитической жидкости составил $18 \pm 2,5$ мл.

Макроскопически у всех крыс отмечались значительные опухолевые изменения париетальной и висцеральной брюшины органов брюшной полости и таза, с поражением сальника. У многих животных наблюдались опухолевые разрастания по серозе и брыжейке кишечника, в яичниках обнаруживалась эвентрирующая папиллярная опухоль, в 2–5 раз превышающая размеры нормальных яичников интактных крыс, с распространением на тело матки и маточные трубы. У некоторых животных выявлялась опухоль в передней брюшной стенке с прорастанием всех слоев, в местах внутрибрюшинного введения цисплатина. При макроскопической оценке селезенки, печени и почек патологических изменений не выявлено. Масса селезенки составила в среднем $1119,4 \pm 10,1$ мг.

Гистологическое исследование органов брюшной полости и таза, передней

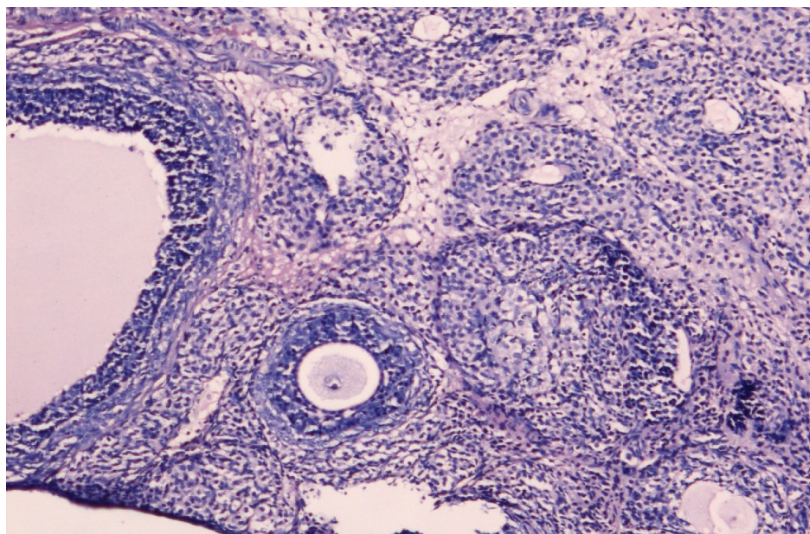
брюшной стенки. В яичниках и сальнике наблюдались разрастания аденокарциномы с обширными некрозами, ангиоматозом, кровоизлияниями (рис. 4.1). У большинства крыс отмечался карциноматоз матки, маточных труб, брыжейки и серозы тонкой и толстой кишки, в брюшной стенке – единичные метастазы, прорастающие все слои.

Жизнеспособные участки опухоли представлены в одних очагах достаточно крупными клетками с большими умеренно плотными ядрами и цитоплазмой разной степени базофилии, в других – преобладали клетки с вакуолями в цитоплазме, количество которых значительно варьировало. ОДЖОТ в среднем составила $50,1 \pm 1,6$ % (табл. 4.6, см. рис. 4.1).

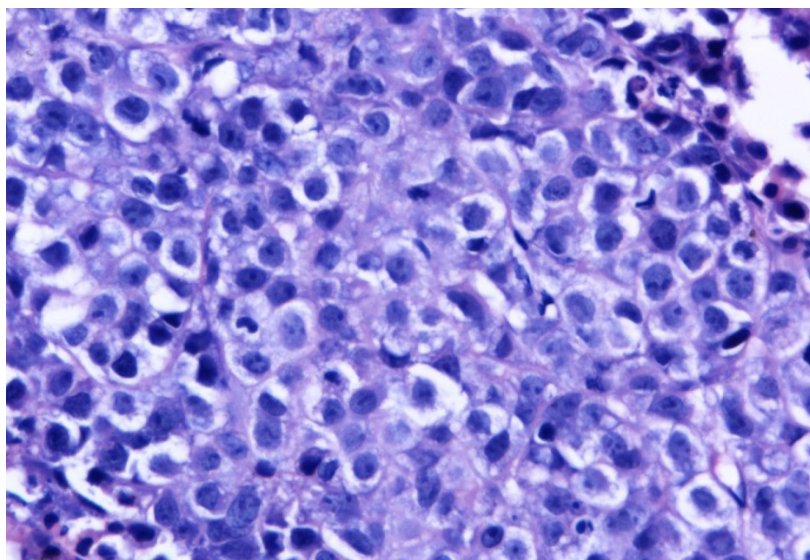
Иммуногистохимическое исследование экспрессии VEGF в клетках ОЯ. В клетках ОЯ выявлена неравномерная экспрессия ангиогенного фактора. В участках опухоли, состоящих из клеток с плотной базофильной цитоплазмой, наблюдалась высокая экспрессия VEGF (3+), среди вакуолизированных клеток – умеренная степень экспрессии этого маркера, а в участках дегенерации – низкая. Однако в целом уровень экспрессии VEGF в ОЯ крыс контрольной группы отмечен как высокий ($77,8 \pm 2,8$ %) (см. табл. 4.6, рис. 4.1).

Выживаемость животных. Максимальная продолжительность жизни крыс контрольной группы была 20 дней, поэтому для того, чтобы сравнить выживаемость животных других групп по отношению к выживаемости крыс контрольной группы, за конечную точку интервала наблюдения приняли 20 суток. Для животных 1-й группы общая (20-суточная) выживаемость составила 17,6 % (1 крыса), СПЖ – $13,7 \pm 1,5$ дней (табл. 4.7 и рис. 4.9–4.10).

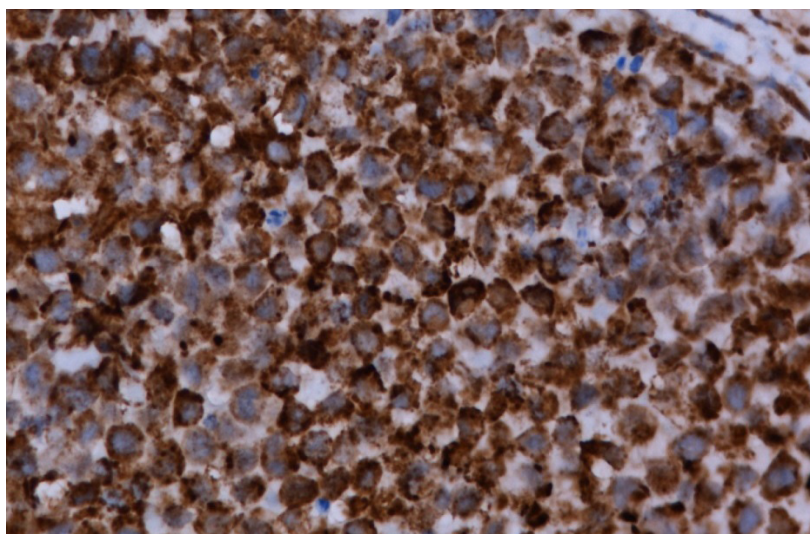
Таким образом, представленная модель перевиваемой асцитной ОЯ продемонстрировала агрессивное течение опухолевого процесса.



**1 группа (К)
Н & Е,
×100**



**1 группа (К)
Н & Е,
ОДЖОТ,
×400**



**1 группа (К)
VEGF,
×400**

Рис. 4.1. Гистологическая и ИГХ картина яичника крыс с перевиваемой ОЯ 1-й группы

Таблица 4.6

Противоопухолевая эффективность и токсическое действие лекарственных препаратов в монотерапии и в различных комбинациях по показателям ОДЖОТ, экспрессии VEGF в клетках яичника крыс с перевиваемой ОЯ и изменению массы селезенки животных (n=69)

Группа животных, n=69	ОДЖОТ, %	VEGF, %	↓m селезенки, %
1 группа (К), n=9	50,1±1,6	77,8±2,8	–
2 группа (ЦП), n=9	11,7±0,2*	58,3±2,6	26,4*
3 группа (Т), n=9	30,3±0,4*	39,4±1,9*	9,8
4 группа (Э), n=9	31,4±0,3*	33,9±1,4*	8,7
5 группа (ЦП+Т), n=7	10,1±0,1*	21,4±1,4*	28,5*
6 группа (ЦП+Э), n=8	16,2±0,3*	15,0±1,3*	29,3*
7 группа (ЦП+Т+Э), n=9	10,1±0,3*	9,4±1,8*	38,7*
8 группа (Т+Э), n=9	22,1±0,4*	12,2±0,9*	13,6

Примечания:

* $p < 0,05$ по сравнению с показателями контрольной группы;

↓m селезенки – уменьшение массы селезенки по отношению к таковой у крыс контрольной группы.

4.2. Вторая группа крыс (ЦП)

Макроскопическая оценка органов брюшной полости и таза. Инструментальный анализ массы селезенки. У животных, которые получили цисплатин в монотерапии, наблюдался менее выраженный асцит по сравнению с крысами контрольной группы, объем геморрагической асцитической жидкости составил $12,9 \pm 5,8$ мл.

Распространенность опухолевого процесса в органах брюшной полости и таза крыс этой группы не отличалась от таковой у контрольных животных, однако степень поражения, количество опухолевых очагов и их размеры были значительно меньшими. У некоторых животных отмечен лизис сальника. У одной крысы, умерщвленной на 17-е сутки, отсутствовали асцит и видимые поражения в брюшной полости, однако яичники были увеличены с эвентрирующей папиллярной опухолью. При визуальной оценке, отмечен незначительный охряно-желтый цвет печени и почек у двух животных.

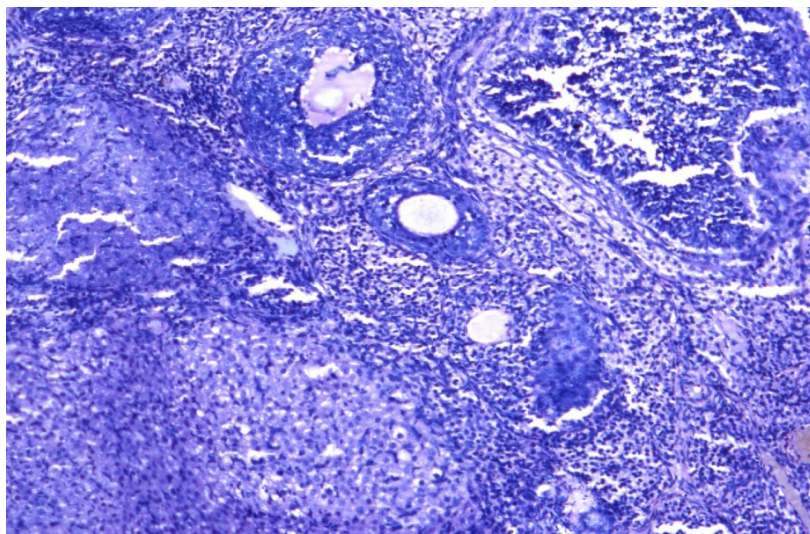
Средняя масса селезенки крыс 2-ой группы уменьшилась на 26,4 %

($823,9 \pm 10,0$ мг), и при сравнении данного показателя с массой селезенки контрольных животных, установлены достоверные различия ($p < 0,05$) (см. табл. 4.6).

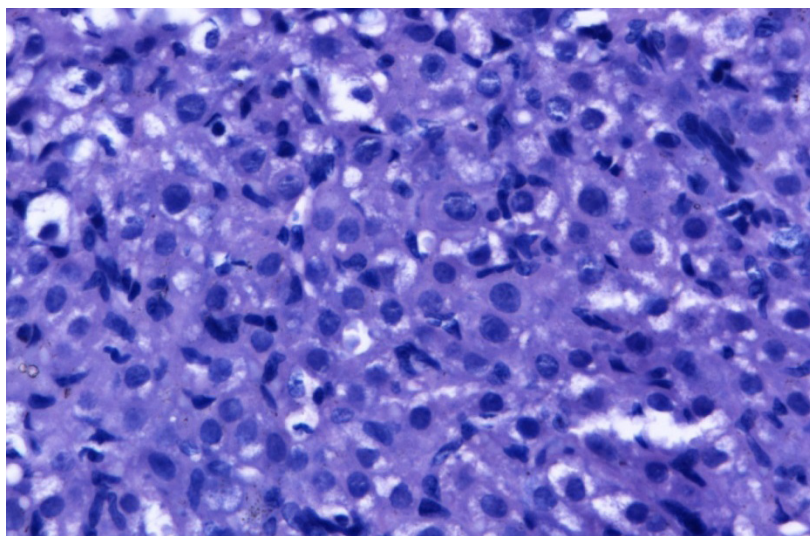
Гистологическое исследование органов брюшной полости и таза, передней брюшной стенки. В исследуемом материале, разрастания аденокарциномы имели распространенные некрозы, кровоизлияния, выраженный ангиоматоз. В участках некроза опухоли – обильная лейкоцитарная и лимфоцитарная инфильтрация (рис. 4.2). В ОЯ преобладали клетки с вакуолизированной цитоплазмой и ядерным полиморфизмом, а также клетки с пикнотическими ядрами. Местами наблюдались опухолевые клетки с отростчатыми формами и напоминали мезенхимальные.

Средняя ОДЖОТ у животных этой группы составила $11,7 \pm 0,2$ %, что достоверно различается с данным показателем у контрольных крыс ($p = 0,01$) (см. табл. 4.6, рис. 4.2).

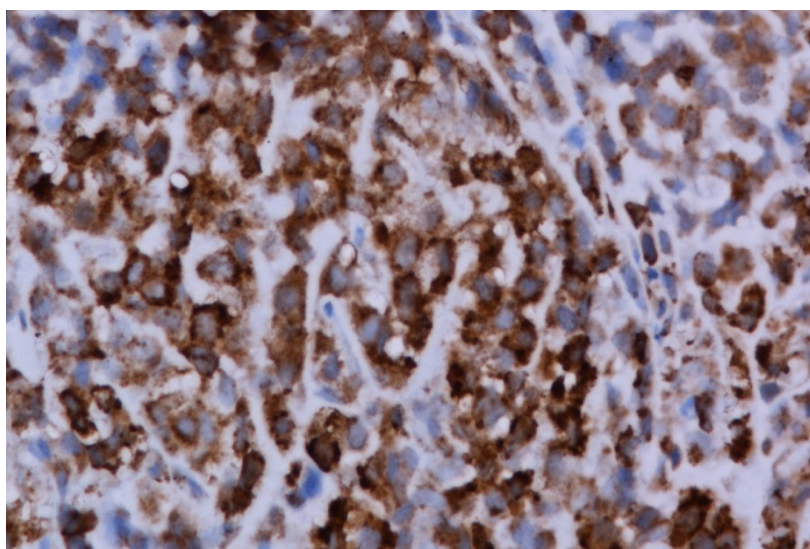
Иммуногистохимическое исследование экспрессии VEGF в клетках ОЯ. В участках с жизнеспособными опухоле-



2 группа (ЦП)
Н & Е,
×100



2 группа (ЦП)
Н & Е,
ОДЖОТ,
×400



2 группа (ЦП)
VEGF,
×400

Рис. 4.2. Гистологическая и ИГХ картина яичника крыс с перевиваемой ОЯ 2-й группы

Таблица 4.7

Показатели выживаемости крыс с перевиваемой ОЯ всех групп (n=72)

Группа животных	УПЖ, %	СПЖ, дни	Min ПЖ, дни	Max ПЖ, дни	ОВ, %	Излеченные животные	
						n	%
1 группа (К), n=9/100 %	–	13,7±1,5	6	20	17,6±13,8	0	0,0
2 группа (ЦП), n=9/100 %	104,4	28,0±4,2	16	54	54,8±14,8	0	0,0
3 группа (Т), n=9/100 %	23,4	16,9±2,1	11	27	37,1±16,3	0	0,0
4 группа (Э), n=9/100 %	22,6	16,8±1,7	10	24	30,9±13,9	0	0,0
5 группа (ЦП+Т), n=9/100 %	213,9*	43,0 (147,2)*** ±11,3	16	88 (730)***	100,0±0,0	2	22,2
6 группа (ЦП+Э), n=9/100 %	205,8**	41,9 (75,8)*** ±10,0	16	86 (365)***	85,7±13,2	1	11,1
7 группа (ЦП+Т+Э), n=9/100 %	40,1	19,2±1,3	16	27	44,3±15,4	0	0,0
8 группа (Т+Э), n=9/100 %	31,4	18,0±1,7	15	26	32,2±14,0	0	0,0

Примечания:

Min ПЖ – минимальная продолжительность жизни;

Max ПЖ – максимальная продолжительность жизни;

ОВ – общая выживаемость;

* – в расчет не включены живые крысы с продолжительностью жизни 730 дней;

** – в расчет не включена умерщвленная крыса с продолжительностью жизни 365 дней;

*** – в скобках указаны расчеты с живыми крысами 5-ой группы и умерщвленной крысой 6-ой группы.

выми клетками наблюдалась вариабельность экспрессии VEGF, в одних – отмечалась высокая экспрессия, в других – слабая, составляя в среднем 58,3±2,6 %. Этот показатель оказался достоверно ниже при сравнении его с уровнем экспрессии VEGF в клетках ОЯ крыс контрольной группы (p=0,01) (см. табл. 4.6, рис. 4.2).

Выживаемость животных. Как свидетельствуют данные таблицы 4.7 и рисунков 4.9–4.10, показатели выживаемости крыс 2-й группы были достоверно выше таковых показателей у животных контрольной группы (p=0,02). При этом общая выживаемость крыс составила 54,8±14,8 %, СПЖ – 28,0±4,2 дней, УПЖ – 104,4 %.

4.3. Третья группа крыс (Т)

Макроскопическая оценка органов брюшной полости и таза. Инструментальный анализ массы селезенки. Крысы, пролеченные трипторелином, имели объем асцитической жидкости 15,7±6,1 мл, которая у большинства животных была хилезной. Отличительная особенность опухолевого процесса большинства крыс – незначительный адгезивный спаечный процесс, отсутствие опухолевого поражения париетальной и висцеральной брюшины брюшной полости, париетальной брюшины таза, висцеральной брюшины матки и маточных труб, атрофия яичников с незначительными папиллярными разрастаниями.

При визуальной оценке печени и почек, патологических изменений не выявля-

но, у одного животного отмечены умеренно выраженный охряно-желтый цвет печени и дряблость ее консистенции.

Средняя масса селезенки крыс 3-й группы уменьшилась незначительно, на 9,8 % ($1009,7 \pm 10,0$ мг), что не имело достоверного различия с таковым показателем у контрольных животных ($p > 0,05$) (см. табл. 4.6).

Гистологическое исследование органов брюшной полости и таза, передней брюшной стенки. В опухолевых очагах выявлялись множественные некрозы и кровоизлияния (рис. 4.3). Жизнеспособная опухолевая ткань представлена в виде «островков». В ней преобладали клетки с вакуолизированной цитоплазмой, однако присутствовала значительная доля клеток с равномерно окрашенной базофильной цитоплазмой, и только небольшая часть их имела признаки дистрофических изменений с пикнотическими ядрами.

Средняя ОДЖОТ составила $30,3 \pm 0,4$ %, этот показатель был значительно меньшим по сравнению с таковым у крыс контрольной группы ($p = 0,001$) и достоверно большим, чем у животных 2-й группы ($p = 0,01$). В опухоли значительно реже наблюдался ангиоматоз в отличие от ОЯ животных 1-й и 2-й групп (см. табл. 4.6, рис. 4.3).

Иммуногистохимическое исследование экспрессии VEGF в клетках ОЯ. В опухолевых клетках яичника крыс, пролеченных трипторелином, определялась умеренная степень экспрессии VEGF ($39,4 \pm 1,9$ %). Этот показатель был достоверно ниже уровня экспрессии ангиогенного фактора в клетках ОЯ животных контрольной и 2-й групп ($p = 0,001$ и $p = 0,003$, соответственно) (см. табл. 4.6, рис. 4.3).

Выживаемость крыс данной группы была выше ($37,1 \pm 16,3$ %, СПЖ – $16,9 \pm 2,1$ дней), чем у контрольных, и ниже, чем у животных 2-й группы (см. табл. 4.7, рис. 4.9–4.10), однако статистический

анализ установил отсутствие достоверных различий между указанными показателями ($p = 0,22$ и $p = 0,12$, соответственно), при этом УПЖ составило 23,4 %.

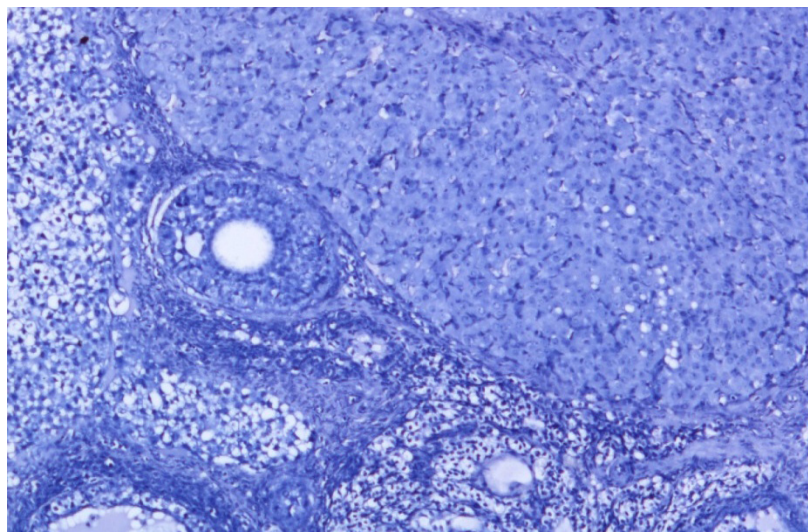
4.4. Четвертая группа крыс (Э)

Макроскопическая оценка органов брюшной полости и таза. Инструментальный анализ массы селезенки. Животные, пролеченные монотерапией экземестаном, имели объем асцитической жидкости $13,3 \pm 5,3$ мл, которая у большинства – была хилезной, также как у крыс 3-й группы. Интерес представил факт, что при макроскопической оценке органов брюшной полости и таза у 6-ти животных, павших в более ранние сроки наблюдения и умерщвленных на 14-й, 17-й дни, отсутствовали признаки опухолевого поражения, яичники были атрофичными. У крысы, умерщвленной на 19-е сутки, наблюдался выраженный опухолевый процесс в органах брюшной полости и таза, однако у двух животных, павших на 23- и 24-е сутки, отмечены умеренно выраженные опухолевые поражения. Печень и почки визуально были без патологических изменений.

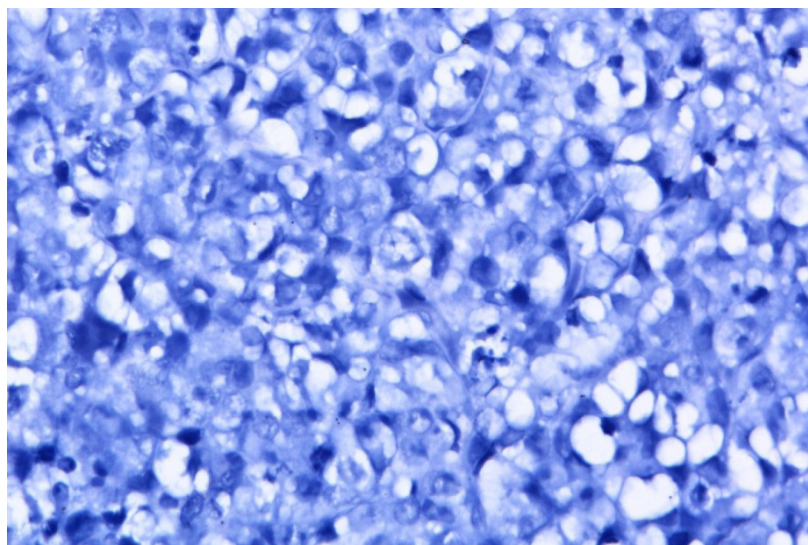
Масса селезенки крыс 4-й группы уменьшилась на 8,7 % ($1022,0 \pm 8,4$ мг). Этот показатель не имел достоверных различий по сравнению с таковым у контрольных животных ($p > 0,05$) (см. табл. 4.6).

Гистологическое исследование органов брюшной полости и таза, передней брюшной стенки. Иммуногистохимическое исследование экспрессии VEGF в клетках ОЯ. В опухолях крыс 4-й группы, также, как и в исследуемом материале животных предыдущих групп, наблюдались множественные некрозы и кровоизлияния, однако ангиоматоз был менее выраженным, чем в ОЯ крыс контрольной и 2-й групп (рис. 4.4). Значительная часть жизнеспособных опухолевых клеток имела

**3 группа (Т)
Н & Е,
×100**



**3 группа (Т)
Н & Е,
ОДЖОТ,
×400**



**3 группа (Т)
VEGF,
×400**

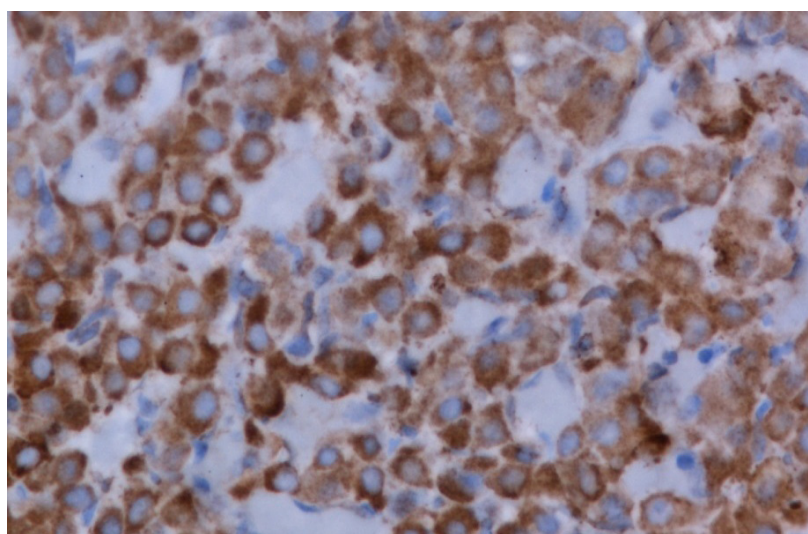
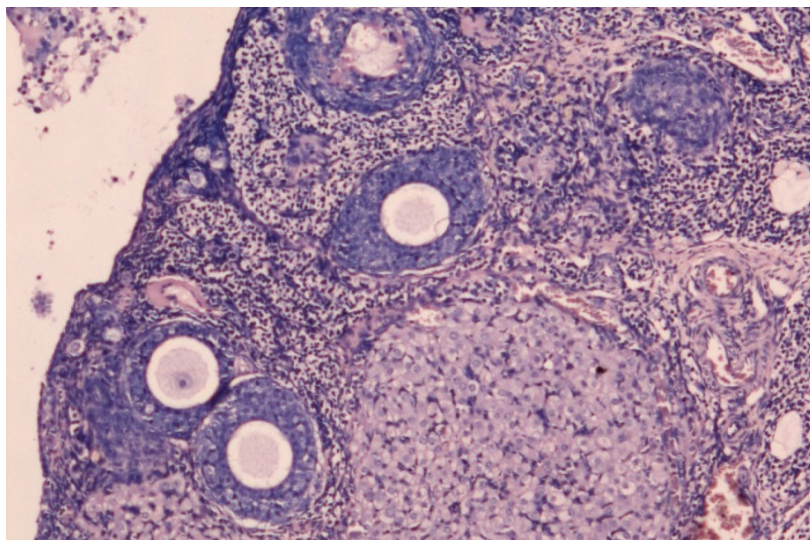
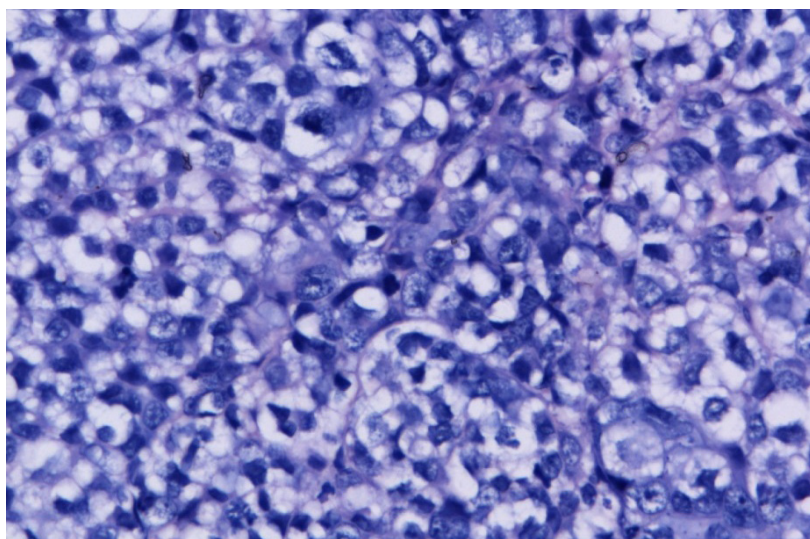


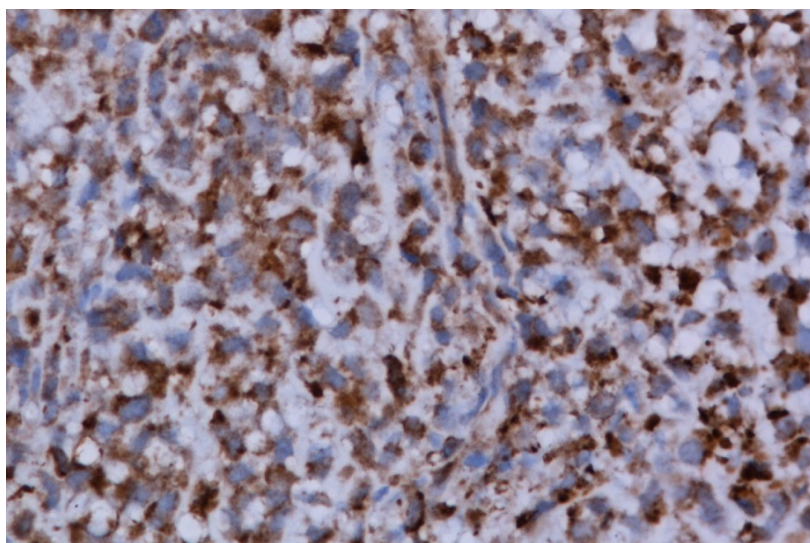
Рис. 4.3. Гистологическая и ИГХ картина яичника крыс с перевиваемой ОЯ 3-й группы



**4 группа (Э)
Н & Е,
×100**



**4 группа (Э)
Н & Е,
ОДЖОТ,
×400**



**4 группа (Э)
VEGF,
×400**

Рис. 4.4. Гистологическая и ИГХ картина яичника крыс с перевиваемой ОЯ 4-й группы

сравнительно большие размеры, равномерно окрашенную базофильную цитоплазму, крупные светлые ядра. Относительно часто встречались дегенерирующие клетки с просветленной цитоплазмой и пикнотичными ядрами.

Степени лечебного патоморфоза и экспрессии ангиогенного фактора в опухоли животных 4-й группы ($31,4 \pm 0,3$ и $33,9 \pm 1,4\%$, соответственно), достоверно не отличались от показателей ОДЖОТ и экспрессии VEGF в ОЯ при воздействии трипторелином. При этом статистический анализ установил достоверные различия указанных показателей при сравнении их с таковыми у крыс 1-й и 2-й групп ($p=0,01$) (см. табл. 4.6, рис. 4.4).

Выживаемость животных этой группы ($30,9 \pm 13,9\%$, СПЖ – $16,8 \pm 1,7$ дней) также достоверно не отличалась от выживаемости крыс, получивших монотерапию трипторелином, она была выше, чем у контрольных, и ниже, чем у животных 2-й группы, однако различия между показателями не имели достоверности ($p=0,19$ и $p=0,21$, соответственно), при этом УПЖ составило $22,6\%$ (см. табл. 4.7, рис. 4.9–4.10).

4.5. Пятая группа крыс (ЦП+Т)

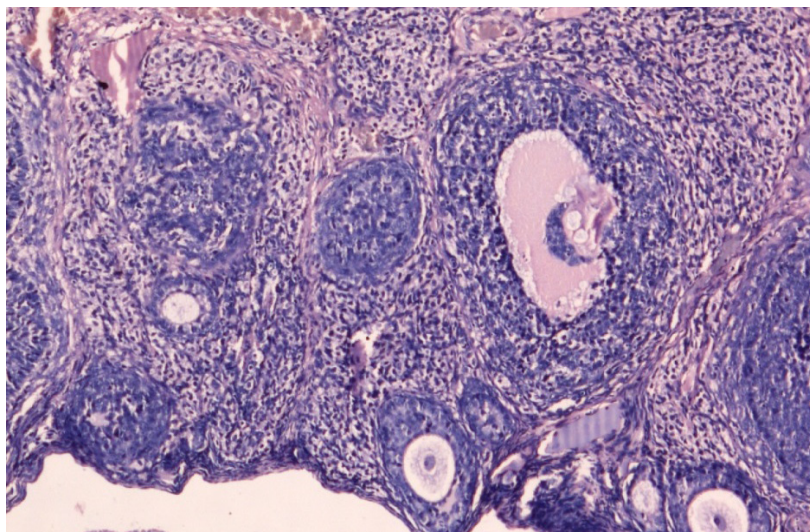
Макроскопическая оценка органов брюшной полости и таза. Инструментальный анализ массы селезенки. Среди животных, получивших комбинацию цисплатина и трипторелина и умерщвленных на 14-е, 17-е и 19-е сутки, отсутствовал асцит, макроскопически опухолевых поражений в брюшной полости и тазу не отмечено, сальник лизирован, у одной из 3-х крыс наблюдались единичные опухолевые папиллярные разрастания по серозе тонкой, толстой кишки и в яичниках. Остальные 4-е крысы, павшие в более поздние сроки наблюдения, имели

асцит. Объем серозной или геморрагической асцитической жидкости составил $10,1 \pm 5,3$ мл и был меньшим по сравнению с таковым у животных, получивших монотерапию цисплатином, трипторелином или экземестаном. Распространенность опухолевого процесса и степень поражения органов брюшной полости и таза были меньшими по сравнению с таковыми показателями у крыс, пролеченных монотерапией цисплатином и гормональными препаратами. Отличительная особенность – маленькие размеры яичников с незначительными папиллярными включениями, у 2-х животных яичники визуально были без опухоли. Печень и почки без патологических изменений, у одной крысы, павшей на 60-е сутки, печень была уменьшена в размерах, с охряно-желтым оттенком, дряблой консистенции.

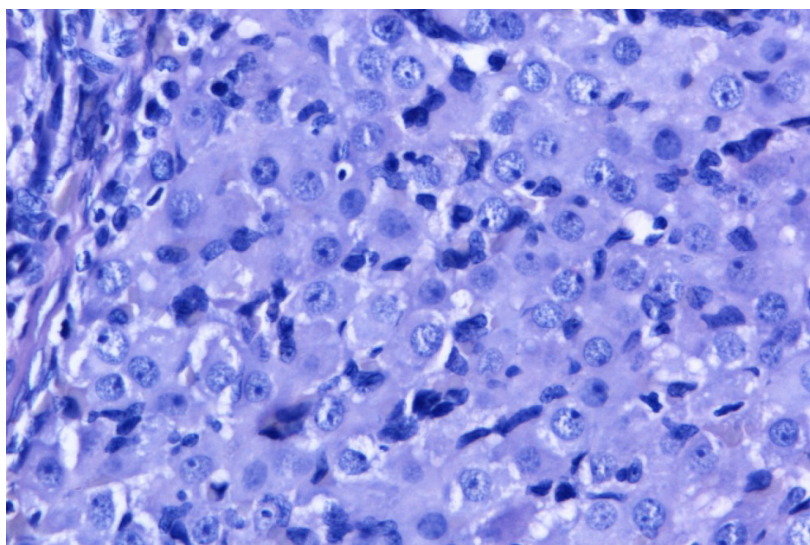
Масса селезенки животных 5-й группы ($800,4 \pm 7,2$ мг) оказалась достоверно меньшей по сравнению с массой селезенки крыс контрольной группы ($p<0,05$): средняя масса селезенки уменьшилась на $28,5\%$. При этом данный показатель достоверно не отличался от такового у животных, получивших монотерапию цисплатином (см. табл. 4.6).

Гистологическое исследование органов брюшной полости и таза, передней брюшной стенки. Иммуногистохимическое исследование экспрессии VEGF в клетках ОЯ. В опухолевых очагах наблюдались большие участки некрозов и кровоизлияний, скопление фиброзных масс (рис. 4.5). Клеточный состав ОЯ характеризовался значительным полиморфизмом, с большой долей дегенерирующих клеток и клеток с пикнотическими ядрами, встречались только единичные клетки с равномерно окрашенной цитоплазмой и крупными округлыми ядрами.

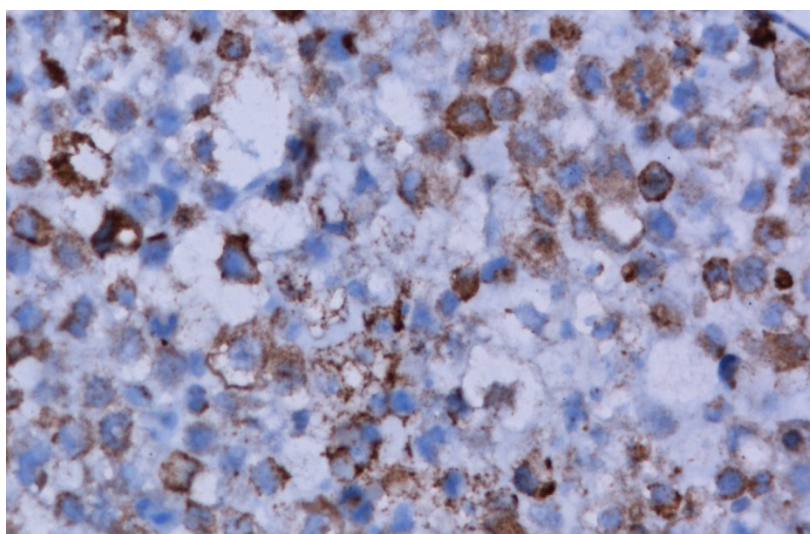
Средняя ОДЖОТ и экспрессия VEGF в очагах разрастаний аденокарциномы



**5 группа (ЦП+Т)
Н & Е,
×100**



**5 группа (ЦП+Т)
Н & Е,
ОДЖОТ,
×400**



**5 группа (ЦП+Т)
VEGF,
×400**

Рис. 4.5. Гистологическая и ИГХ картина яичника крыс с перевиваемой ОЯ 5-й группы

были достоверно низкими ($10,1 \pm 0,1$ и $21,4 \pm 1,4$ %, соответственно) по сравнению с таковыми показателями в ОЯ крыс 1–4-й групп ($p=0,01$, $p=0,01$, $p<0,01$, $p<0,01$, соответственно) (см. табл. 4.6, рис. 4.5).

Выживаемость животных 5-й группы была достоверно высокой ($100,0 \pm 0,0$ %) по сравнению с показателями выживаемости крыс предыдущих (1–4-й) групп ($p<0,01$, $p<0,01$, $p=0,001$, $p=0,001$, соответственно). СПЖ составила $43,0 \pm 11,3$ дня, УПЖ – $213,9$ %. Двое животных излечены ($22,2$ %) и оставались живы до момента завершения наблюдения (730 дней) без признаков болезни (см. табл. 4.7, рис. 4.9–4.10).

4.6. Шестая группа крыс (ЦП+Э)

Макроскопическая оценка органов брюшной полости и таза. Инструментальный анализ массы селезенки. У животных, получивших комбинацию цисплатина и экземестана и умерщвленных на 14-й, 17-й и 19-й дни, отсутствовал асцит, как и у крыс 5-й группы.

При макроскопической оценке отмечены незначительные опухолевые поражения сальника и придатков матки, при этом яичники были маленьких размеров по сравнению с таковыми у животных контрольной и 2-й групп.

Павшие крысы в более поздние сроки наблюдения имели асцит, объем геморрагической асцитической жидкости составил $8,0 \pm 1,2$ мл. Среди павших крыс, у 2-х – визуально отсутствовали признаки опухолевого поражения органов брюшной полости и таза.

У остальных 3-х животных, павших на 53-и, 85-е и 86-е сутки наблюдения, распространенность и степень поражения опухолевым процессом внутренних органов были значительно меньшими по сравнению с таковыми показателями у крыс, получивших монотерапию цисплатином, и иден-

тичными – по сравнению с животными, которые получили комбинацию цисплатина и трипторелина. Однако яичники у этих павших крыс были в виде солидной опухоли в отличие от эвентирующих папиллярно-сосочковых опухолей, которые наблюдались у животных предыдущих групп.

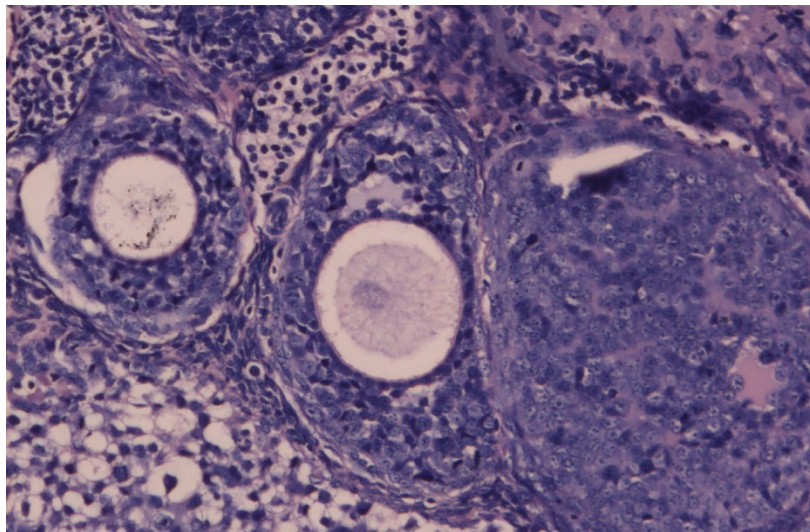
При визуальной оценке печени и почек у крыс этой группы, выявлена дряблость консистенции и незначительный охряно-желтый цвет печени у 2-х животных, почки их на разрезе имели желтый крап.

Масса селезенки крыс 6-й группы уменьшилась на $29,3$ %. Этот показатель не имел достоверных различий от такового у животных, получивших монотерапию цисплатином (см. табл. 4.6).

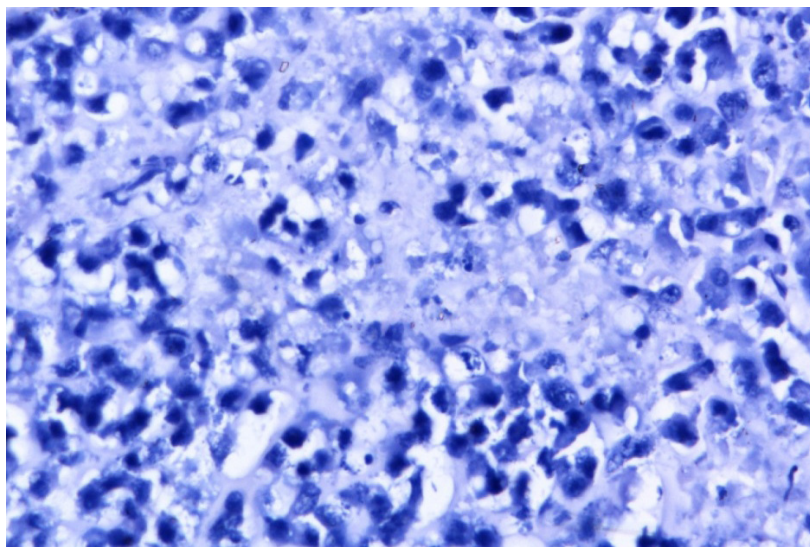
Гистологическое исследование органов брюшной полости и таза, передней брюшной стенки. Иммуногистохимическое исследование экспрессии VEGF в клетках ОЯ. В разрастаниях аденокарциномы наблюдались распространенные некрозы, значительная воспалительная инфильтрация, кровоизлияния, множественные очаги ангиоматоза и фиброза (рис. 4.6). Среди очагов некроза выявлялись фиброзные слои, местами с гиалиномом и миксоматозом.

Средняя ОДЖОТ составила $16,2 \pm 0,3$ %, экспрессия VEGF была низкой ($15,0 \pm 1,3$ %) (см. табл. 4.6, рис. 4.6). Статистическим анализом установлены достоверные различия этих показателей по сравнению с таковыми в ОЯ крыс 1–5 групп ($p<0,01$).

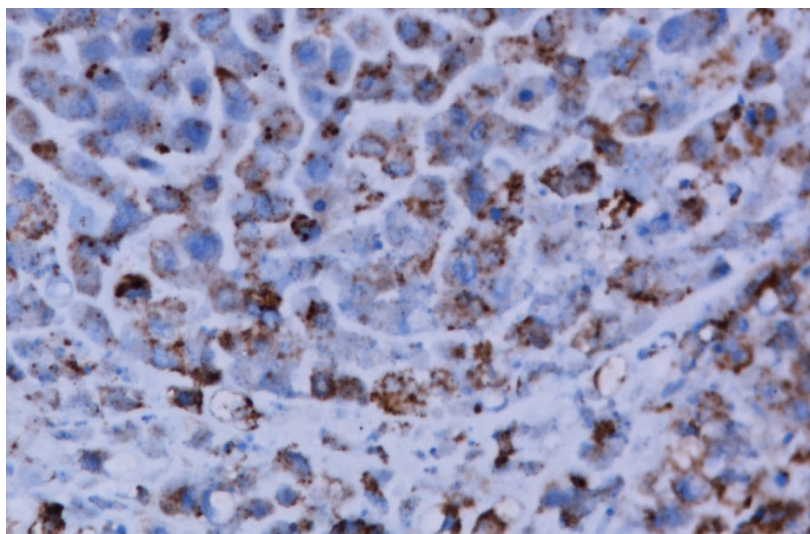
Выживаемость животных. Анализируя данные таблицы 4.7, отметили достоверно высокую выживаемость животных этой группы ($85,7 \pm 13,2$ %, СПЖ – $41,9 \pm 10,0$ %) по сравнению с таковой у крыс 1-й, 3-й и 4-й групп ($p=0,02$, $p=0,04$, $p=0,03$, соответственно) (см. рис. 4.9–4.10). Показатели выживаемости животных этой группы были выше, чем у крыс, пролеченных цисплатином,



6 группа (ЦП+Э)
H & E,
×100



6 группа (ЦП+Э)
H & E,
ОДЖОТ,
×400



6 группа (ЦП+Э)
VEGF,
×400

Рис. 4.6. Гистологическая и ИГХ картина яичника крыс с перевиваемой ОЯ 6-й группы

и ниже, чем у животных 5-й группы, при этом статистической достоверности различий между показателями не установлено ($p=0,08$ и $p=0,37$, соответственно). УПЖ животных данной группы – 205,8 %.

Излечена была 1 крыса (11,1 %), у которой на 365-е сутки жизни обнаружена опухоль правой грудной железы. При аутопсии умерщвленного животного макроскопически и гистологически патологических изменений со стороны органов грудной клетки, брюшной полости, таза и забрюшинного пространства не выявлено. В правой грудной железе – опухоль $4,0 \times 3,5$ см, гистологически – фиброаденома.

4.7. Седьмая группа крыс (ЦП+Т+Э)

Макроскопическая оценка органов брюшной полости и таза. Инструментальный анализ массы селезенки. У крыс, пролеченных комбинацией цисплатин+трипторелин+экземестан и умерщвленных на 14-й, 17-й и 19-й дни, также отсутствовал асцит, как и у животных 5-й и 6-й групп. При макроскопической оценке органов брюшной полости и таза опухолевых поражений не отмечалось, однако у 2-х крыс яичники имели единичные опухолевые папиллярные разрастания с кровоизлиянием.

Животные, павшие в более поздние сроки наблюдения, имели асцит. Объем геморагической асцитической жидкости составил $6,5 \pm 1,5$ мл и был наименьшим по сравнению с таковым у крыс всех предыдущих групп.

Интерес представил факт, что у всех павших животных отсутствовали опухолевые изменения органов брюшной полости и таза, яичники были атрофичными. Однако у всех крыс данной группы выявлено увеличение печени, дряблость ее консистенции и охряно-желтый цвет. Почки также были увеличены, дряблые, серого цвета, на разрезе – с желтым кра-

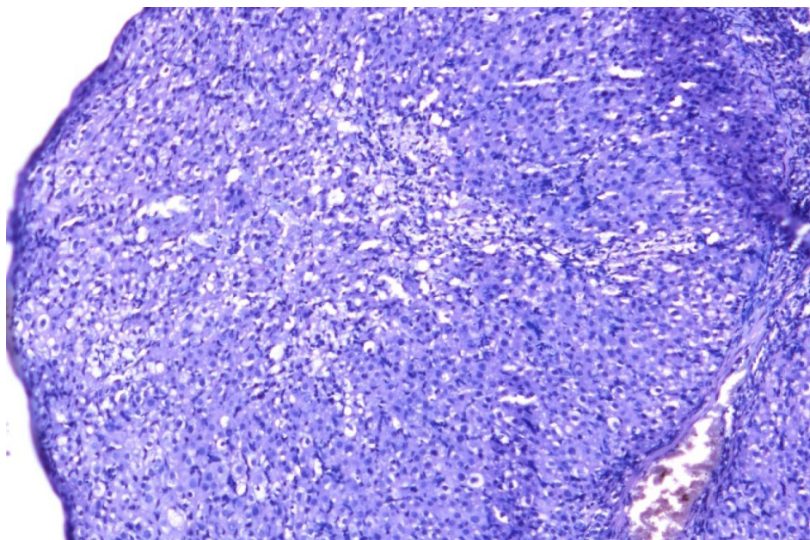
пом, корковый слой расширен с признаками отека.

Уменьшение массы селезенки животных 7-й группы было наибольшим (38,7 %) по сравнению с таковыми показателями у крыс 2-й, 5-й и 6-й групп, однако различия между ними не имели достоверности (см. табл. 4.6).

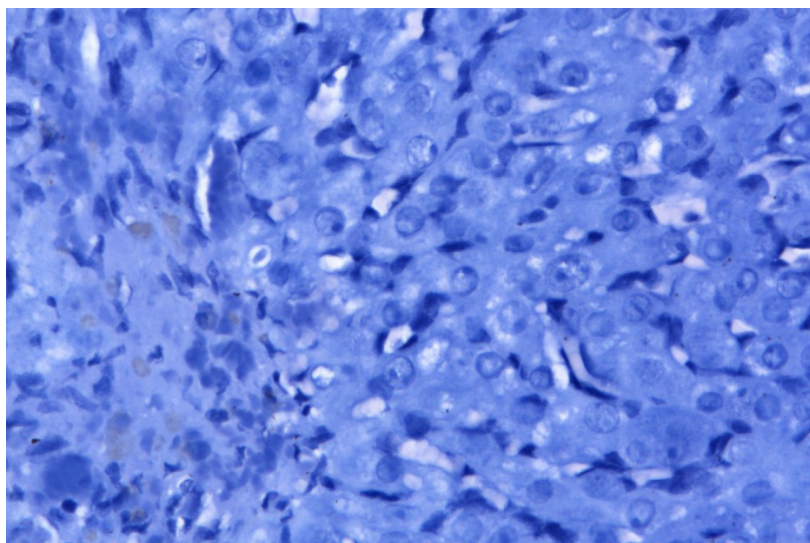
Гистологическое исследование органов брюшной полости и таза, передней брюшной стенки. Иммуногистохимическое исследование экспрессии VEGF в клетках ОЯ. В опухоли яичника наблюдались значительные дегенеративно-некротические изменения, подобные таковым у животных 2-й и 5-й групп (рис. 4.7). Степень лечебного патоморфоза была высокой (ОДЖОТ – $10,1 \pm 0,3$ %). Этот показатель не имел достоверных различий по сравнению с ОДЖОТ в ОЯ крыс, получивших комбинацию цисплатина и трипторелина. Однако сопоставляя степень лечебного патоморфоза в ОЯ животных 7-й группы с ОДЖОТ в опухоли крыс, пролеченных монотерапией цисплатином ($11,7 \pm 0,2$ %), статистический анализ показал достоверные различия между ними ($p < 0,01$) (см. табл. 4.6).

Экспрессия VEGF в опухолевых клетках наблюдалась самой низкой ($9,4 \pm 1,8$ %), имея достоверные различия по сравнению с уровнем экспрессии ангиогенного фактора в ОЯ крыс других групп ($p < 0,01$) (см. табл. 4.6, рис. 4.7).

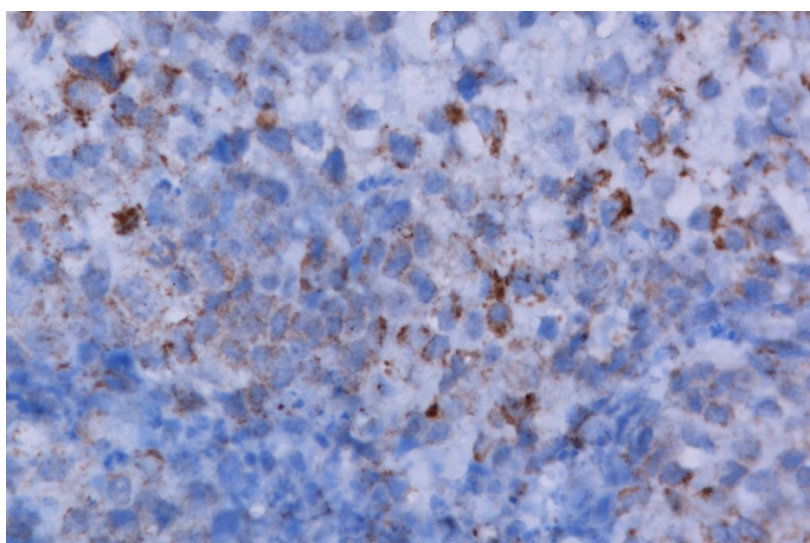
Выживаемость животных. Показатели выживаемости крыс этой группы оказались достоверно низкими ($44,3 \pm 15,4$ %, СПЖ – $19,2 \pm 1,3$ дней), чем у животных 5-й и 6-й групп ($p=0,001$) и не имели достоверных различий по сравнению с таковыми у крыс 2-й, 3-й и 4-й групп ($p > 0,05$) (см. табл. 4.7 и рис. 4.9–4.10), при этом были достоверно выше показателей выживаемости контрольных животных ($p=0,01$). УПЖ крыс данной группы – 40,1 %.



**7 группа (ЦП+Т+Э)
Н & Е,
×100**



**7 группа (ЦП+Т+Э)
Н & Е,
ОДЖОТ,
×400**



**7 группа
(ЦП+Т+Э)
VEGF,
×400**

Рис. 4.7. Гистологическая и ИГХ картина яичника крыс с перевиваемой ОЯ 7-й группы

Полученные результаты исследования позволяют заключить, что у крыс, пролеченных комбинацией цисплатин+трипторелин+экземестан, имела место токсическая дистрофия печени и почек с развитием острой печеночно-клеточной и почечной недостаточности, что вероятно и явилось непосредственной причиной смерти животных.

4.8. Восьмая группа крыс (Т+Э)

Макроскопическая оценка органов брюшной полости и таза. Инструментальный анализ массы селезенки. У крыс, получивших комбинацию трипторелина и экземестана объем асцитической жидкости составил $15,2 \pm 3,4$ мл, не имея достоверных различий по сравнению с таковым показателем у животных, пролеченных монотерапией трипторелином или экземестаном. Асцитическая жидкость была как геморрагической, так и хилезной. Макроскопически у крыс, умерщвленных на 14-е, 17-е сутки и одной павшей на 15-е сутки, опухолевых изменений париетальной и висцеральной брюшины органов брюшной полости и таза не наблюдалось. Обнаруживались атрофические изменения в яичниках, на одном из которых – незначительные опухолевые папиллярные разрастания. У остальных животных имел место распространенный опухолевый процесс в органах брюшной полости и таза, степень которого прямо коррелировала со сроками наблюдения. При исследовании печени и почек патологических изменений не выявлено.

Масса селезенки крыс 8-й группы уменьшилась на 13,6 %. Этот показатель не имел достоверных различий с таковым показателем у животных контрольной группы и крыс, получивших монотерапию трипторелином или экземестаном (см. табл. 4.6).

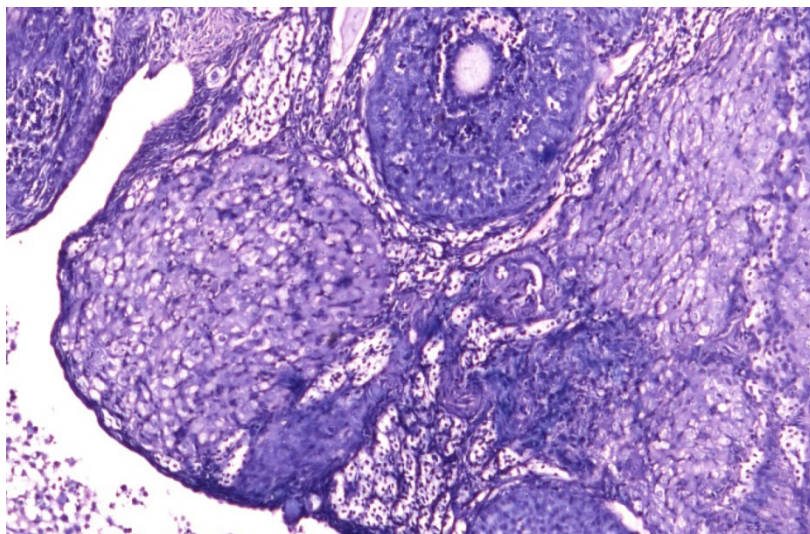
Гистологическое исследование органов брюшной полости и таза, перед-

ней брюшной стенки. Распространение опухолевого поражения париетальной брюшины и органов брюшной полости и таза, а также размеры опухолевых разрастаний у крыс этой группы были почти вдвое меньшими, чем у контрольных животных, однако большими, чем у крыс тех групп, в которых применялся цисплатин. В разрастаниях аденокарциномы также наблюдались обширные некрозы и кровоизлияния. В яичниках выявлялись множественные очаги с ангиоматозом и выраженным фиброзом, которые отмечались в матке, трубах, брыжейке кишечника. Жизнеспособные клетки аденокарциномы были достаточно крупные, имели базофильную цитоплазму и крупные ядра, среди них в небольшом количестве выявлялись клетки с просветленной цитоплазмой и вакуолями, иногда с выраженными пикнотическими изменениями ядер.

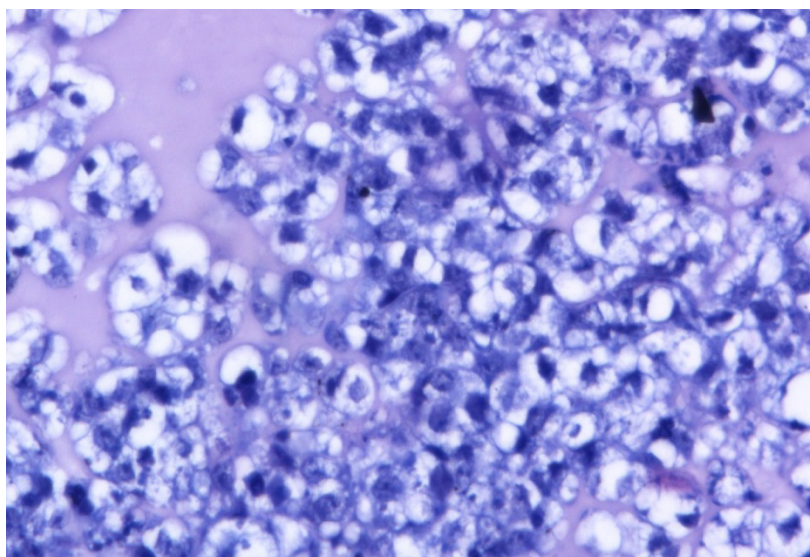
Средняя ОДЖОТ составила $22,1 \pm 0,4$ %, этот показатель достоверно ниже, чем у контрольных животных и крыс, пролеченных монотерапией трипторелином или экземестаном ($p=0,001$), и достоверно выше, чем у животных тех групп, где применялся цисплатин ($p=0,001$) (см. табл. 4.6, рис. 4.8).

Иммуногистохимическое исследование экспрессии VEGF в клетках ОЯ. Экспрессия VEGF наблюдалась низкой ($12,2 \pm 0,9$ %) в небольших участках опухолевых клеток, расположенных локусами, но на большей части массы клеток экспрессия ангиогенного фактора отсутствовала (см. табл. 4.6, рис. 4.8). Статистический анализ установил достоверные различия уровня экспрессии VEGF в клетках ОЯ крыс данной группы по сравнению с таковым показателем у животных 1–5-й групп, и отсутствие достоверности различий со степенью экспрессии VEGF в клетках опухоли животных 6–7-й групп.

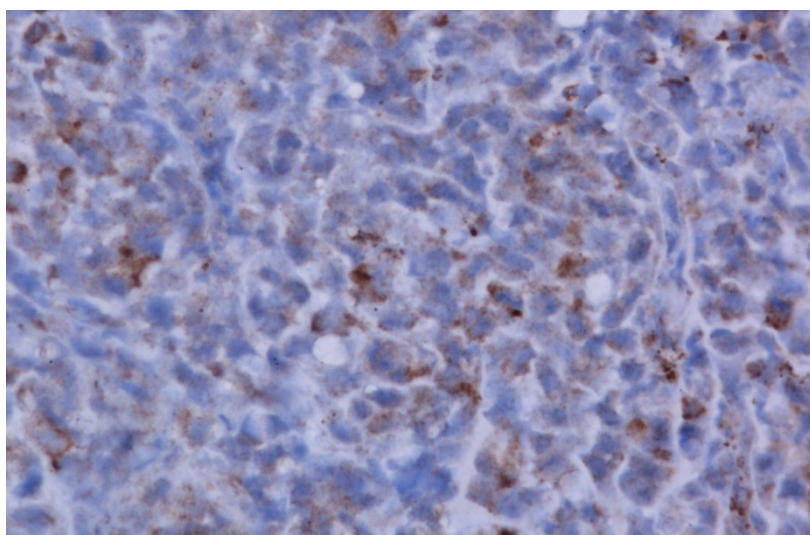
Выживаемость животных. Показатели выживаемости крыс этой группы были невысокими ($32,2 \pm 14,0$ %, СПЖ –



**8 группа (Т+Э)
Н & Е,
×100**



**8 группа (Т+Э)
Н & Е,
ОДЖОТ,
×400**



**8 группа (Т+Э)
VEGF,
×400**

Рис. 4.8. Гистологическая и ИГХ картина яичника крыс с перевиваемой ОЯ 8-й группы

18,0 ± 1,7 дней) и не имели достоверных различий по сравнению с выживаемостью животных, пролеченных монотерапией трипторелином или экземеестаном ($p=0,28$). Более того, отсутствовали достоверные различия между показателями выживаемости крыс данной и контрольной групп ($p=0,24$). УПЖ составило 31,4 % (см. табл. 4.7 и рис. 4.9–4.10).

Полученные нами переменные гистологические, иммуногистохимические показатели и результаты выживаемости животных, пролеченных разными лекарственными средствами и их комбинациями, послужило основанием провести анализ корреляционной связи показателей ОДЖОТ, экспрессии VEGF в ОЯ с продолжительностью жизни крыс (табл. 4.8). Как свидетельствуют данные таблицы 4.8, установлена обратная корреляционная связь между выживаемостью животных и показателем ОДЖОТ в ОЯ ($r=-0,320$, $p=0,007$), а также прямая корреляционная связь между ОДЖОТ и экспрессией VEGF в опухолевых клетках ($r=0,712$, $p<0,01$), при этом никакой корреляции не выявлено между выживаемостью животных и экспрессией ангиогенного фактора в ОЯ ($r=-0,194$, $p=0,11$).

Таким образом, представленная модель перевиваемой асцитной ОЯ, с позитивным гормональным рецепторным статусом и гиперэкспрессией VEGF, продемонстрировала агрессивное клиническое течение опухолевого процесса у животных, что подтвердилось гистологическим и иммуногистохимическим исследованиями опухолевых

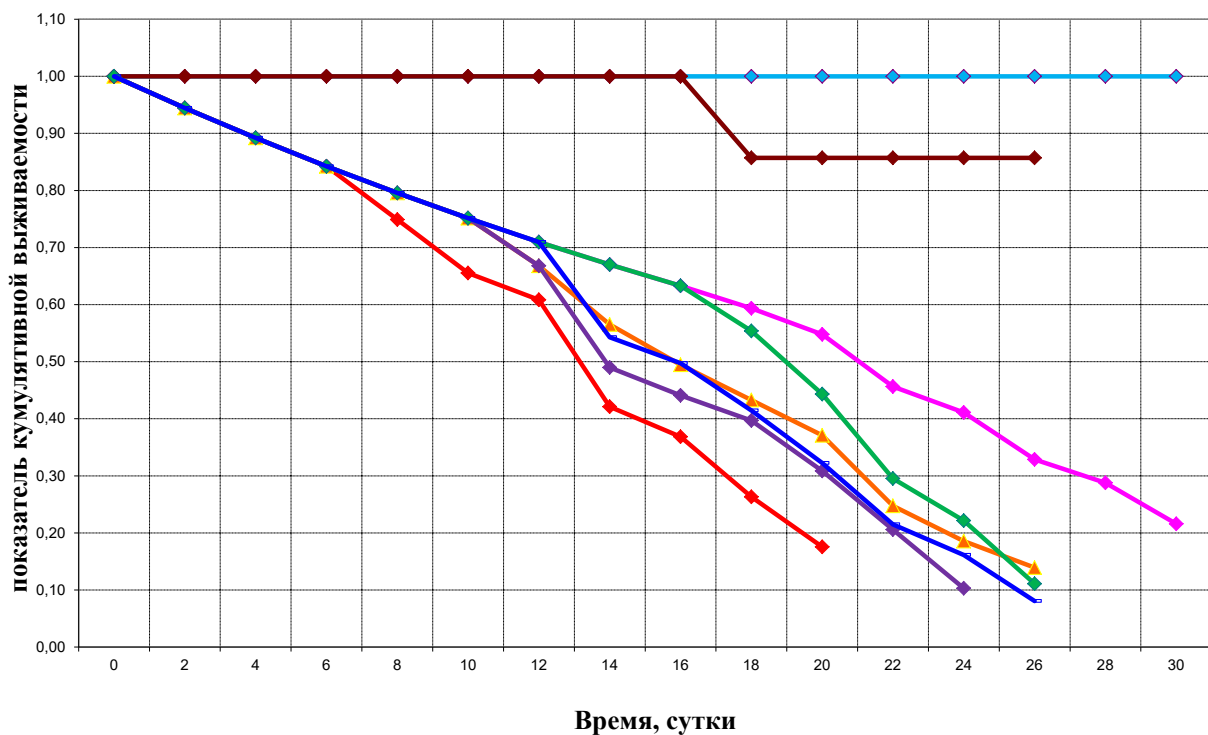
тканей крыс с перевиваемой ОЯ, а также показателями выживаемости животных. Полученные результаты показали противоопухолевую эффективность цитотоксика и гормональных препаратов в монотерапии и при различных их комбинациях. Мы отметили, что не только цисплатин, но и трипторелин, и экземеестан в монотерапии вызывали лечебный патоморфоз в ОЯ, что позволяет судить об антипролиферативной и апоптотической активности данных гормональных средств [289, 319, 324, 386, 406]. Однако степень лечебного патоморфоза в ОЯ при воздействии цитотоксиком была достоверно более высокой, чем при монотерапии трипторелином или экземеестаном. При этом гормональные препараты проявили достоверно высокую антиангиогенную активность в клетках ОЯ по сравнению с таковой при монотерапии цитотоксиком. Выживаемость крыс, пролеченных монотерапией трипторелином или экземеестаном, была выше, чем у контрольных и ниже, чем у животных, пролеченных цисплатином, однако различия между показателями не имели достоверности. Представленные результаты подтверждаются отсутствием корреляционной связи между экспрессией VEGF в клетках ОЯ и выживаемостью животных. При этом установлена значимая корреляция между экспрессией ангиогенного фактора и лечебным патоморфозом (ОДЖОТ) в ОЯ, а также между ОДЖОТ и продолжительностью жизни крыс.

Наиболее выраженная антиангиогенная активность в клетках ОЯ отмечена у живот-

Таблица 4.8

Парные корреляции Пирсона между продолжительностью жизни крыс с перевиваемой ОЯ, экспрессией VEGF и ОДЖОТ в ОЯ (n=69)

Показатель	Коэффициент корреляции	p
Продолжительность жизни (дни) & ОДЖОТ	-0,320	0,007
Продолжительность жизни (дни) & VEGF	-0,194	0,11
ОДЖОТ & VEGF	0,712	0,0001



—♦— Группа 1 —♦— Группа 2 —♦— Группа 3 —♦— Группа 4 —♦— Группа 5 —♦— Группа 6 —♦— Группа 7 —♦— Группа 8

Рис. 4.9. Общая выживаемость крыс с перевиваемой ОЯ всех групп.

Кривые выживаемости по Каплану-Мейеру, χ^2 критерий, $p < 0,01$

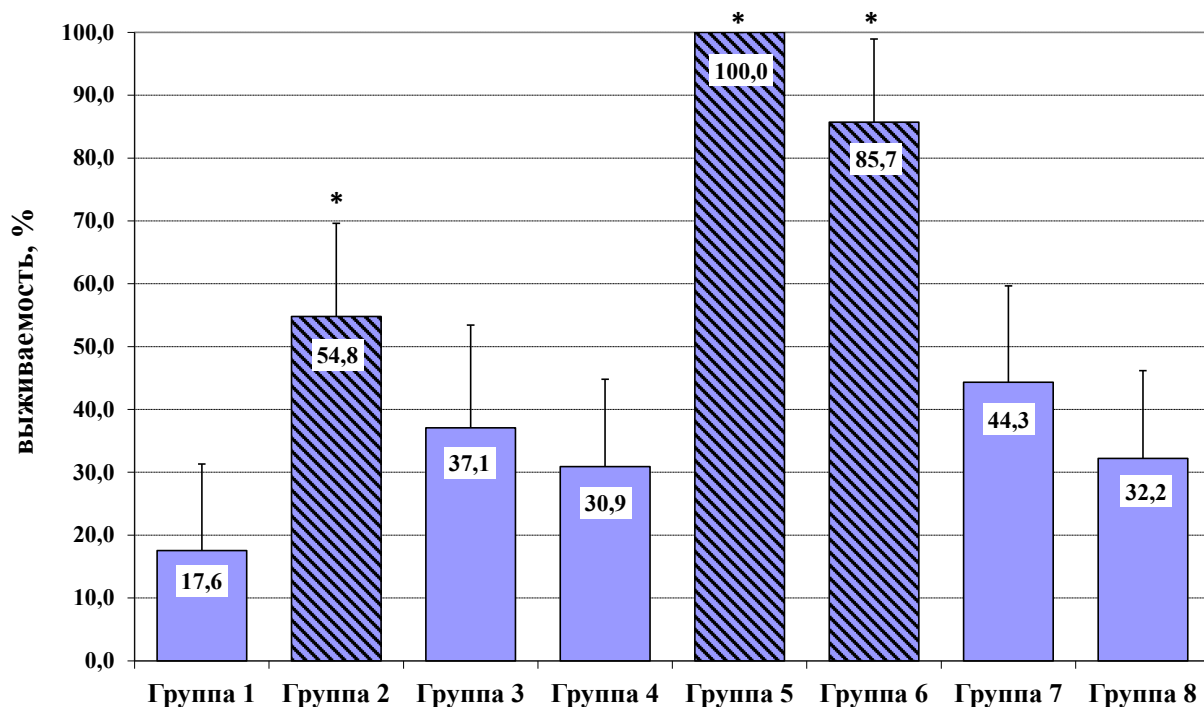


Рис. 4.10. Общая выживаемость крыс с перевиваемой ОЯ 1–8 групп.

* $p < 0,05$ по сравнению с показателями выживаемости крыс контрольной группы, 2-й (ЦП) и 5-й (ЦП+Т) групп животных

ных, пролеченных комбинацией гормональных средств трипторелина и экземестана, при этом степень лечебного патоморфоза в опухоли и показатели выживаемости этих крыс, не имели достоверных различий по сравнению с таковыми показателями у животных, пролеченных монотерапией трипторелином или экземестаном. Поэтому комбинация этих гормональных препаратов не показала преимуществ перед их применением в качестве монотерапии.

Комбинированное использование цитотоксика с трипторелином или экземестаном продемонстрировало достоверно высокие степени лечебного патоморфоза и антиангиогенной активности в клетках ОЯ, а также наиболее высокую выживаемость животных по сравнению с таковыми показателями у крыс, пролеченных монотерапией цисплатином, трипторелином, экземестаном или комбинацией гормональных средств.

Мы отметили, что гормональные препараты не имели достоверно значимого токсического действия по сравнению с алкилирующим средством, а комбинация цисплатина и трипторелина, цисплатина и экземестана, достоверно не превышала токсического влияния одного цисплатина.

У животных, получивших комбинацию 3-х препаратов, наблюдались достоверно наиболее высокая антиангиогенная активность и высокая степень лечебного патоморфоза, идентичная таковой у крыс, пролеченных цисплатином и трипторелином, однако животные погибли от острой токсической печеночно-почечной недостаточности. Эти данные свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований в изучении механизмов потенцирования взаимного токсического действия комбинации цисплатина, трипторелина и экземестана в зависимости от переносимых и терапевтических доз в экспериментальных исследованиях.

Самым важным результатом исследования явилось то, что среди животных, пролеченных комбинацией цитотоксика с трипторелином или экземестаном, были трое излечены (ЦП+Т – 22,2 %, ЦП+Э – 11,1 %).

Таким образом, трипторелин и экземестан повышают противоопухолевую активность цисплатина в отношении перевиваемой злокачественной асцитной опухоли яичника и достоверно значимо выживаемость животных, особенно при комбинированном использовании цисплатина и трипторелина.

Полученные результаты диктуют необходимость и перспективность продолжения экспериментальных исследований *in vitro* и *in vivo* с целью изучения механизмов реализации гормонально-рецепторных сигналов в клетках РЯ при воздействии различных половых гормонов, а также механизмов потенцирования противоопухолевого эффекта цисплатина трипторелином и экземестаном. Это вероятно откроет новые возможности проведения клинической апробации с разработкой принципов и методов применения гормональной терапии в I линии комплексного лечения больных РЯ.

РЕЗЮМЕ

Среди животных, пролеченных монотерапией цисплатином, трипторелином или экземестаном, наиболее выраженная антиангиогенная активность в клетках ОЯ отмечена при использовании гормональных препаратов (трипторелина – $39,4 \pm 1,9$ и экземестана – $33,9 \pm 1,4$ %, $p=0,003$). Однако наиболее высокая степень лечебного патоморфоза в ОЯ наблюдалась при лечении цисплатином ($11,7 \pm 0,2$ %, $p=0,001$).

Комбинированное использование трипторелина и экземестана повысило антиангиогенную активность в клетках ОЯ ($12,2 \pm 0,9$ %, $p=0,001$), достоверно не изменив показатели лечебного патомор-

фоза ($22,1 \pm 0,4$ %, $p=0,005$) и выживаемости животных ($32,2 \pm 14,0$ %, $p=0,007$) по сравнению с таковыми показателями у крыс, пролеченных монотерапией трипторелином или экземестаном.

Установлена значимая корреляционная связь между экспрессией VEGF и лечебным патоморфозом (ОДЖОТ) в ОЯ ($r=0,712$, $p=0,0001$), а также между ОДЖОТ и продолжительностью жизни животных ($r=-0,320$, $p=0,007$). Однако выявлено отсутствие корреляции между экспрессией VEGF в клетках ОЯ и выживаемостью крыс ($r=-0,194$, $p=0,11$).

Комбинированное применение цитотоксика с трипторелином или экземестаном продемонстрировало достоверно высокие степени лечебного патоморфоза ($10,1 \pm 0,1$ и $16,2 \pm 0,3$ %, соответственно), антиангиогенной активности в клетках ОЯ

($21,4 \pm 1,4$ и $15,0 \pm 1,3$ %, соответственно) и наиболее высокую выживаемость животных ($100,0 \pm 0,0$ и $85,7 \pm 13,2$ %, соответственно) по сравнению с таковыми показателями у крыс, пролеченных монотерапией цисплатином, трипторелином, экземестаном или комбинацией гормональных средств.

Гормональные препараты не имели достоверно значимого токсического действия по сравнению с алкилирующим средством, а комбинация цисплатина и трипторелина, цисплатина и экземестана, достоверно не превышала токсического влияния одного цисплатина.

Трипторелин и экземестан повышают противоопухолевую активность цисплатина в яичниках крыс с перевиваемой опухолью, что предусматривает гормонозависимость и гормоночувствительность ЗОЯ.

АНАЛИЗ И ОБОБЩЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

На современном этапе развития онкологии стратегия лечения больных ЗОЯ включает хирургический компонент и цитотоксическую терапию. Несмотря на усовершенствование методик хирургического лечения и применение современных схем химиотерапии [40, 41, 85, 107, 150, 151, 197, 230], отдаленные результаты лечения больных с распространенными ЗОЯ остаются неудовлетворительными [116, 142–146, 229, 283, 399]. Основными причинами неэффективного лечения являются поздняя диагностика, агрессивное клиническое течение, развитие опухолевой резистентности к цитотоксикам, и, самое главное, отсутствие научно обоснованной концепции этиопатогенеза данного заболевания, знание которого разрешило бы проблему ранней диагностики и проведения наиболее эффективного патогенетического лечения [18, 26, 94, 96, 140, 161]. Кроме того, эффективность лечения больных ЗОЯ в значительной степени зависит от молекулярно-биологического профиля опухолей [36, 41, 83, 85, 102, 151, 293, 404].

Изучение вопросов молекулярной эндокринологии у больных ЗОЯ имеет ключевое значение, поскольку яичник среди органов женской половой системы занимает особое место – это орган, который продуцирует половые стероидные гормоны и является мишенью для действия гонадотропных, классических и неклассических стероидных гормонов, а также для гонадотропин-рилизинг гормона. Большинство клинических и экспериментальных исследований по РЯ во всем мире посвящены изучению молекулярно-клеточных механизмов малигнизации, геномного и протеомного профиля опухолей, поскольку в основе онкогенной трансформации лежат моле-

кулярно-генетические изменения. Кроме того, согласно данным многих исследований, развитие как доброкачественных, так и ЗОЯ связано с нейрогормональными нарушениями в системе гипоталамус-гипофиз-яичники, поэтому определенную роль в патогенезе ЗОЯ отводят гормональным факторам, которые представляют собой только часть сложного механизма эндокринно-обменных и молекулярно-генетических нарушений. Тем не менее, регуляторные гормональные механизмы и особенности гормонального патогенеза, а также вопросы гормонозависимости и гормоночувствительности ЗОЯ остаются недостаточно изученными. Поэтому и применение гормональной терапии у данной категории больных в течение многих лет остается дискуссионным, поскольку она назначалась эмпирически больным с прогрессирующим и химиорезистентным РЯ как «терапия отчаяния» и имела низкий показатель эффективности [41, 290, 299, 384].

На сегодня известно, что половые стероидные гормоны, также как и рецепторы к ним являются промоторами многих гормонозависимых опухолей, в частности РГЖ и эндометрия [12, 20, 140, 376]. Кроме того, доказано, что клетки ЗОЯ, имея выраженную гетерогенность молекулярно-биологического профиля, экспрессируют все рецепторы половых стероидных гормонов. Однако клиническая, прогностическая и терапевтическая значимость гормонального рецепторного статуса опухолевых клеток, и его корреляция с клинико-морфологическими показателями ЗОЯ остаются не определенными [70, 247, 274, 343, 376, 404]. Более того, не получено полного представления о механизмах реализации гормонально-рецепторного сигнала в клетках яичника

при воздействии различных половых гормонов, запускающих процессы трансформации, пролиферации, инвазии и метастазирования. Перспективность исследований в этом направлении, их важность и необходимость внедрения полученных результатов в клиническую практику доказана на примере адъювантного гормонального лечения больных РГЖ в зависимости от гормонального рецепторного статуса опухолей.

Поэтому для уточнения патогенеза ЗОЯ и обоснования показаний к применению гормональной терапии в комплексном лечении этой категории больных, актуальным явилось изучение ГРС клеток ЗОЯ, оценки его клинического и прогностического значения, определение связи с экспрессией HER-2/neu и VEGF в опухолевых клетках, и корреляции с клинико-морфологическими показателями ЗОЯ. Кроме того, насущным было сравнить ГРС опухолевых клеток яичника и яичника больных, оперированных по поводу гормонозависимой доброкачественной патологии гениталий, а также изучение гормонального гомеостаза и наличия сопутствующих гормонозависимых заболеваний матки у больных ЗОЯ. И, наиболее актуальным, оказалось проведение экспериментальной апробации *in vivo* гормональных препаратов в монотерапии и в комбинации с цитотоксическим средством на модели злокачественной асцитной эстроген- и прогестерон-рецепторположительной опухоли яичника.

Следовательно, цель нашего комплексного клинико-экспериментального исследования заключалась в патогенетическом обосновании целесообразности применения гормональной терапии в комплексном лечении больных ЗОЯ.

Научная работа базировалась на результатах клинического ретроспективного, проспективного и экспериментального исследования *in vivo*.

Материалом ретроспективного исследования служили результаты анализа историй болезни 303 больных ЗОЯ разного гистогенеза, I–IV стадии, при котором выявлены сопутствующие ГПЭ. Проведено иммуногистохимическое исследование блоков операционного материала 284 больных ЗОЯ для изучения ГРС опухолей разного морфологического генеза и определения гормонально-рецепторного фенотипа серозного РЯ. Иммуногистохимическое исследование экспрессии HER-2/neu и VEGF в опухолевых клетках яичника выполнено на блоках операционного материала 104 больных серозным РЯ III стадии.

В проспективном исследовании приняла участие 41 больная с рецидивом серозного РЯ (основная группа) и 35 пациенток с хирургической менопаузой, оперированных по поводу доброкачественной патологии матки (контрольная группа). Исследован и сопоставлен ГРС, экспрессия HER-2/neu и VEGF в клетках серозного РЯ и яичниках пациенток контрольной группы.

В экспериментальном исследовании *in vivo* были использованы 72 половозрелые крысы самки линии Wistar, которым была произведена внутрибрюшинная переривка злокачественной асцитной эстроген- и прогестерон-рецепторположительной опухоли яичника. Животные получили гормональные препараты трипторелин и экзестан в монотерапии и в комбинации с цисплатином.

Анализируя результаты морфологического исследования операционного материала 303 больных ЗОЯ разного гистогенеза, I–IV стадии, выявлены сопутствующие гиперпластические процессы эндометрия у 58,7 % пациенток, в том числе у 85,4 % больных РЯ и у 74,1 % женщин с опухолью стромы полового тяжа. Комплексная неатипическая гиперплазия эндометрия, которая является отражением

хронических дисгормональных нарушений, диагностирована у 65,0 % больных ЗОЯ, у 69,2 % женщин с серозным РЯ и 66,7 % пациенток с опухолью стромы полового тяжа. КНАГЭ наблюдалась во всех возрастных периодах больных ЗОЯ, в том числе и больных РЯ, с одинаковой частотой в репродуктивном, перименопаузальном и постменопаузальном возрасте (33,0 %, 36,0 и 31,0 %, соответственно). Полученные результаты подтверждают наличие общих факторов риска и механизмов гормонального патогенеза опухолевых процессов яичника и ГПЭ, независимо от возрастного периода женщин, более того ГПЭ могут быть предиктивным фактором риска развития ЗОЯ, что аргументирует гормонообусловленность и потенциальную гормонозависимость злокачественных опухолей яичника.

У больных РЯ с КНАГЭ отмечены достоверно более высокие показатели 5-летней общей и безрецидивной выживаемости в перименопаузальном ($39,0 \pm 3,7$ и $30,0 \pm 4,6$ %, соответственно, $p < 0,05$) и постменопаузальном возрасте ($50,0 \pm 4,2$ и $50,0 \pm 3,5$ %, соответственно, $p < 0,05$) по сравнению с пациентками соответствующих возрастных периодов без гиперпластических изменений слизистой матки (перименопауза – $18,5 \pm 3,2$ и $15,8 \pm 2,9$ %; постменопауза – $30,5 \pm 3,6$ и $27,0 \pm 3,2$ %, соответственно, $p < 0,05$). Поэтому сопутствующая КНАГЭ имеет клиническое значение у больных РЯ преимущественно перименопаузального и постменопаузального возраста и может рассматриваться как предиктивный фактор более благоприятного течения опухолевого процесса.

Анализ исследования РСГ в клетках злокачественных опухолей яичника (серозный, муцинозный РЯ и ОСПТ) показал, что положительный ГРС выявлен в серозном (РЭ – 66,4 %, РП – 63,4 %, РТ –

53,0 %), муцинозном РЯ и в ОСПТ с высокой частотой экспрессии всех половых стероидных рецепторов. Однако наибольший процент рецепторположительных опухолей отмечен у больных с муцинозным РЯ (РЭ – 88,0 %, РП – 84,0 %, РТ – 60,0 %), который характеризуется неблагоприятным клиническим течением опухолевого процесса, и у пациенток с ОСПТ (РЭ – 74,1 %, РП и РТ – 77,8 %), обладающих, как известно, высокой гормональной активностью [19, 20, 141, 229]. Это подтверждается установленной корреляционной связью между морфологическим строением опухолей и экспрессией всех стероидных рецепторов (РЭ – $r = 0,364$, РП – $r = 0,408$, РТ – $r = 0,289$, $p < 0,05$), а также достоверными различиями между частотой экспрессии РЭ и РП в опухолевых клетках различного гистогенеза ($p < 0,05$).

Определена прямая корреляция между экспрессией РЭ, РП в клетках опухоли и отсутствие таковой между экспрессией РТ и возрастным периодом больных ЗОЯ разной гистологической структуры ($r = 0,3$ для РЭ и РП, $p < 0,05$). Установлена слабая связь между частотой экспрессии РЭ и РП в опухолях яичника разного генеза и стадией заболевания (РЭ – $r = -0,3$, РП – $r = -0,2$, $p < 0,05$), и отсутствие таковой между экспрессией РТ и последней ($r = -0,05$, $p > 0,05$). Показано отсутствие влияния неoadъювантной химиотерапии на частоту экспрессии всех РСГ в клетках ЗОЯ разного гистогенеза, а также не установлена корреляция между частотой экспрессии РСГ и степенью дифференциации опухолей яичника различного морфологического типа: для РЭ – $r = -0,066$, $p = 0,382$, РП – $r = 0,02$, $p = 0,789$ и РТ – $r = 0,054$, $p = 0,444$.

Анализ степени интенсивности окрашивания опухолевых клеток яичника разного гистогенеза по РСГ, показал вариабельность экспрессии всех рецепторов, с преобладанием умеренной степени экс-

прессии РЭ, РП и РТ в серозном, муцинозном РЯ и ОСПТ: для РЭ – 54,7 %, 52,0 и 66,7 % больных, соответственно; РП – 46,1 %, 76,0 и 48,1 %, соответственно; РТ – 47,0 %, 52,0 и 40,7 %, соответственно. Однако среди опухолевых клеток с высокой степенью позитивного окрашивания и гиперэкспрессией РЭ, наибольшее количество регистрировали клетки муцинозного РЯ (28,0 и 8,0 % случаев, соответственно), а высокую степень и гиперэкспрессию РП и РТ – в клетках ОСПТ (РП – 18,5 и 11,1 %, РТ – 22,2 и 14,8 % случаев, соответственно).

Представленные результаты показали, что яичник со злокачественной опухолью разного гистогенеза может быть тканью мишенью для системно-локальных классических и неклассических половых стероидов независимо от степени дифференциации опухолевой ткани.

Кроме того, результаты нашего исследования продемонстрировали корреляцию экспрессии РЭ, РП и РТ в клетках ЗОЯ (между РЭ и РП: $r=0,928$, $p<0,0001$; РЭ и РТ: $r=0,398$, $p<0,001$; РП и РТ: $r=0,354$, $p<0,001$), особенно значимую между РЭ и РП, что согласуется с данными некоторых ранее проведенных исследований [185, 201, 267, 306]. Известно, что половые стероидные гормоны способны регулировать уровень не только собственных рецепторов, но и модулировать экспрессию рецепторов других гормонов. Так, эстрадиол стимулирует экспрессию РП, тогда как последние снижают экспрессию РЭ в репродуктивных органах. Более того, эстрадиол способен повысить уровень яичниковых андрогенных рецепторов в несколько раз [73, 126, 130, 252, 402].

Анализируя экспрессию РСГ в серозном РЯ в зависимости от возраста больных, мы отметили, что чаще эстроген-, прогестерон-, тестостерон-рецепторположительные опухоли наблюдались в позднем

постменопаузальном периоде – 79,7 %, 79,7 и 59,3 %, соответственно. При этом установлена достоверная ранговая корреляционная связь между частотой экспрессии РЭ, РП и возрастом больных ($r=-0,253$, $p<0,001$ и $r=-0,173$, $p=0,021$, соответственно). Для РТ коэффициент корреляции составил $-0,076$ ($p=0,297$), что свидетельствует об отсутствии связи экспрессии данного маркера с возрастом пациенток. Согласно собственным наблюдениям и данным литературы, постменопаузальный период характеризуется агрессивным клиническим течением и неблагоприятным прогнозом заболевания [19, 141, 229, 378, 398].

Кроме этого, нами отмечено отсутствие ранговой корреляционной связи между экспрессией всех РСГ и степенью дифференциации опухолей (РЭ – $r=-0,118$, $p=0,147$; РП – $r=-0,06$, $p=0,457$; РТ – $r=0,045$, $p=0,563$), а также наличием или отсутствием КНАГЭ у больных серозным РЯ (РЭ – $r=0,024$, $p=0,807$; РП – $r=-0,164$, $p=0,08$; РТ – $r=-0,161$, $p=0,08$). Однако установлено, что проведение неоадьювантной химиотерапии оказывает влияние только на экспрессию РП ($r=-0,316$, $p=0,005$), но при этом не влияет на уровень экспрессии РЭ и РТ ($r=-0,154$, $p=0,106$ и $r=0,041$, $p=0,653$, соответственно). В серозном РЯ также, как и при всех ЗОЯ, мы определили значимую корреляцию между экспрессией РЭ и РП ($r=0,913$, $p<0,0001$), РЭ и РТ ($r=0,362$, $p<0,0001$), РП и РТ ($r=0,374$, $p<0,0001$). Более того, наблюдалась корреляционная связь между экспрессией РЭ, РП и стадией заболевания (РЭ – $r=-0,42$, $p=0,0005$, РП – $r=-0,31$, $p=0,006$), и отсутствовала корреляция последней с экспрессией РТ ($r=0,176$, $p=0,09$), при этом установлена прямая корреляционная связь между экспрессией РЭ ($r=0,212$, $p=0,019$), РТ и рецидивом серозного РЯ ($r=0,2$, $p=0,04$).

Интерес представил факт, что наибольшее количество пациенток с фенотипом серозного РЯ **РЭ+РП+РТ+** наблюдалось в постменопаузальном периоде, особенно в поздней постменопаузе (52,4 и 39,0 %, соответственно, $p < 0,05$). Самый низкий процент больных с указанным фенотипом опухоли отмечен в репродуктивном возрасте – 20,7 %. При этом установлена прямая корреляция между гормонально-рецепторным фенотипом серозного РЯ и возрастным периодом женщин ($r=0,5$, $p=0,002$). Таким образом, наибольшее количество больных серозным РЯ с положительным ГРС, как по экспрессии всех РСТ, так и по гормонально-рецепторному фенотипу опухолей, наблюдалось в позднем постменопаузальном периоде, что свидетельствует о высокой чувствительности опухолевых клеток яичника, как к эндогенным половым стероидам, так и к гормональной терапии у пациенток этой возрастной категории [6, 10, 12, 13, 48, 49, 73, 404]. Такая аналогия по ГРС опухолей прослеживается и у больных РГЖ постменопаузального периода, однако, при люминальном А типе опухоли у больных РГЖ предполагается благоприятный прогноз заболевания [107, 162–164, 171, 173, 250, 324, 337].

Однофакторный анализ показал, что 3-летняя общая и безрецидивная выживаемость выше у пациенток с рецепторотрицательной опухолью по РЭ (63,4±5,7 и 34,8±2,7 %, соответственно), РП (60,0±5,5 и 32,0±2,5 %, соответственно), РТ (62,2±4,8 и 35,7±2,8 %, соответственно), чем с рецепторположительной (РЭ: 48,2±4,2 и 26,9±2,3 %, РП: 49,7±4,3 и 27,8±2,2 %, РТ: 45,7±4,7 и 27,7±7 %, соответственно). Однако достоверные различия показателей выживаемости отмечены только при наличии или отсутствии экспрессии РТ в опухолевых клетках яичника ($p=0,04$).

При этом, как упоминалось выше, установлена прямая корреляция между экспрессией РЭ ($r=0,2$; $p=0,02$), РТ ($r=0,2$; $p=0,04$) и рецидивом серозного РЯ.

Мультифакторным анализом определена достоверно низкая 5-летняя общая выживаемость больных с позитивным ГРС серозного РЯ (29,5±3,4 %), чем у пациенток с негативным гормонально-рецепторным фенотипом опухолей (44,5±3,7 %). Наиболее высокие показатели общей выживаемости наблюдались у больных не только с фенотипом опухолей **РЭ–РП–РТ–**, но и с фенотипом **РЭ+РП+РТ–** (49,2±5,7 %). Безрецидивная выживаемость также была наиболее высокой у пациенток с фенотипом серозного РЯ **РЭ+РП+РТ–** (43,3±5,6 %), чем у больных с фенотипом опухолей **РЕ+РП+РТ+** (25,5±3,5 %), что свидетельствует об агрессивном клиническом течении заболевания у больных при наличии экспрессии РТ в серозном РЯ. Более того, оценивая прогностическое значение ГРС серозного РЯ Кокс-регрессионным однофакторным методом, отмечено, что экспрессия РТ в опухоли яичника повышает риск рецидива заболевания (HR 1,3; 95,0 % CI 0,9–1,7) и является независимым фактором неблагоприятного клинического течения серозного РЯ (HR 1,3; 95,0 % CI 1,1–1,9).

Многофакторным анализом Кокс-регрессионной модели установлено, что позитивный гормонально-рецепторный фенотип серозного РЯ повышает риск развития рецидива заболевания (HR 1,4; 95,0 % CI 1,1–1,7), достоверно ухудшает показатели выживаемости больных (HR 1,4; 95,0 % CI 1,1–1,8) и является фактором неблагоприятного клинического течения опухолевого процесса.

Таким образом, представленные результаты продемонстрировали, что эндокринные факторы, гормонально-рецепторные изменения, как в яичниках, так и в других

органах и тканях, где происходит внегонадная ароматизация андрогенов, могут являться весомым элементом не только патогенеза, но и важным прогностическим критерием у больных серозным РЯ постменопаузального периода, и представлять неотъемлемую часть общего механизма сложных эндокринно-обменных и молекулярно-генетических взаимодействий.

При изучении экспрессии рецептора эпидермального фактора роста (тип 2) в клетках РЯ, выявлена высокая частота экспрессии HER-2/neu у больных серозным РЯ. Позитивная экспрессия HER-2/neu в опухолях яичника наблюдалась у 61,6 % пациенток, из них 46,2 % – имели высокую степень и гиперэкспрессию этого маркера. Данными исследования установлена ранговая корреляционная связь между экспрессией HER-2/neu в серозном РЯ и риском рецидива заболевания ($r=0,462$, $p=0,38$), при этом отмечено отсутствие связи со степенью дифференциации опухолей ($r=-0,015$, $p=0,88$), возрастным периодом больных ($r=-0,018$, $p=0,84$), экспрессией всех РСГ (РЭ: $r=-0,154$, $p=0,175$; РП: $r=0,186$, $p=0,11$; РТ: $r=0,115$, $p=0,305$) и гормонально-рецепторным фенотипом серозного РЯ ($r=-0,101$, $p=0,26$).

Однофакторный и многофакторный анализ показал достоверно низкую 5-летнюю общую ($14,7 \pm 5,0$ %, $p=0,01$) и безрецидивную выживаемость ($11,5 \pm 4,6$ %, $p=0,007$) больных с HER-2/neu-позитивной опухолью, чем у пациенток с HER-2/neu-негативной ($50,7 \pm 10,4$ и $47,5 \pm 10,7$ %, соответственно), независимо от ГПС серозного РЯ. Более того, установлено прогностическое значение экспрессии HER-2/neu в клетках РЯ как неблагоприятного фактора течения опухолевого процесса (HR 1,8; 95 % CI 1,1–2,4). Однако прогностическое значение имела и опухолевая экспрессия РТ для больных с HER-2/neu-негативным РЯ, что также свидетельствует о неблаго-

приятном течении заболевания у пациенток с выраженной экспрессией РТ независимо от HER-2/neu-статуса опухолей (HR 2,3; 95 % CI 2,0–3,4).

Таким образом, HER-2/neu-статус серозного РЯ можно рассматривать не только как прогностический фактор, но и как критерий для решения вопроса применения таргетной терапии в комплексном лечении больных, что требует проведения дальнейших исследований в этом направлении.

При изучении экспрессии фактора роста эндотелия сосудов в опухолевых клетках нами отмечено, что позитивная экспрессия VEGF наблюдалась только у 44,2 % больных серозным РЯ, из них 32,7 % – имели гиперэкспрессию этого маркера. Данными исследования установлена ранговая корреляционная связь между экспрессией VEGF в серозном РЯ и риском развития рецидива заболевания ($r=0,524$, $p<0,001$). При этом мы показали отсутствие связи экспрессии VEGF со степенью дифференциации опухолей ($r=-0,109$, $p=0,28$), возрастным периодом больных ($r=-0,061$, $p=0,54$), экспрессией всех РСГ (РЭ: $r=-0,192$, $p=0,09$; РП: $r=-0,029$, $p=0,8$; РТ: $r=0,054$, $p=0,68$) и гормонально-рецепторным фенотипом серозного РЯ ($r=0,13$, $p=0,92$).

Однофакторным и многофакторным анализом определена достоверно низкая 5-летняя общая ($10,9 \pm 6,0$ %) и безрецидивная выживаемость ($4,8 \pm 3,8$ %) пациенток с VEGF-позитивной опухолью, чем у больных с VEGF-негативной ($42,7 \pm 11,9$ и $42,2 \pm 11,7$ %, соответственно, $p=0,03$), независимо от ГПС серозного РЯ. Более того, установлено прогностическое значение степени экспрессии VEGF в клетках РЯ как неблагоприятного фактора течения опухолевого процесса (VEGF+++ vs. VEGF–: HR 1,6; 95 % CI 1,1–2,3; VEGF+++ vs. VEGF++: HR 1,3; 95 % CI 1,1–2,0).

Однако многофакторный Кокс-регрессионный анализ показал досто-

верно значимое негативное влияние экспрессии РЭ (HR 2,1; 95 % CI 1,4–3,2; $p=0,003$ и HR 1,7; 95 % CI 1,2–2,1; $p=0,006$, соответственно) и РП (HR 2,1; 95 % CI 1,1–3,0; $p=0,002$ и HR 1,7; 95 % CI 1,2–2,0; $p=0,002$) в VEGF-позитивной опухоли на общую и безрецидивную выживаемость больных серозным РЯ. При этом опухолевая экспрессия РТ имела неблагоприятное прогностическое значение на выживаемость пациенток с VEGF-негативной опухолью (HR 1,5; 95 % CI 1,1–2,0; $p=0,04$), не показав прогностическую достоверную значимость на выживаемость больных с VEGF-позитивным статусом РЯ (HR 1,4; 95 % CI 0,9–1,7; $p=0,08$). Этот факт еще раз подтверждает результаты наших ранее проведенных исследований, что экспрессия РТ является фактором неблагоприятного течения опухолевого процесса. Такие разноречивые результаты многофакторных анализов выживаемости и Кокс-регрессионной модели, возможно, связаны с небольшой выборкой больных серозным РЯ III стадии ($n=104$), особенно при распределении их по гормонально-рецепторному фенотипу опухолей.

Таким образом, учитывая результаты нашего и предыдущих других исследований, следует отметить непосредственную связь гормональных факторов с экспрессией VEGF и его рецепторов, модулирующих процессы пролиферации и апоптоза в опухолевых клетках РЯ. Это указывает на целесообразность применения в комплексном лечении больных РЯ не только ингибиторов ангиогенеза, но и гормональных препаратов, влияющих как на процессы пролиферации, так и на неоангиогенез.

Для оценки степени достоверности показателей выживаемости больных серозным РЯ в зависимости от возраста, гормонального рецепторного статуса опухолей, экспрессии HER-2/neu и VEGF в опу-

холевых клетках яичника, мы построили экспоненциальную регрессионную модель общей и безрецидивной выживаемости больных. Представленные данные экспоненциальной регрессионной модели свидетельствуют о достоверно значимом влиянии на общую и безрецидивную выживаемость больных серозным РЯ изученных нами показателей, которые следует расценивать как независимые прогностические факторы неблагоприятного течения опухолевого процесса.

Независимыми прогностическими факторами неблагоприятного клинического течения серозного рака яичника являются:

- **Постменопаузальный возраст больных.**
- **Положительный гормональный рецепторный статус опухолей, в частности экспрессия всех рецепторов стероидных гормонов, особенно РЭ и РТ, и позитивный гормонально-рецепторный фенотип серозного РЯ (РЭ+РП+РТ+).**
- **Экспрессия HER-2/neu в опухолевых клетках яичника.**
- **Высокая степень экспрессии VEGF в клетках серозного РЯ.**

Данные показатели необходимо использовать не только как факторы неблагоприятного прогноза, но и как критерии назначения гормональной и таргетной терапии в адъювантном режиме комплексного лечения больных серозным РЯ.

Изучая и сопоставляя молекулярно-биологический профиль серозного РЯ и яичников пациенток, оперированных по поводу доброкачественной гормонозависимой патологии матки, отмечена высокая частота экспрессии РЭГ, HER-2/neu и VEGF в клетках серозного РЯ (РЭ – 65,9 %, РП – 63,4 %, РТ – 56,1 %, HER-2/neu – 65,9 и VEGF – 48,8 %). У пациенток контрольной группы экспрессия

PCG, HER-2/neu и VEGF наблюдалась только в клетках фолликулярных кист и кист желтого тела яичника, при этом частота экспрессии этих маркеров была также высокой (фолликулярные кисты: РЭ – 75,0 %, РП – 50,0 %, РТ – 25,0 %, HER-2/neu – 75,0 и VEGF – 50,0 %; кисты желтого тела: РЭ – 61,5 %, РП – 76,9 %, РТ – 61,5 %, HER-2/neu – 92,3 и VEGF – 69,2 %). Однако степень экспрессии указанных маркеров (кроме VEGF) была достоверно выше в серозном РЯ (РЭ – $33,7 \pm 4,9$ %, РП – $29,5 \pm 4,8$ %, РТ – $23,7 \pm 4,1$ и HER-2/neu – $38,5 \pm 5,6$ % против $10,0 \pm 3,3$ %, $12,6 \pm 4,1$ %, $10,0 \pm 3,8$ и $18,6 \pm 4,6$ %, соответственно, $p < 0,05$). По результатам ранее проведенных исследований нами установлено, что позитивный ГРС опухолей у больных серозным РЯ является фактором неблагоприятного течения опухолевого процесса. Это позволяет заключить, что степень экспрессии PCG имеет определенное значение в клиническом течении РЯ. Более того, у больных с рецидивом серозного РЯ и пациенток контрольной группы с одинаковой частотой диагностирована КНАГЭ (58,6 и 51,5 %, соответственно), что свидетельствует о наличии общих факторов риска, механизмов гормонального патогенеза РЯ и гормонозависимых доброкачественных заболеваний матки и яичника, а также аргументирует гормонообусловленность и гормонозависимость РЯ.

Наибольшее количество эстроген-, прогестерон- и тестостерон-рецепторпозитивных опухолей с достоверной значимостью отмечено у больных с рецидивом РЯ перименопаузального периода (РЭ – 63,0 %, РП – 61,5 %, РТ – 65,2 %), тогда как наименьшая частота рецепторпозитивного серозного РЯ наблюдалась у пациенток репродуктивного возраста (РЭ – 14,8 %, РП – 11,6 %, РТ – 13,1 %), при этом количество больных проспективного исследования перименопаузального периода (56,1 %)

преобладали среди пациенток репродуктивного (19,5 %) и постменопаузального возраста (24,4 %). Более того, подтверждено наличие ранговой корреляционной связи между экспрессией всех половых стероидных рецепторов (РЭ и РП: $r=0,823$, $p=0,001$; РЭ и РТ: $r=0,426$, $p=0,003$; РП и РТ: $r=0,397$, $p=0,002$), а также между экспрессией РЭ, РП и возрастным периодом больных с рецидивом РЯ (РЭ: $r=0,354$, $p=0,001$ и РП: $r=0,342$, $p=0,031$), что было установлено нами ранее в ретроспективном исследовании. Показано отсутствие корреляции между экспрессией HER-2/neu, VEGF и возрастом больных основной группы (HER-2/neu: $r=-0,014$, $p=0,85$, VEGF: $r=-0,036$, $p=0,727$), при этом выявлена значимая корреляция экспрессии HER-2/neu с экспрессией VEGF в клетках серозного РЯ ($r=0,925$, $p=0,001$), что также было установлено результатами ранее проведенных нами исследований. Представленные данные еще раз подтверждают то, что экспрессия HER-2/neu и VEGF в серозном РЯ являются независимыми факторами агрессивного и неблагоприятного течения опухолевого процесса.

Самая высокая частота экспрессии PCG, HER-2/neu и VEGF в гранулезных, тека- и лютеиновых клетках функциональных кист яичника зарегистрирована у пациенток репродуктивного периода (РЭ – 100 %, РП – 91,7 %, РТ – 88,9 %, HER-2/neu – 86,7 и VEGF – 90,9 %). При этом установлены достоверно значимые корреляции между экспрессией всех PCG в клетках функциональных кист яичника (РЭ и РП: $r=0,871$, $p=0,001$; РЭ и РТ: $r=-0,726$, $p=0,001$; РП и РТ: $r=-0,645$, $p=0,002$); между экспрессией всех стероидных рецепторов и возрастным периодом женщин (РЭ: $r=-0,658$, $p=0,001$; РП: $r=-0,497$, $p=0,032$; РТ: $r=0,526$, $p=0,017$); экспрессией РЭ, РП и РТ с экспрессией HER-2/neu (РЭ: $r=0,625$, $p=0,002$; РП: $r=-0,425$, $p=0,03$;

РТ: $r=0,523$, $p=0,012$), и РЭ, РП с экспрессией VEGF (РЭ: $r=0,554$, $p=0,005$; РП: $r=0,627$, $p=0,002$). Кроме того, отмечена прямая корреляционная связь между экспрессией HER-2/neu и VEGF ($r=0,658$, $p=0,001$). Эти данные подтверждают непосредственное участие экспрессии всех половых стероидных рецепторов, HER-2/neu и VEGF в гранулезных, тека- и лютеиновых клетках в регуляции овариально-менструального цикла женщин [27, 86, 130, 414].

Установлено отсутствие достоверных различий гормонального гомеостаза у больных с рецидивом РЯ и пациенток контрольной группы ($p>0,05$), показатели которого соответствовали референтным значениям уровней половых гормонов постменопаузального периода. Это доказывает тот факт, что оценка уровней гормонов в сыворотке крови женщин постменопаузального возраста не дает полной информации о возможных вариантах развития патологических процессов, так как для реализации гормонального эффекта необходимо наличие достаточного уровня половых стероидных рецепторов в клетках тканей-мишеней. Более того, эстрогенизация у женщин постменопаузального периода определяется большей частью не уровнем половых гормонов в сыворотке крови, а локальной концентрацией их в тканях [12, 13, 15, 73, 252].

Таким образом, представленные результаты свидетельствуют о наличии общих факторов риска, единого патогенетического механизма развития РЯ и гормонозависимых доброкачественных заболеваний матки и яичника, что аргументирует гормонообусловленность и гормонозависимость РЯ.

Результатами экспериментального исследования *in vivo* показано, что модель перевиваемой асцитной ОЯ, с позитивным гормональным рецепторным стату-

сом (степень экспрессии РЭ и РП – 60 %) и гиперэкспрессией VEGF ($77,8\pm2,8$ %), имела агрессивное клиническое течение, что подтвердилось гистологическим и иммуногистохимическим исследованиями опухолевых тканей крыс с перевиваемой ОЯ, а также показателями выживаемости животных. Полученные результаты продемонстрировали эффективность цитотоксического средства и гормональных препаратов в монотерапии и при различных их комбинациях. Мы определили, что не только цитотоксик цисплатин, но и гормональные препараты трипторелин и экзестан в монотерапии вызывали лечебный патоморфоз в ОЯ, что позволяет судить об антипролиферативной и апоптогической активности гормональных средств [289, 319, 324, 386, 406]. Однако степень лечебного патоморфоза в ОЯ при воздействии цисплатином была достоверно более высокой (ОДЖОТ – $11,7\pm0,2$ %, $p=0,01$), чем при монотерапии трипторелином или экзестаном (ОДЖОТ – $30,3\pm0,4$ и $31,4\pm0,3$ %, соответственно). При этом гормональные препараты проявили достоверно большую антиангиогенную активность в клетках ОЯ (трипторелин – VEGF – $39,4\pm1,9$ % и экзестан – VEGF – $33,9\pm1,4$ %) по сравнению с таковой при монотерапии цитотоксиком (VEGF – $58,3\pm2,6$ %). Выживаемость крыс, пролеченных монотерапией трипторелином ($37,1\pm16,3$ %) или экзестаном ($30,9\pm13,9$ %), была выше, чем у контрольных ($17,6\pm13,8$ %) и ниже, чем у животных, пролеченных цисплатином ($54,8\pm14,8$ %), однако статистическую достоверность имели различия между показателями контрольных животных и крыс, пролеченных цитотоксическим средством ($p<0,05$).

Наиболее выраженная антиангиогенная активность в клетках ОЯ отмечена у животных, пролеченных комбинацией гормональных препаратов трипторели-

на и экземестана ($12,2 \pm 0,9$ %), при этом степень лечебного патоморфоза в опухоли (ОДЖОТ – $22,1 \pm 0,4$ %) и показатели выживаемости этих крыс ($32,2 \pm 14,0$ %) не имели достоверных различий по сравнению с таковыми показателями у животных, пролеченных монотерапией трипторелином (VEGF – $39,4 \pm 1,9$ %, ОДЖОТ – $30,3 \pm 0,4$ %, выживаемость – $37,1 \pm 16,3$ %) или экземестаном ($33,9 \pm 1,4$ %, $31,4 \pm 0,3$ %, $30,9 \pm 13,9$ %, соответственно). Поэтому комбинация этих гормональных средств не показала преимуществ перед их применением в монотерапии.

Представленные результаты подтверждаются отсутствием корреляционной связи между экспрессией VEGF в клетках ОЯ и выживаемостью животных ($r = -0,194$, $p = 0,11$). При этом установлена значимая корреляция между экспрессией ангиогенного фактора (VEGF) и лечебным патоморфозом (ОДЖОТ) в ОЯ ($r = 0,712$, $p = 0,0001$), а также между ОДЖОТ и продолжительностью жизни крыс ($r = -0,320$, $p = 0,007$).

Комбинированное применение цитотоксика с трипторелином или экземестаном продемонстрировало достоверно высокие степени лечебного патоморфоза (ОДЖОТ – $10,1 \pm 0,1$ и $16,2 \pm 0,3$ %, соответственно) и антиангиогенной активности в клетках ОЯ (VEGF – $21,4 \pm 1,4$ и $15,0 \pm 1,3$ %, соответственно), а также наиболее высокую выживаемость животных (группа ЦП+Т – $100,0 \pm 0,0$ % и группа ЦП+Э – $85,7 \pm 13,2$ %) по сравнению с показателями выживаемости крыс, пролеченных монотерапией цисплатином ($54,8 \pm 14,8$ %), трипторелином ($37,1 \pm 16,3$ %), экземестаном ($30,9 \pm 13,9$ %) или комбинацией гормональных средств ($32,2 \pm 14,0$ %).

Мы отметили, что гормональные препараты не имели достоверно значимого токсического действия по сравнению с алкилирующим средством, а комбинированное использование цисплатина и трипторелина

релина (\downarrow m селезенки – $28,5$ %), цисплатина и экземестана ($29,3$ %), достоверно не превышала токсического влияния одного цисплатина ($26,4$ %).

У животных, получивших комбинацию 3-х препаратов, наблюдалась достоверно наиболее высокая антиангиогенная активность (VEGF – $9,4 \pm 1,8$ %) и высокая степень лечебного патоморфоза (ОДЖОТ – $10,1 \pm 0,3$ %), идентичная таковой у крыс, пролеченных цисплатином с трипторелином (ОДЖОТ – $10,1 \pm 0,1$ %), однако животные погибли от острой токсической печеночно-почечной недостаточности. Эти данные свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований в изучении механизмов потенцирования взаимного токсического действия комбинированного использования цисплатина, трипторелина и экземестана в зависимости от переносимых и терапевтических доз.

Самым важным результатом исследования явилось то, что среди животных, пролеченных комбинацией цитотоксика с трипторелином или экземестаном, были трое излечены (ЦП+Т – $22,2$ %, ЦП+Э – $11,1$ %).

Таким образом, трипторелин и экземестан повышают противоопухолевую активность цисплатина в отношении переживаемой злокачественной асцитной опухоли яичника и достоверно значимо выживаемость животных, особенно при комбинированном использовании цисплатина и трипторелина.

Подводя итог, следует отметить, что на основании комплексного клинико-экспериментального исследования мы показали гормонообусловленность, гормонозависимость и гормоночувствительность злокачественных опухолей яичника, продемонстрировав принципы применения гормональной терапии с цитотоксическим средством в лечении ЗОЯ, путем изучения гормонального рецепторного

статуса опухолевых клеток как предиктивного и прогностического фактора течения опухолевого процесса. Поэтому гормональный рецепторный статус злокачественных опухолей яичника является критерием для назначения гормональной терапии и обоснованным аргументом для разработки методов применения ее в комплексном лечении больных. Полученные нами результаты диктуют необходимость и перспективность продолжения экспериментальных исследований *in vitro* и *in vivo* с целью изучения механизмов реализации гормонально-рецепторных сигналов в клетках РЯ при воздействии различных половых гормонов, а также механизмов потенцирования противоопухолевого эффекта цитотоксика гормональными препаратами. Это вероятно откроет новые возможности проведения клинической апробации с разработкой принципов и методов применения гормональной терапии в качестве компонента I линии комплексного лечения больных ЗОЯ.

С позиции практической медицины мы выделили рекомендации, которые следует использовать в практической работе врача онкологической службы:

- Гиперпластические процессы эндометрия у женщин разного возрастного

периода следует расценивать предиктивным фактором риска злокачественных опухолей яичника.

- Сопутствующая комплексная неатипическая гиперплазия эндометрия имеет клиническое значение у больных раком яичника перименопаузального и постменопаузального возраста и может рассматриваться как предиктивный фактор благоприятного течения опухолевого процесса.
- Иммуногистохимическое исследование экспрессии молекулярно-биологических маркеров РЭ, РП, РТ, HER-2/neu и VEGF в опухолевых клетках яичника необходимо проводить для определения индивидуального биологического профиля опухолей, что имеет значение для оценки степени агрессивности опухолевого процесса и прогноза заболевания.
- Применение предлагаемого иммуногистохимического исследования экспрессии рецепторов половых стероидных гормонов, HER-2/neu и VEGF в опухолевых клетках обеспечит возможность планирования индивидуальной тактики лечения и динамического наблюдения для больных злокачественными опухолями яичника.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алов И. А. Очерки физиологии митотического деления клетки / И. А. Алов. – М. : Медицина, 1964. – 302 с.
2. Антонеева И. И. Фенотип опухоли в динамике ее прогрессии при раке яичников в репродуктивном периоде и постменопаузе / И. И. Антонеева // Клинич. геронтология. – 2007. – Т. 13, № 10. – С. 7–11.
3. Антонеева И. И. Маркеры апоптоза и пролиферации опухолевых клеток в динамике прогрессирования рака яичника / И. И. Антонеева, С. Б. Петров // Онкология. – 2008. – Т. 10, № 2. – С. 22–28.
4. Антонова И. Б. Гинекологические и онкологические аспекты постменопаузы : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.01 / Антонова И. Б. – М., 2010. – 25 с.
5. Ануфрієв М. Г. Рак яєчників: сучасний стан проблеми / М. Г. Ануфрієв // Одеський медичний журнал. – 2003. – № 1. – С. 96–99.
6. Ашрафян Л. А. Опухоли репродуктивных органов (этиология и патогенез) [Электронный ресурс] / Л. А. Ашрафян, В. И. Киселев. – 2007. – Режим доступа: <http://www.hpvinfo.ru/cancer/Tumors-of-reproductive-bodies/glava-2.html> – Загл. с экрана.
7. Сопоставление рецепторного статуса ткани яичников и аденокарциномы эндометрия / В. В. Баринев, Н. Е. Кушлинский, В. В. Кузнецов [и др.] // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. – 2006. – Т. 17, № 1. – С. 15–18.
8. Бассалык Л. С. Рецепторы стероидных гормонов в опухоли человека / Л. С. Бассалык. – М. : Медицина, 1987. – 224 с.
9. Белоусов Ю. Б., Моисеев В. С., Лепахин В. К. Клиническая фармакология и фармакотерапия / Ю. Б. Белоусов, В. С. Моисеев, В. К. Лепахин. – М. : Универсум паблшинг, 1997. – 531 с.
10. Берштейн Л. М. Внегонадная продукция эстрогенов / Л. М. Берштейн. – СПб. : Наука, 1998. – 172 с.
11. Берштейн Л. М. Возраст, факторы внешней среды и гормональный канцерогенез / Л. М. Берштейн // Вопросы онкологии. – 2001. – Т. 47, № 2. – С. 148–154.
12. Берштейн Л. М. Онкоэндокринология: традиции, современность и перспективы / Л. М. Берштейн. – СПб. : Наука, 2004. – 343 с.
13. Генетический полиморфизм ферментов стероидогенеза и содержание рецепторов в опухолях репродуктивной системы / Л. М. Берштейн, Т. С. Зимарина, Е. В. Цылина [и др.] // Вопросы онкологии. – 2004. – Т. 50, № 2. – С. 169–173.
14. Берштейн Л. М. Гормональные и прогенотоксические аспекты BRCA1-ассоциированного канцерогенеза / Л. М. Берштейн // Вопросы онкологии. – 2007. – Т. 53, № 6. – С. 642–652.
15. Берштейн Л. М. Колчан и стрелы – проканцерогенная роль маммарного жира / Л. М. Берштейн // Природа. – 2010. – № 12. – С. 13–19.
16. Химиогормонотерапия в комбинированном лечении распространенного рака яичников / Г. В. Бондарь, Н. Ю. Лисовская, О. В. Кайряк [и др.] // Проблемы сучасної медичної науки та освіти. – 2009. – № 2. – С. 33–35.
17. Боровиков В. П. Искусство анализа данных на компьютере / В. П. Боровиков. – СПб. : Питер, 2003. – 129 с.
18. Новые подходы к лечению гинекологического рака / Я. В. Бохман, М. А. Лившиц, В. Л. Винокуров [и др.]. – СПб. : Гиппократ, 1993. – 224 с.
19. Бохман Я. В. Руководство по онкогинекологии / Я. В. Бохман. – СПб. : Фолиант, 2002. – 542 с.
20. Бохман Я. В. Лекции по онкогинекологии / Я. В. Бохман. – М. : МИА, 2007. – 304 с.
21. Експресія р53, VEGF та CD34 у пухлинній тканині та виживаність хворих на серозний рак яєчника / Л. Г. Бучинська, В. М. Грінкевич, Н. П. Юрченко, Л. І. Воробйова // Онкология. – 2009. – Т. 11, № 2. – С. 109–112.
22. Клонально-селекционная концепция опухолевого роста / Ю. Б. Вахтин, В. Г. Пинчук, И. Н. Швембергер [и др.]. – К. : Наукова думка, 1987. – 214 с.
23. Валуева И. М. Лечение экспериментальных опухолей яичника аналогом люлиберина сурфагоном / И. М. Валуева, О. И. Смирнова, И. С. Буренин // Вестн. Онкол. научного центра. – 1995. – № 3. – С. 24–27.
24. Вінник Ю. О. Вплив різних варіантів передопераційної хемотерапії на гормональний статус хворих на рак яєчників / Ю. О. Вінник, М. Ю. Неффа, Т. В. Скрицька // Український радіологічний журнал. – 2003. – № 1. – С. 53–57.
25. Винник Ю. А. Современные взгляды на лечение рака яичников / Ю. А. Винник, М. Ю. Неффа, О. В. Казмирук // Международный медицинский журнал. – 2004. – Т. 10, № 1. – С. 127–131.

26. Винокуров В. Л. Рак яичников: закономерности метастазирования и выбор адекватного лечения больных / В. Л. Винокуров. – СПб. : Фолиант, 2004. – 336 с.
27. Вихляева Е. М. Руководство по эндокринной гинекологии / Е. М. Вихляева. – М. : МИА, 2002. – 768 с.
28. Роль антигена Ki-67, мутированного гена-супрессора p53 и митотической активности опухоли в определении прогноза гранулезоклеточных опухолей яичников взрослого типа (ГКОВТ) / А. В. Волкова, О. Ф. Чепик, Е. В. Бахидзе [и др.] // Вопросы онкологии. – 2005. – Т. 51, № 4. – С. 455–459.
29. Експресія цитокінів ЧНП, ТФР-бета та глутатіону в зразках раку яєчників, клінічно чутливих або резистентних до дії цисплатину / Н. А. Володько, М. І. Ломницька, Ю. Б. Черних [та ін.] // Вісник наукових досліджень. – 2007. – № 3. – С. 81–85.
30. Застосування модуляторів активності цитокінів пухлинного мікрооточення тамоксифену, інтерферону-альфа 2 бета, німесулід у лікуванні рецидивного поліхеморезистентного раку яєчників / Н. А. Володько, М. І. Ломницька, Н. М. Левицька [та ін.] // Вісник наукових досліджень. – 2009. – № 4. – С. 90–93.
31. Волченко Н. Н. Возможности иммуноцитохимического исследования в предоперационной диагностике опухолей / Н. Н. Волченко, М. В. Савостикова // Российский онкологический журнал. – 2006. – № 5. – С. 22–27.
32. Воробьева Л. И. Современная тактика лечения злокачественных опухолей яичника / Л. И. Воробьева, В. С. Свиницкий // Архив онкологии. – 2003. – № 2. – С. 54–58.
33. Воробьева Л. И. Практическая онкогинекология / Л. И. Воробьева. – К., 2012. – 228 с.
34. Воробьева Л. И. Гормональный канцерогенез и обоснование применения гормональной терапии в лечении больных раком яичника / Л. И. Воробьева, В. С. Свиницкий, Ю. Г. Ткаля // Клин. онкология – 2013. – Т. 1, № 9. – С. 56–64.
35. Воробьева Л. И. Клиническое значение сопутствующих гиперпластических процессов эндометрия у больных со злокачественными опухолями яичников / Л. И. Воробьева, Ю. Г. Ткаля // Онкология. – 2013. – Т. 15, № 4. – С. 286–293.
36. Внутритропухлевая гетерогенность: природа и биологическое значение / Т. С. Герашенко, Е. В. Денисов, Н. В. Литвяков [и др.] // Биохимия – 2013. – Т. 78 № 11. – С. 1531–1549.
37. Высоцкий М. М. Новые тенденции в эпидемиологии и факторах риска спорадического рака яичников / М. М. Высоцкий, И. Б. Манухин, М. А. Дигаева // Эндоскопическая хирургия. – 2010. – Т. 16, № 6. – С. 56–60.
38. Галахин К. А. Лечебный патоморфоз злокачественных опухолей пищеварительного тракта / К. А. Галахин, Е. Г. Курик. – К. : Книга плюс, 2000. – 176 с.
39. Герштейн Е. С. Рецепторы семейства c-ErbB как мишени молекулярно-направленной противоопухолевой терапии: достижения, проблемы, перспективы / Е. С. Герштейн, Н. Е. Кушлинский, М. И. Давыдов // Молекулярная медицина. – 2010. – № 4. – С. 5–10.
40. Горбунова В. А. Лекарственное лечение рака яичников: стандарты и перспективы / В. А. Горбунова // Архив онкологии. – 2003. – № 2. – С. 43–49.
41. Горбунова В. А. Диагностика и лечение рака яичников / В. А. Горбунова. – М. : МИА, 2011. – 248 с.
42. Влияние аутоиммунотерапии на показатели эндогенной интоксикации, свободнорадикального окисления и состояния мембран у больных с рецидивами рака яичников / И. А. Горошинская, Л. Ю. Голотина, Л. Ю. Бирюкова [и др.] // Российский онкологический журнал. – 2007. – № 2. – С. 27–31.
43. Грабовой А. Н. Гистологическая оценка ответа опухоли на химио-/лучевую терапию / А. Н. Грабовой, Т. О. Тарасова, М. В. Кошубарова // Клин. онкология. – 2012. – Т. 6, № 2. – С. 138–143.
44. Гранов А. М. Лучевая терапия в онкогинекологии и онкоурологии / А. М. Гранов, В. Л. Винокуров. – СПб. : Фолиант, 2002. – С. 103–136.
45. Дивакова Т. С. Цитоморфологическая характеристика опухолей и опухолевидных образований яичников у девушек и женщин раннего репродуктивного возраста / Т. С. Дивакова, М. П. Фомина, Н. Г. Батуева // Медицинские новости. – 2002. – № 5. – С. 76–79.
46. Дильман В. М. Старение, климакс и рак / В. М. Дильман. – Л. : Медицина, 1968. – 378 с.
47. Дильман В. М. Большие биологические часы / В. М. Дильман. – М. : Знание, 1982. – 208 с.
48. Дильман В. М. Эндокринологическая онкология / В. М. Дильман. – Л. : Медицина, 1983. – 408 с.
49. Дильман В. М. Четыре модели медицины / В. М. Дильман. – Л. : Медицина, 1987. – 288 с.
50. Дубініна В. Г. Оптимізація диференціальної діагностики доброякісних пухлин та пухлиноподібних утворень яєчників / В. Г. Дубініна, Н. М. Рожковська, О. Л. Александров // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2011. – Т. 73, № 1. – С. 101–104.

51. Дубоссарская З. М. Гиперплазия эндометрия (клиническая лекция) / З. М. Дубоссарская, Ю. А. Дубоссарская // Жіночий лікар. – 2009. – № 5. – С. 22–27.
52. Дудніченко А. С. Рецепторный статус клеток яичников в зависимости от морфологических особенностей и химиотерапевтического воздействия / А. С. Дудніченко, Т. П. Якимова, С. М. Карташов // Онкология. – 2001. – Т. 3, № 4. – С. 271–274.
53. Дудніченко О. С. Особливості імунного статусу жінок із спадковою схильністю до раку яєчників / О. С. Дудніченко, С. М. Карташов // Медичні перспективи. – 2002. – Т. 7, № 1. – С. 93–96.
54. Дутчак У. М. Проблема рецидивного раку яєчника та шляхи його вирішення / У. М. Дутчак, Н. А. Володько, Т. Г. Фецих // Практична медицина. – 2010. – Т. 16, № 3. – С. 70–77.
55. Особенности гистологического строения и рецепторы стероидных гормонов резецированных или удаленных яичников у женщин репродуктивного возраста / Я. А. Егорова, А. К. Загоруйко, А. Н. Рыбалка [и др.] // Здоровье женщины. – 2010. – № 8. – С. 119–122.
56. Епифанова О. И. Гормоны и размножение клеток / О. И. Епифанова. – М. : Наука, 1965. – 243 с.
57. Современная диагностика и лечение гиперпластических процессов эндометрия / В. Н. Запорожан, Т. Ф. Татарчук, В. Г. Дубинина, Н. В. Косей // Репродуктивная эндокринология. – 2012. – Т. 1, № 3. – С. 5–13.
58. Захарцева Л. М. Иммуногистохимические методы исследования в морфологической диагностике / Л. М. Захарцева // Вісник проблем біології і медицини. – 2003. – № 2. – С. 29–31.
59. Зумофф Б. Гормональные профили и эпидемиология рака молочной железы / Эндокринная система и рак молочной железы. Под ред. Б. А. Столла. М. : Медицина. – 1984. – С. 11–50.
60. Ивченко А. Л. Индивидуализация тактики лечения больных раком яичников в зависимости от уровня тканевых калликреинов / А. Л. Ивченко // Международный медицинский журнал. – 2009. – Т. 15, № 3. – С. 103–105.
61. Имянитов Е. Н. Молекулярные механизмы опухолевого роста / Е. Н. Имянитов // Вопросы онкологии. – 2010. – Т. 56, № 2. – С. 117–128.
62. Калугина Л. В. Полипы эндометрия. Нужна ли противорецидивная терапия? / Л. В. Калугина, Т. Ф. Татарчук // Репродуктивная эндокринология. – 2013. – Т. 2, № 10. – С. 69–75.
63. Экспрессия белка сосудистого эндотелиального фактора роста в ткани опухолей у больных раком яичника I–II стадии / В. Л. Карапетян, Е. В. Степанова, А. Ю. Барышников [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2010. – № 3. – С. 73–76.
64. Карташов С. М. Гормонально-метаболические особенности развития рака яичников у женщин группы риска / С. М. Карташов // Медицина сегодня и завтра. – 2000. – № 2. – С. 103–105.
65. Карташов С. М. Рак яєчника: гормонально-метаболічні фактори патогенезу та шляхи підвищення ефективності лікування : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.07 / Карташов С. М. ; [Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України, Ін-т експерим. патології, онкології і радіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України]. – К., 2003. – 35 с.
66. Карташов С. М. Исследование фактора некроза опухолей альфа и апоптозного индекса у больных раком яичника / С. М. Карташов, Т. В. Скрицкая, В. С. Свиницкий // Харківська хірургічна школа. – 2005. – № 4. – С. 72–75.
67. Кашулина А. П. Патологические аспекты злокачественного роста / А. П. Кашулина. – М. : Медицина, 1983. – 255 с.
68. Кирик О. В. Маркеры пролиферации, применяемые в гистологических исследованиях / О. В. Кирик, Г. В. Безнин, Д. Э. Коржевский // Морфология. – 2009. – Т. 134, № 6. – С. 95–100.
69. Князева М. В. Про можливість використання рівня цитокінів у моніторингу за впливом неоад'ювантної поліхемотерапії у хворих на рак яєчників / М. В. Князева, А. В. Прокопюк, Т. Д. Павлова // Мед. хімія. – 2009. – Т. 11, № 4. – С. 80–82.
70. Козаченко В. П. Гормоны в онкогинекологии / В. П. Козаченко // Практическая гинекология. – 1999. – Т. 1, № 1. – С. 8–11.
71. Колосов А. Е. Морфометрические и иммуногистохимические критерии прогноза у больных серозным и муцинозным раком яичников / А. Е. Колосов, Е. В. Новичков // Архив патологии. – 2003. – Т. 65, № 5. – С. 29–32.
72. Кондратюк В. К. Імуногістохімічні особливості рецепторного апарату та регуляторів апоптоза пухлиноподібних уражень яєчників / В. К. Кондратюк // Здоровье женщины – 2008. – № 2. – С. 183–185.

73. Корман Д. Б. Эндокринная терапия злокачественных опухолей / Д. Б. Корман. – М. : Практическая медицина, 2010. – 400 с.
74. Корнеева И. А. Современный взгляд на маркерный рецидив рака яичников / И. А. Корнеева, Е. Г. Новикова, Н. С. Сергеева // Российский онкологический журнал. – 2010. – № 2. – С. 54–57.
75. Кругова М. Можливості порівняльної оцінки ефективності різних методів та етапів лікування раку яєчників за допомогою пухлиноасоційованого маркера СА-125 / М. Кругова // Український радіологічний журнал. – 2002. – № 2. – С. 130–133.
76. Иммуногистохимический метод в дифференциальной диагностике мелкоклеточных злокачественных опухолей / Ю. В. Крылов, М. Н. Медведев, С. В. Малащенко [и др.] // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. – 2010. – № 3. – С. 21–26.
77. Кузьмина С. В. Малигнизация нормальных клеток в условиях длительного культивирования *in vitro* / С. В. Кузьмина. – М. : Наука, 1983. – 229 с.
78. Лагучев С. С. Гормональная регуляция пролиферации эпителия матки, влагалища и молочных желез / С. С. Лагучев. – М. : Медицина, 1970. – 160 с.
79. Липкан Г. Н. Опухоли женской половой сферы. Клиническая лабораторная диагностика / Г. Н. Липкан. – К. : Знание Украины, 2002. – 24 с.
80. Ломницька М. І. Ангїогенез в раку яєчника: прогностична цінність ангїогенезасоційованих параметрів / М. І. Ломницька, Н. А. Володько // Експерим. та клініч. фізіологія і біохімія. – 2005. – № 2. – С. 36–44.
81. Ломницька М. І. Цитокіни та тумор-супресорні білки в регуляції ангїогенезу ракової пухлини яєчника людини / М. І. Ломницька, Н. А. Володько // Клінічна та експериментальна патологія. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 51–55.
82. Прогностичні молекулярні маркери у хворих на рак яєчника / Н. Ю. Лук'янова, О. В. Юрченко, В. С. Свінцицький [та ін.] // Онкологія. – 2006. – Т. 8, № 3. – С. 241–244.
83. Лук'янова Н. Ю. Молекулярно-біологічні особливості злоякісних пухлин яєчника з фенотипом лікарської резистентності: автореф. дис. ... канд. біол. наук: 14.01.07 / Лук'янова Н. Ю. ; [Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України]. – К., 2007. – 18 с.
84. Маевская Л. П. Нарушение гормонального гомеостаза у больных раком яичника / Л. П. Маевская, В. И. Тарутинов, В. С. Свиницкий // Экспериментальная онкология. – 1993. – Т. 15, № 1. – С. 79–80.
85. Максимов С. Я. Таргетная терапия при раке яичников / С. Я. Максимов, К. Л. Гусейнов // Практическая онкология. – 2010. – Т. 11, № 3. – С. 267–273.
86. Манухин И. Б. Клинические лекции по гинекологической эндокринологии / И. Б. Манухин, Л. Г. Тумилович, М. А. Геворкян. – М. : МИА, 2003. – 247 с.
87. Матэ Ж. Досье рака / Ж. Матэ. – М. : Мир, 1983. – 253 с.
88. Мельник М. М. Молекулярно-генетичні маркери раку яєчників / М. М. Мельник // Здоров'я жінки. – 2006. – № 3. – С. 220–228.
89. Назаренко Т. А. Стимуляция функции яичников / Т. А. Назаренко. – М. : МЕДпресс-информ, 2011. – 272 с.
90. Наказ МОЗ України № 226 від 27.07.1998 «Про затвердження Тимчасових галузевих уніфікованих стандартів медичних технологій діагностично-лікувального процесу стаціонарної допомоги дорослому населенню в лікувально-профілактичних закладах України та Тимчасових стандартів обсягів діагностичних досліджень, лікувальних заходів та критерії якості лікування дітей». – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0226282-98/ed20100402> – Загл. с екрана.
91. Наказ МОЗ України № 554 від 17.09.2007 «Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «онкологія». – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://search.ligazakon.ua/l_doc2.nsf/link1/MOZ7355.html – Загл. с екрана.
92. Комплексне визначення проліферативного потенціалу серозних новоутворень яєчника з урахуванням рівня експресії PCNA / Л. А. Налескіна, Л. Б. Забарко, Л. З. Поліщук [та ін.] // Онкологія. – 2002. – Т. 4, № 3. – С. 184–187.
93. Прогностичне значення щільності мікросудин у серозних аденокарциномах яєчника / І. П. Несіна, О. В. Романенко, В. М. Грінкевич [та ін.] // Онкологія. – 2008. – Т. 10, № 2. – С. 238–241.
94. Никогосян С. О. Рак яичников: вопросы диагностики и современные методы лечения / С. О. Никогосян, В. В. Кузнецов // Врач. – 2010. – № 11. – С. 2–8.

95. Изучение экспрессии рецептора альфа-протеина в опухолевых и нормальных тканях человека с помощью иммуногистохимического метода / М. Б. Ницетов, Е. Ю. Москалева, Г. А. Посыпанова [и др.] // Иммунология. – 2005. – № 2. – С. 122–125.
96. Тактика при маркерных рецидивах рака яичников / Е. Г. Новикова, Н. С. Сергеева, И. А. Корнеева [и др.] // Российский онкологический журнал. – 2006. – № 3. – С. 7–11.
97. Новичков Е. В. Зависимость прогноза рака яичников от экспрессии рецепторов к половым гормонам и пролиферативной активности опухолевых клеток / Е. В. Новичков, А. А. Вотинцев // Архив патологии. – 2006. – Т. 68, № 2. – С. 10–13.
98. Новичков Е. В. Патоморфологическая характеристика и критерии прогноза рецидивирования муцинозного рака яичников / Е. В. Новичков, О. Н. Новичкова // Российский медико-биологический вестник им. акад. И. П. Павлова. – 2009. – № 3. – С. 16–21.
99. Олійник А. Є. Морфологічні особливості строми серозних пухлин яєчників різного ступеня зрілості : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.03.02 / Олійник А. Є.; [Харківський державний медичний університет]. – Харків, 2006. – 17 с.
100. Орлова Р. В. Современное стандартное лечение больных раком яичников / Р. В. Орлова // Практическая онкология. – 2000. – № 4. – С. 42–44.
101. Молекулярная диагностика опухолей: фундаментальные основы и практическое применение : монография / С. П. Осинский, Д. Ф. Глузман, Й. Клифф [и др.]. – К. : ДИА, 2007. – 248 с.
102. Осинский С. П. Микрофизиология опухолей / С. П. Осинский, П. Ваупель. – К. : Наукова думка, 2009. – 256 с.
103. Осинский С. П. Микроокружение опухолевых клеток и опухолевая прогрессия / С. П. Осинский // Здоров'я України. – 2012. – Т. 5–6, № 24–25. – С. 34–36.
104. Осинский С. П. Микроокружение опухолевых клеток и опухолевая прогрессия. Факторы стромального микроокружения / С. П. Осинский // Здоров'я України. – 2013. – Т. 3, № 28. – С. 36–39.
105. Пальцев М. А. Трансляционная медицина – новый этап развития молекулярной медицины / М. А. Пальцев, Н. Н. Белушкина // Молекулярная медицина. – 2012. – № 4. – С. 2–5.
106. Значение биологических факторов прогноза у больных эпителиальными опухолями яичников / И. В. Паниченко, В. Н. Богатырев, В. П. [и др.] // Новости клинической цитологии в России. – 2002. – Т. 6, № 1–2. – С. 4–8.
107. Переводчикова Н. И. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний / Н. И. Переводчикова. – М. : Практическая медицина, 2011. – 512 с.
108. Иммуногистохимические маркеры в качестве прогностических критериев в онкогинекологии / К. М. Пожариский, В. Л. Винокуров, Г. М. Жаринов [и др.] // Вопросы онкологии. – 2008. – № 4. – С. 463–470.
109. Петров Н. Н. Злокачественные опухоли Т. 1 / Н. Н. Петров. – Л. : Медицина, 1947. – 480 с.
110. Медицинская экспертиза в онкогинекологии / С. Н. Пузин, Ю. Г. Паяниди, Д. С. Огай [и др.] // Онкогинекология – 2012. – № 2. – С. 60–67.
111. Клиника, морфология и особенности гормонального фона при осложненных и неосложненных опухолевидных процессах яичников / А. Н. Рыбалка, Я. Н. Егорова, В. А. Заболотнов [и др.] // Здоровье женщины. – 2011. – № 6. – С. 191–193.
112. Савельева Г. М. Период постменопаузы: климактерические расстройства, изменения в матке и яичниках / Г. М. Савельева, В. Г. Бреусенко, Ю. А. Голова // Врач. – 2002. – № 8. – С. 3–6.
113. Савельева Г. М. Диагностика опухолей и опухолевидных образований яичников / Г. М. Савельева, В. Г. Бреусенко, А. А. Соломатина // Акушерство и гинекология. – 2007. – № 4. – С. 51–53.
114. Самунджан Е. М. Кора надпочечников и опухолевый процесс / Е. М. Самунджан. – К. : Наукова думка, 1973 – 202 с.
115. Свінціцький В. С. Рак яєчників: динаміка деяких ендокринологічних показників під впливом комплексного лікування / В. С. Свінціцький // Клін. ендокринологія та ендокринна хірургія. – 2004. – Т. 3, № 8. – С. 25–30.
116. Свинцицкий В. С. Злоякісні пухлини яєчника: оптимізація комплексного лікування / В. С. Свинцицкий, Л. И. Воробьева // Онкология. – 2010. – Т. 12, № 1. – С. 93–97.
117. Свінціцький В. С. Комплексне лікування хворих на злоякісні пухлини яєчника : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.07 / Свінціцький В. С. ; [Національний інститут раку]. – К., 2010. – 40 с.
118. Северин Е. С. Биохимия: учебник для вузов / Е. С. Северин. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 768 с.

119. Семиглазов В. Ф. Значение прогностических и предсказывающих факторов при выборе лечения у больных метастатическим раком молочной железы / В. Ф. Семиглазов // *Практ. онкология*. – 2000. – № 2. – С. 26–30.
120. Содержание половых гормонов в ткани и крови женщин, больных раком яичников / Ю. С. Сидоренко, Е. М. Франциянц, Н. В. Громченко [и др.] // *Сиб. онкол. журн.* – 2008. – Т. 1, № 25. – С. 29–33.
121. Гиперпластические процессы эндометрия: особенности клиники и терапии / И. С. Сидорова, А. Л. Унанян [и др.] // *Врач*. – 2011. – № 6. – С. 40–42.
122. Симончук Е. В. Гормонотерапия при раке яичников / Е. В. Симончук // *Здоровье женщины*. – 2006. – № 1. – С. 218–221.
123. Симончук О. В. Обґрунтування цілеспрямованої гормонотерапії в комплексному лікуванні ендометріоїдного раку яєчника : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.01 / Симончук О. В. ; [Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика]. – К., 2007. – 20 с.
124. Скрицкая Т. В. Изучение апоптозного индекса и фактора некроза опухолей-альфа у больных раком яичника в зависимости от особенностей опухолевого процесса / Т. В. Скрицкая // *Здоровье женщины*. – 2006. – № 1. – С. 215–217.
125. Сметник В. П. Неоперативная гинекология: руководство для врачей / В. П. Сметник, В. Г. Тумилович. – М. : МИА, 2003. – 592 с.
126. Сметник А. А. Эстрогеновые рецепторы и их функции / А. А. Сметник // *Проблемы репродукции*. – 2011. – № 3. – С. 31–37.
127. Иммуногистохимические методы определения химиочувствительности опухоли при распространенном раке яичников : инструкция по применению / Р. М. Смолякова, Н. И. Крутилина, А. В. Мойсей [и др.]. – Минск, 2009. – С. 7–9.
128. Справочник VIDAL–2015: лекарственные препараты в России: справочник. – М. : Видаль Рус, 2015. – 1480 с.
129. Спринджук М. В. Иммуногистохимические маркеры лимфангиогенеза и развитие лимфатических капилляров в тканях эпителиального рака яичников: вопросы канцерогенеза и компьютер-ассистированная морфологическая характеристика / М. В. Спринджук, А. П. Кончиц, Н. В. Царёва // *Медицинский журнал Белорусского государственного медицинского университета*. – 2012. – № 2. – С. 117–123.
130. Татарчук Т. Ф. Эндокринная гинекология (клинические очерки) / Т. Ф. Татарчук, Я. П. Сольский. – К. : Заповит, 2003. – 300 с.
131. Татарчук Т. Ф. Современные принципы диагностики и лечения гиперпластических процессов эндометрия / Т. Ф. Татарчук, Е. В. Бурлака // *Здоровье женщины*. – 2003. – Т. 4, № 16. – С. 107–114.
132. Татарчук Т. Ф. Морфофункциональные особенности гиперпластических процессов эндометрия на фоне хронического эндометрита / Т. Ф. Татарчук, Т. Д. Задорожная, Е. Е. Коренная // *Здоровье женщины*. – 2004. – Т. 4, № 26. – С. 59–62.
133. Сучасні принципи діагностики та лікування гіперпластичних процесів ендометрія : методичні рекомендації / Т. Ф. Татарчук, Т. Д. Задорожна, Л. І. Воробйова [та ін.]. – К., 2005. – 16 с.
134. Татарчук Т. Ф. Гиперпластические процессы эндометрия: что нового? / Т. Ф. Татарчук, Л. В. Калугина, Т. Н. Тутченко // *Репродуктивная эндокринология*. – 2015. – Т. 5, № 25. – С. 7–13.
135. Темченко О. І. Епітеліальні пухлини яєчників: діагностика, хірургічне та комплексне лікування : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.01 / Темченко О. І. ; [Київ. мед. акад. післядиплом. освіти ім. П.Л. Шупика МОЗ України]. – К., 2003. – 35 с.
136. Молекулярно-генетический и иммуногистохимический анализ карциносарком органов женской репродуктивной системы / А. В. Тимофеев, Л. Н. Алексеева, Д. Е. Мацко [и др.] // *Вопросы онкологии*. – 2008. – Т. 54, № 1. – С. 47–52.
137. Клиническое значение экспрессии VEGF у больных серозным раком яичника в зависимости от гормонального рецепторного статуса опухоли / Ю. Г. Ткаля, Л. И. Воробьева, В. С. Свиницкий [и др.] // *Здоровье женщины*. – 2014. – Т. 6, № 92. – С. 169–177.
138. Клиническое значение экспрессии HER-2/neu у больных серозным раком яичника в зависимости от гормонального рецепторного статуса опухоли / Ю. Г. Ткаля, Л. И. Воробьева, В. С. Свиницкий [и др.] // *Онкология*. – 2014. – Т. 16, № 3. – С. 181–190.
139. Особенности гормонального рецепторного статуса, экспрессии VEGF, HER-2/neu в серозном раке и функциональных кистах яичника. Гормональный гомеостаз у больных с рецидивом серозного рака яич-

- ника / Ю. Г. Ткаля, Л. И. Воробьева, В. С. Свиницкий [и др.] // Клин. онкология. – 2014. – Т. 4, № 16. – С. 81–89.
140. Урманчеева А. Ф. Практическая онкогинекология : избранные лекции / А. Ф. Урманчеева, С. А. Тюлядин, В. М. Моисеенко. – СПб. : Центр ТОММ, 2008. – 400 с.
141. Урманчеева А. Ф. Опухоли яичника (клиника, диагностика и лечение) / А. Ф. Урманчеева, Г. Ф. Кутушева, Е. А. Ульрих. – СПб. : Н-Л, 2012. – 68 с.
142. Рак в Україні, 2012–2013. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби / З. П. Федоренко, Л. О. Гулак, Ю. Й. Михайлович [та ін.] // Бюлетень Національного канцерреєстру України. – К., 2014. – № 15. – С. 50–51.
143. Рак в Україні, 2013–2014. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби / З. П. Федоренко, Л. О. Гулак, Ю. Й. Михайлович [та ін.] // Бюлетень Національного канцерреєстру України. – К., 2015. – № 16. – С. 48–49.
144. Рак в Україні, 2014–2015. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби / З. П. Федоренко, Л. О. Гулак, Ю. Й. Михайлович [та ін.] // Бюлетень Національного канцерреєстру України. – К., 2016. – № 17. – С. 52–53.
145. Рак в Україні, 2015–2016. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби / З. П. Федоренко, Л. О. Гулак, Ю. Й. Михайлович [та ін.] // Бюлетень Національного канцерреєстру України. – К., 2017. – № 18. – С. 52–53.
146. Рак в Україні, 2016–2017. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби / З. П. Федоренко, Л. О. Гулак, Ю. Й. Михайлович [та ін.] // Бюлетень Національного канцерреєстру України. – К., 2018. – № 19. – С. 50–51.
147. Фильченков А. А. Терапевтический потенциал ингибиторов ангиогенеза / А. А. Фильченков // Онкология. – 2007. – Т. 9, № 4. – С. 321–328.
148. Фролькис В. В. Старение и биологические возможности организма / В. В. Фролькис. – М. : Наука, 1975. – С. 265–268.
149. Хабриев Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р. У. Хабриев. – М. : Медицина, 2005. – 832 с.
150. Хохлова С. В. Новые тенденции в лечении распространенного рака яичников / С. В. Хохлова // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 4. – С. 64–73.
151. Хохлова С. В. Роль ингибиторов сосудистого эндотелиального фактора роста в лечении рака яичников / С. В. Хохлова // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2010. – № 3. – С. 35–44.
152. Цурканенко А. Д. Состояние гормонального гомеостаза у пациенток после хирургического воздействия на яичники / А. Д. Цурканенко // Патология. – 2010. – Т. 7, № 3. – С. 27–29.
153. Чайка А. В. Морфофункціональна характеристика оваріальної стромы при двосторонніх гіперандрогенних пухлиноподібних процесах яєчників / А. В. Чайка // Вісник проблем біології і медицини. – 2002. – № 9–10. – С. 61–68.
154. Черезов А. Е. Общая теория рака: тканевый подход / А. Е. Черезов. – М. : Изд-во МГУ, 1997. – 252 с.
155. Взаимосвязь регуляторных Т-клеток с уровнем СА-125 и объемом опухолевой массы у больных раком яичников / Е. Р. Черных, Е. В. Курганова, М. А. Тихонова [и др.] // Медицинская иммунология. – 2010. – Т. 12, № 4–5. – С. 311–318.
156. Чехун В. Ф. Злокачественные опухоли и беременность / В. Ф. Чехун // Здоров'я України. – 2003. – Т. 12, № 73. – С. 22.
157. Чехун В. Ф. Воспаление и рак / В. Ф. Чехун // Онкология. – 2009. – Т. 11, № 4. – С. 244–245.
158. Чехун В. Ф. Гетерогенность опухоли – динамическое состояние / В. Ф. Чехун, С. Д. Шербан, З. Л. Савцова // Онкология. – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 4–12.
159. Шамрай Д. В. Гормональный канцерогенез яичника и способы его моделирования / Д. В. Шамрай, Н. А. Мельник, Ю. Б. Чайковский // Клін. анатомія та оперативна хірургія. – 2010. – Т. 9, № 2. – С. 126–130.
160. Шапот В. С. Биохимические аспекты опухолевого роста / В. С. Шапот. – М. : Медицина, 1973. – 304 с.
161. Шпарик Я. В. Онкогинекология : класифікації TNM. Клінічні рекомендації. Режими медикаментозної терапії : посібник / упоряд.: Я. В. Шпарик, О. О. Олексяк, М. І. Ломницька ; Львів. держ. онкол. регіон. лікув.-діагност. центр. – Львів : Галиц. вид. спілка, 2005. – 80 с.

162. Шпонька И. С. Роль тканевых маркеров в оценке биологических свойств и прогнозе рака молочной железы / И. С. Шпонька, В. А. Бондарева, П. А. Гриценко // *Международ. мед. журн.* – 2005. – Т. 11, № 2. – С. 97–104.
163. Неоадьювантная гормонотерапия местно-распространенного рака грудной железы / И. Б. Щепотин, А. С. Зотов, Н. Ф. Аникусько [и др.] // *Клин. онкология.* – 2011. – Т. 3, № 3. – С. 36–39.
164. Молекулярные подтипы рака грудной железы, определенные на основе иммуногистохимических маркеров: клинико-биологические особенности и прогноз течения / И. Б. Щепотин, А. С. Зотов, Р. В. Любота [и др.] // *Клин. онкология.* – 2012. – Т. 8, № 4. – С. 1–4.
165. Щербина Н. А. Применение гормонотерапии при атипичской гиперплазии эндометрия у больных, имеющих микросателлитную нестабильность и метилирование гена ESR / Н. А. Щербина, М. А. Карташова // *Международ. мед. журн.* – 2012. – Т. 18, № 4. – С. 82–86.
166. Роль апоптоза в регрессии рака яичника / Т. П. Якимова, С. М. Карташов, Т. В. Скрицкая [та ін.] // *Проблеми медичної науки та освіти.* – 2006. – № 3. – С. 46–49.
167. Якимова Т. П. Метилирование гена RASF и морфологические особенности рака яичников / Т. П. Якимова, С. М. Карташов, М. Н. Гагуа // *Проблеми сучасної медичної науки та освіти.* – 2009. – № 3. – С. 61–64.
168. Якимова Т. П. Морфометрические показатели рака яичников и их влияние на особенности распространения и рецидивирования заболевания / Т. П. Якимова, А. С. Дудниченко, С. М. Карташов // *Український медичний альманах.* – 2002. – № 1. – С. 180–183.
169. Preoperative serum vascular endothelial growth factor correlated to three dimensional power Doppler indices in ovarian masses / M. R. AbouSeeda, G. M. Mansour, S. S. Ez-Elarab [et al.] // *OJOG.* – 2014. – Vol. 4. – P. 112–119.
170. Ahmad N. Steroid hormone receptors in cancer development: a target for cancer therapeutics / N. Ahmad, R. Kumar // *Cancer Lett.* – 2011. – Vol. 300, № 1. – P. 1–9.
171. Ahmed H. G. Correlations of hormone receptors (ER and PR), HER-2/neu and p53 expression in breast ductal carcinoma among Yemeni women / H. G. Ahmed, M. A. Al-Adhraei, A. K. Al-Thobhani // *Open. Cancer Immunol. J.* – 2011. – Vol. 4. – P. 1–9.
172. Luteinizing hormone, its beta-subunit variant, and epithelial ovarian cancer: the gonadotropin hypothesis revisited / A. Akhmedkhanov, P. Toniolo, A. Zeleniuch-Jacquotte [et al.] // *Am. J. Epidemiol.* – 2001. – Vol. 154, № 1. – P. 43–49.
173. Almasri N. M. Immunohistochemical evaluation of human epidermal growth factor receptor 2 and estrogen and progesterone receptors in breast carcinoma in Jordan / N. M. Almasri, M. Al-Hamad // *Breast Cancer Res.* – 2005. – Vol. 7, № 5. – P. 598–604.
174. Gonadotropin and steroid receptors as prognostic factors in advanced ovarian cancer: a retrospective study / L. Alonso, E. Gallego, F. Jesús González [et al.] // *Clin. Transl. Oncol.* – 2009. – Vol. 11. – P. 748–752.
175. Altinoz M. A. NF-kappaB, macrophage migration inhibitory factor and cyclooxygenase-inhibitions as likely mechanisms behind the acetaminophen- and NSAID-prevention of the ovarian cancer / M. A. Altinoz, R. Korkmaz // *Neoplasma.* – 2004. – Vol. 51, № 4. – P. 239–247.
176. Antila R. Comparison of secondary and primary ovarian malignancies reveals differences in their pre- and perioperative characteristics / R. Antila, J. Jalkanen, O. Heikinheimo // *Gynecol. Oncol.* – 2006. – Vol. 101, № 1. – P. 97–101.
177. Anti-Müllerian hormone inhibits growth of AMH type II receptor-positive human ovarian granulosa cell tumor cells by activating apoptosis / M. Anttonen, A. Färkkilä, H. Tauriala [et al.] // *Lab. Invest.* – 2011. – Vol. 91, № 11. – P. 1605–1614.
178. Estrogen and progesterone receptor status and outcome in epithelial ovarian cancers and low malignant potential tumors / H. Arias-Pulido, H. O. Smith, N. E. Joste [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2009. – Vol. 114. – P. 480–485.
179. Estrous cycle modulates ovarian carcinoma growth / G. N. Armaiz-Pena, L. S. Mangala, W. A. Spannuth [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2009. – Vol. 15. – P. 2971–2978.
180. Intraperitoneal cisplatin and paclitaxel in ovarian cancer / D. K. Armstrong, B. Bundy, L. Wenzel [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2006. – Vol. 354. – P. 34–43.
181. NCCN Guidelines® (National Comprehensive Cancer Network) Clinical Practice Guidelines in Oncology. Ovarian Cancer Including Fallopian Tube Cancer and Primary Peritoneal Cancer /

- D. K. Armstrong, R. D. Alvarez, J. N. Bakkum-Gamez [et al.] // NCCN Guidelines Version 1.2020. – 2020. – Режим доступа: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/default.aspx – Загл. с экрана.
182. Serum follicle-stimulating hormone and risk of epithelial ovarian cancer in postmenopausal women / A. A. Arslan, A. Zeleniuch-Jacquotte, E. Lundin [et al.] // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. – 2003. – Vol. 12, № 12. – P.1531–1535.
183. The prognostic value of estrogen receptor beta and proline-, glutamic acid- and leucine-rich protein 1 (PELP1) expression in ovarian cancer / S. Aust, P. Horak, D. Pils [et al.] // BMC Cancer. – 2013. – Vol. 13. – P. e115.
184. Correlation of HER-2/neu overexpression with clinicopathological parameters in Tunisian breast carcinoma / L. Ayadi, A. Khabir, H. Amouri [et al.] // World J. Surgical. Oncol. – 2008. – Vol. 6, № 112. – Режим доступа: <http://www.wjso.com/content/6/1/112>. – Загл. с экрана.
185. Correlation between immunohistochemical biomarkers expression and prognosis of ovarian carcinomas in Tunisian patients / L. Ayadia, S. Chaabounia, A. Khabira [et al.] // World J. Oncol. – 2010. – Vol. 1, № 3. – P. 118–128.
186. Impact of gonadotrophins and steroid hormones on tumour cells derived from borderline ovarian tumours / C. Basille, F. Olivennes, J. Le Calvez [et al.] // Hum. Reprod. – 2006. – Vol. 21, № 12. – P. 3241–3245.
187. Role of aromatase inhibitor in ovulation induction in patients with poor response to clomiphene citrate / M. R. Begum, E. Quadir, A. Begum [et al.] // J. Obstet. Gynecol. Res. – 2006. – Vol. 32, № 5. – P. 502–506.
188. Bjornstrom L. Mechanisms of estrogen receptor signaling: convergence of genomic and nongenomic actions on target genes / L. Bjornstrom, M. Sjoberg // Mol. Endocrinol. – 2005. – Vol. 19. – P. 833–842.
189. Steroid hormone synthesis by the ovarian stroma surrounding epithelial ovarian tumors: a potential mechanism in ovarian tumorigenesis / L. Z. Blanco, E. Jr Kuhn, J. C. Morrison [et al.] // Mod. Pathol. – 2017. – Vol. 30, № 4. – P. 563–576.
190. Suppression of the transformed phenotype and induction of differentiation-like characteristics in cultured ovarian tumor cells by chronic treatment with progesterone / M. Blumenthal, A. Kardosh, L. Dubeau [et al.] // Mol. Carcinog. – 2003. – Vol. 38, № 4. – P. 160–169.
191. Follicle-stimulating hormone receptors: a new immunohistochemical marker in cancers? / E. A. Bonci, A. Irimie, R. Buiga [et al.] // J. BUON. – 2017. – Vol. 22, № 5. – P. 1352–1359.
192. Evaluation of new platinum-based treatment regimens in advanced-stage ovarian cancer: a phase III trial of the Gynecologic Cancer Inter Group / M. A. Bookman, M. F. Brady, W. P. McGuire [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2009. – Vol. 27. – P. 1419–1425.
193. Evaluation of monoclonal humanized anti-HER2 antibody, trastuzumab, in patients with recurrent or refractory ovarian or primary peritoneal carcinoma with expression of HER-2/neu: a phase II trial of the Gynecologic Oncology Group / M. A. Bookman, K. M. Darcy, D. Clarke-Pearson [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2003. – Vol. 21. – P. 311–316.
194. Bose C. K. Follicle stimulating hormone receptor in ovarian surface epithelium and epithelial ovarian cancer / C. K. Bose // Oncol. Res. – 2008. – Vol. 17, № 5. – P. 231–238.
195. CA125 response is associated with estrogen receptor expression in a phase II trial of letrozole in ovarian cancer: identification of an endocrine-sensitive subgroup / A. Bowman, H. Gabra, S. P. Langdon [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2002. – Vol. 8, № 7. – P. 2233–2239.
196. Ovarian cancer risk after the use of ovulation-stimulating drugs / L. A. Brinton, E. J. Lamb, K. S. Moghissi [et al.] // Obstet. Gynecol. – 2004. – Vol. 103. – P. 1194–1203.
197. Bristow R. E. Cytoreductive surgery for recurrent ovarian cancer: a meta-analysis / R. E. Bristow, I. Puri, D. S. Chi // Gynecol. Oncol. – 2009. – Vol. 112. – P. 265–274.
198. Immunohistochemical analysis of steroid receptors in ovaries of postmenopausal women—effects of aging and hormone status / A. Brodowska, M. Laszczyńska, A. Starczewski [et al.] // Histol. Histopathol. – 2010. – Vol. 25, № 8. – P. 1009–1016.
199. Bryan D. Clinical reproductive medicine / D. Bryan, Cowan, B. David [et al.] – Philadelphia–New York : Lippincott-Raven Publishers, 1996. – 292 p.
200. Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor / A. M. Brzozowski, A. C. Pike, Z. Dauter [et al.] // Nature. – 1997. – Vol. 389. – P. 753–758.

201. Expression of the estrogen and progesterone receptors as prognostic factor in serous ovarian cancers / L. G. Buchynska, N. P. Yurchenko, V. N. Grinkevych [et al.] // *Experim. Oncol.* – 2009. – Vol. 31, № 1. – P. 48–51.
202. Aromatase excess in cancers of breast, endometrium and ovary / S. E. Bulun, D. Chen, M. Lu [et al.] // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 2007. – Vol. 106, № 1–5. – P. 81–96.
203. Prognostic significance of estrogen receptor alpha and beta expression in human serous carcinomas of the ovary / A. Burges, A. Brüning, C. Dannenmann [et al.] // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2010. – Vol. 281. – P. 511–517.
204. Callery E. C. The effects of a low therapeutic dose of β CG fragment-lytic peptide conjugates on ovarian function and gonadotropin secretion in ewes: a randomized controlled trial / E. C. Callery, W. Hansel, P. M. Bartlewski // *Reprod. Biol.* – 2010. – Vol. 10, № 3. – P. 195–213.
205. Capen C. C. Mechanisms of hormone-mediated carcinogenesis of the ovary / C. C. Capen // *Toxicol. Pathol.* – 2004. – Vol. 32, № 2. – P. 1–5.
206. Casper R. F., Mitwally M. F. Review: aromatase inhibitors for ovulation induction / R. F. Casper, M. F. Mitwally // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2006. – Vol. 91, № 3. – P. 760–771.
207. Chakraborty A. Progesterone receptor agonists and antagonists as anticancer agents / A. Chakraborty, S. Chatterjee, P. Roy // *Mini Rev. Med. Chem.* – 2010. – Vol. 10, № 6. – P. 506–517.
208. Overexpression of tumor vascular endothelial growth factor may portend an increased likelihood of progression in a phase II trial of bevacizumab and erlotinib in resistant ovarian cancer / S. K. Chambers, M. C. Clouser, A. F. Baker [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2010. – Vol. 16. – P. 5320–5328.
209. Charles N. J. Expression of membrane progesterone receptors (mPR/PAQR) in ovarian cancer cells: implications for progesterone-induced signaling events / N. J. Charles, P. Thomas, C. A. Lange // *Horm. Cancer.* – 2010. – Vol. 1, № 4. – P. 167–176.
210. The role of expression of the components of proteome in the formation of molecular profile of human ovarian carcinoma A2780 cells sensitive and resistant to cisplatin / V. F. Chekhun, N. Yu. Lukyanova, O. V. Yurchenko [et al.] // *Experim. Oncol.* – 2005. – Vol. 27, № 3. – P. 191–195.
211. Cheung L. W. Cadherin switching and activation of p120 catenin signaling are mediators of gonadotropin-releasing hormone to promote tumor cell migration and invasion in ovarian cancer / L. W. Cheung, P. C. Leung, A. S. Wong // *Oncogene.* – 2010. – Vol. 29, № 16. – P. 2427–2440.
212. P-cadherin cooperates with insulin-like growth factor-1 receptor to promote metastatic signaling of gonadotropin-releasing hormone in ovarian cancer via p120 catenin / L. W. Cheung, A. S. Mak, A. N. Cheung [et al.] // *Ibid.* – 2011. – Vol. 30, № 26. – P. 2964–2974.
213. Choi J. H. Estrogen receptor alpha pathway is involved in leptin-induced ovarian cancer cell growth / J. H. Choi, K. T. Lee, P. C. Leung // *Carcinogenesis.* – 2011. – Vol. 32, № 4. – P. 589–596.
214. Gonadotropins upregulate the epidermal growth factor receptor through activation of mitogen-activated protein kinases and phosphatidylinositol-3-kinase in human ovarian surface epithelial cells / J. H. Choi, K. C. Choi, N. Auersperg [et al.] // *Endocrin. Rel. Cancer.* – 2005. – Vol. 12. – P. 407–421.
215. Overexpression of follicle-stimulating hormone receptor activates oncogenic pathways in preneoplastic ovarian surface epithelial cells / J. H. Choi, K. C. Choi, N. Auersperg [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2004. – Vol. 89. – P. 5508–5516.
216. Estradiol up-regulates antiapoptotic Bcl-2 messenger ribonucleic acid and protein in tumorigenic ovarian surface epithelium cells / K. C. Choi, S. K. Kang, C. J. Tai [et al.] // *Endocrinology.* – 2001. – Vol. 142, № 6. – P. 2351–2360.
217. Follicle-stimulating hormone activates mitogen-activated protein kinase in preneoplastic and neoplastic ovarian surface epithelial cells / K. C. Choi, S. K. Kang, C. J. Tai [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2002. – Vol. 87. – P. 2245–2253.
218. Chudecka-Glaz A. Gonadotropin (LH, FSH) levels in serum and cyst fluid in epithelial tumors of the ovary / A. Chudecka-Glaz, I. Rzepka-Gorska, B. Kosmowska // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2004. – Vol. 270, № 3. – P. 151–156.
219. Response and survival in patients with progressive or recurrent serous ovarian tumors of low malignant potential / M. A. Crispens, D. Bodurka, M. Deavers [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2002. – Vol. 99, № 1. – P. 3–10.
220. MicroRNA expression and regulation in human ovarian carcinoma cells by luteinizing hormone / J. Cui, J. B. Eldredge, Y. Xu [et al.] // *Ibid.* – Vol. 6, № 7. – P. e21730.

221. Regulation of gene expression in ovarian cancer cells by luteinizing hormone receptor expression and activation / J. Cui, B. M. Miner, J. B. Eldredge [et al.] // BMC Cancer. – 2011. – Vol. 11, № 280. – Режим доступа: <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/11/280>. – Загл. с экрана.
222. Progesterone crosstalks with insulin-like growth factor signaling in breast cancer cells via induction of insulin receptor substrate-2 / X. Cui, Z. Lazar, P. Zhang [et al.] // Oncogene. – 2003. – Vol. 22. – P. 6937–6941.
223. Cuna S. Estrogens and epithelial ovarian cancer / S. Cuna, P. Hoffmann, P. Pujol // Gynecol. Oncol. – 2004. – Vol. 94, № 1. – P. 25–32.
224. Cancer incidence in five continents / edited by M. P. Curado, B. Edwards, H. R. Shin [et al.]. – Lyon : IARC, 2007. – Vol. IX. – 897 p.
225. Dabrosin C. Estradiol increases extracellular levels of vascular endothelial growth factor *in vivo* in murine mammary cancer / C. Dabrosin, P. J. Margetts, J. Gaudie // Int. J. Cancer. – 2003. – Vol. 107, № 4. – P. 535–540.
226. Different patterns of ovarian recovery after cancer treatment suggest various individual ovarian susceptibilities to chemotherapy / C. Decanter, M. Cloquet, A. Dassonneville [et al.] // Reprod. Biomed. Online. – 2018. – Vol. 36, № 6. – P. 711–718.
227. Endometriosis-associated ovarian carcinoma differential expression of vascular endothelial growth factor and estrogen/progesterone receptors / M. G. Del Carmen, A. E. Smith Sehdev, A. N. Fader [et al.] // Cancer. – 2003. – Vol. 98, № 8. – P. 1658–1663.
228. Deroo B. J. Estrogen receptors and human disease / B. J. Deroo, K. S. Kovach // J. Clin. Invest. – 2006. – Vol. 116. – P. 561–570.
229. Disaia P. J. Clinical oncologic gynecology : пер. с англ. / P. J. Disaia, W. T. Creasman ; под. ред. Е. Г. Новиковой. – М. : Рид Элсивер, 2012. – 346 с.
230. Addition of gemcitabine as third drug to carboplatin-paclitaxel in firstline treatment of epithelial ovarian cancer. A prospectively randomized Gynecologic Cancer Intergroup (GCI) Intergroup trial by the Arbeitsgemeinschaft Gynaekologische Onkologie Ovarian Cancer Study Group (AGO-OVAR), the Groupe d'Investigateurs Nationaux pour l'Etude des Cancers Ovariens (GINECO), and the Nordic Society of Gynecologic Oncology (NSGO) / A. Du Bois, J. Herrstedt, A. C. Hardy-Bessard [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2010. – Vol. 28. – P. 4162–4169.
231. D-TRP-6-LHRH (Triptorelin) is not effective in ovarian carcinoma: an EORTC Gynaecological Cancer Co-operative Group Study / F. Duffaud, van der M. E. Burg, M. Namer [et al.] // Anticancer Drugs. – 2001. – Vol. 12, № 2. – P. 159–162.
232. Vascular endothelial growth factor expression in ovarian cancer: a model for targeted use of novel therapies? / T. J. Duncan, A. Al-Attar, P. Rolland [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2008. – Vol. 14, № 10. – P. 3030–3035.
233. Real-world evidence in the treatment of ovarian cancer / E. A. Eisenhauer // Ann. Oncol. – 2017. – Vol. 28, № 8. – P. 61–65.
234. Letrozole induction of ovulation in women with clomiphene citrate-resistant polycystic ovary syndrome may not depend on the period of infertility, the body mass index, or the luteinizing hormone / Follicle-stimulating hormone ratio / A. Elnashar, H. Foad, M. Eldosoky [et al.] // Fertil. and Steril. – 2006. – Vol. 85, № 2. – P. 511–513.
235. Luteinizing hormone-releasing hormone receptor-targeted chemotherapy using AN-152 / G. Emons, H. Sindermann, J. Engel [et al.] // Neuroendocrinology. – 2009. – Vol. 90, № 1. – P. 15–18.
236. Emons G. Primary and salvage therapy with LH-RH analogues in ovarian cancer / G. Emons, K. D. Schulz // Recent Results Cancer Res. – 2000. – Vol. 153. – P. 83–94.
237. Down-regulation of transforming growth factor beta receptors by androgen in ovarian cancer cells / A. Evangelou, S. K. Jindal, T. J. Brown [et al.] // Cancer Res. – 2000. – Vol. 60, № 4. – P. 929–935.
238. Estrogen receptor, progesterone receptor, and HER-2/neu positivity and its association with tumour characteristics and menopausal status in a breast cancer cohort from northern Pakistan / M. Faheem, H. Mahmood, M. Khurram [et al.] // Ecancermedicalscience. – 2012. – Vol. 6. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3332/ecancer.2012.283>. – Загл. с экрана.
239. Fathalla M. F. Incessant ovulation: a factor in ovarian neoplasia? / M. F. Fathalla // Lancet. – 1971. – Vol. 2. – P. e163.
240. Vascular endothelial growth factor is essential for corpus luteum angiogenesis / N. Ferrara, H. Chen, K. Carver-Moore [et al.] // Nat. Med. – 1998. – Vol. 4, № 3. – P. 336–340.

241. Ferrara N. The role of VEGF in the regulation of physiological and pathological angiogenesis / N. Ferrara // *EXS.* – 2005. – Vol. 94. – P. 209–231.
242. Increase of doxorubicin-induced apoptosis after knock-down of gonadotropin-releasing hormone receptor expression in human endometrial, ovarian and breast cancer cells / S. Fister, L. Schlotawa, A. R. Günthert [et al.] // *Gynecol. Endocrinol.* – 2008. – Vol. 24, № 1. – P. 24–29.
243. Incessant ovulation, inflammation and epithelial ovarian carcinogenesis: revisiting old hypotheses / J. S. Fleming, C. R. Beaugie, I. Haviv [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2006. – Vol. 247. – P. 4–21.
244. Fredrickson T. N. Ovarian tumors of the hen / T. N. Fredrickson // *Environ Health Perspect.* – 1987. – Vol. 73. – P. 35–51.
245. Clinical implications of expression of vascular endothelial growth factor in metastatic lesion of ovarian cancer / J. Fujimoto, H. Sakaguchi, I. Aoki [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2001. – Vol. 85, № 3. – P. 313–316.
246. Sex-steroid hormones, gonadotropin and ovarian carcinogenesis: a review of epidemiological and experimental data / A. Gadducci, S. Cosio, A. Gargini [et al.] // *Gynecol. Endocrinol.* – 2004. – Vol. 19. – P. 216–228.
247. Prognostic value of hormonal receptors, p53, Ki-67 and HER-2/neu expression in epithelial ovarian carcinoma / A. García-Velasco, C. Mendiola, A. Sánchez-Muñoz [et al.] // *Clin. Transl. Oncol.* – 2008. – Vol. 10. – P. 367–371.
248. The aromatase inhibitor letrozole increases the concentration of intraovarian androgens and improves *in vitro* fertilization outcome in low responder patients: a pilot study / J. A. García-Velasco, L. Moreno, A. Pacheco [et al.] // *Fertil. and Steril.* – 2005. – Vol. 84, № 1. – P. 82–87.
249. Hormonal therapy for recurrent low-grade serous carcinoma of the ovary or peritoneum / D. M. Gershenson, C. C. Sun, R. B. Iyer [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2012. – Vol. 125, № 3. – P. 661–666.
250. Goldhirsch A. Endocrine therapy of breast cancer / A. Goldhirsch, M. Colleom, R. Gelber // *Ann. Oncol.* – 2002. – Vol. 13. – P. 61–68.
251. Surgical cytoreduction in recurrent ovarian carcinoma in patients with complete response to paclitaxel-platinum / B. Gronlund, L. Lundvall, I. Christensen [et al.] // *Eur. J. Surg. Oncol.* – 2005. – Vol. 31. – P. 67–73.
252. Production and actions of estrogens / C. J. Gruber, W. Tschugguel, C. Schneeberger [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2002. – Vol. 346. – P. 340–352.
253. Gründker C. Role of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in ovarian cancer / C. Gründker, G. Emons // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2003. – Vol. 1. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/1477-7827-1-65>. – Загл. с экрана.
254. Creation of cellular models for the analysis of sodium-dependent phosphate transporter NaPi2b, a potential marker for ovarian cancer / V. S. Gryshkova, D. S. Lituyev, V. V. Filonenko [et al.] // *Biopolymers and Cell.* – 2009. – Vol. 25, № 2. – P. 95–101.
255. The study of phosphate transporter NaPi2b expression in different histological types of epithelial ovarian cancer / V. Gryshkova, I. Goncharuk, V. Gurtovy [et al.] // *Ibid.* – 2009. – Vol. 31, № 1. – P. 37–42.
256. Gulliver L. S. Novel approaches to quantify estradiol-induced loss of ERβ1 protein in older mouse ovarian surface epithelium: new tools to assess the role of ER protein subtypes in predisposing to ovarian epithelial cancer? / L. S. Gulliver, P. R. Hurst // *Ibid.* – 2011. – Vol. 2, № 4. – P. 204–213.
257. Antiproliferative effect of growth hormone-releasing hormone (GHRH) antagonist on ovarian cancer cells through the EGFR-Akt pathway / J. Guo, A. V. Schally, M. Zarandi [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2010. – Vol. 8, № 54. – Режим доступа: <http://www.rbej.com/content/8/1/54>. – Загл. с экрана.
258. Pregnancy, breast feeding, and oral contraceptives and the risk of epithelial ovarian cancer / M. L. Gwinn, N. C. Lee, P. H. Rhodes [et al.] // *J. Clin. Epidemiol.* – 1990. – Vol. 43. – P. 559–568.
259. Clinical analysis of borderline ovarian tumors / J. E. Ha, I. C. Jeung, Y. S. Lee [et al.] // *Ibid.* – 2011. – Vol. 32, № 1. – P. 69–72.
260. Estrogen receptor alpha expression in ovarian cancer predicts longer overall survival / A. Halon, V. Materna, M. Drag-Zalesinska [et al.] // *Pathol. Oncol. Res.* – 2011. – Vol. 17, № 3. – P. 511–518.
261. An analytical strategy to characterize the pharmacokinetics and pharmacodynamics of triptorelin in rats based on simultaneous LC–MS/MS analysis of triptorelin and endogenous testosterone in rat plasma / J. Han, S. Zhang, W. Liu [et al.] // *Analytical Bioanalytical Chemistry.* – 2014. – Vol. 406, № 9–10. – P. 2457–2465.

262. Lifestyle and reproductive factors and ovarian cancer risk by p53 and MAPK expression / H. R. Harris, M. S. Rice, A. L. Shafrir [et al.] // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2018. Vol. 27, № 1. – P. 96–102.
263. Phase II trial of tamoxifen and goserelin in recurrent epithelial ovarian cancer / J. Hasan, N. Ton, S. Mullamitha [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2005. – Vol. 93, № 6. – P. 647–651.
264. Carcinoma of the ovary. FIGO 6th annual report on the results of treatment in gynecological cancer / A. P. M. Heintz, F. Odicino, P. Maisonneuve [et al.] // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2006. – Vol. 95, № 1. – P. 161–169.
265. HER-2/neu expression is a negative prognosticator in ovarian cancer cases that do not express the follicle stimulating hormone receptor (FSHR) / S. Heublein, T. Vrekoussis, D. Mayr [et al.] // *J. Ovarian. Res.* – 2013. – Vol. 6, № 6. – Режим доступа: <http://www.ovarianresearch.com/content/6/1/6>. – Загл. с экрана.
266. Inhibitory effects of aromatase inhibitor on estrogen receptor-alpha positive ovarian cancer in mice / H. Hirakawa, Y. Yokoyama, H. Yoshida [et al.] // *J. Ovarian. Res.* – 2014. – Vol. 7, № 4. – Режим доступа: <http://www.ovarianresearch.com/content/7/1/4>. – Загл. с экрана.
267. Ho S.-M. Estrogen, progesterone and epithelial ovarian cancer / S.-M. Ho // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2003. – Vol. 1, № 73. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1186/1477-7827-1-73>. – Загл. с экрана.
268. Hoffmann M., Rak A., Ptak A. Bisphenol A and its derivatives decrease expression of chemerin, which reverses its stimulatory action in ovarian cancer cells / M. Hoffmann, A. Rak, A. Ptak // *Toxicol. Lett.* – 2018. – Vol. 291. – P. 61–69.
269. Hoffmann M., Gogola J., Ptak A. Adiponectin reverses the proliferative effects of estradiol and IGF-1 in human epithelial ovarian cancer cells by downregulating the expression of their receptors / M. Hoffmann, J. Gogola, A. Ptak // *Horm. Cancer.* – 2018. – Vol. 9, № 3. – P. 166–174.
270. Holzer H., Casper R., Tulandi T. A new era in ovulation induction / H. Holzer, R. Casper, T. Tulandi // *Fertil. and steril.* – 2006. – Vol. 85, № 2. – P. 277–284.
271. Serological and immunohistochemical HER-2/neu statuses do not correlate and lack prognostic value for ovarian cancer patients / M. Hoopmann, K. Sachse, M. M. Valter [et al.] // *Eur. J. Cancer.* – 2010. – Vol. 19. – P. 809–815.
272. Effects of long-term treatment with the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) agonist Decapeptyl and the LHRH antagonist Cetrorelix on the levels of pituitary LHRH receptors and their mRNA expression in rats / J. E. Horvath, A. M. Bajo, A. V. Schally [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2002. – Vol. 99, № 23. – P. 15048–15053.
273. Nuclear receptor coactivators and corepressors / K. B. Horwitz, T. A. Jackson, D. L. Bain [et al.] // *Mol. Endocrinol.* – 1996. – Vol. 10. – P. 1167–1177.
274. Differential network analysis reveals the genome-wide landscape of estrogen receptor modulation in hormonal cancers / T. H. Hsiao, Y. C. Chiu, P. Y. Hsu [et al.] // *Scien. Rep.* – 2016. – Vol. 14, № 6. – Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/srep23035>. – Загл. с экрана.
275. Association between tumor characteristic and HER2/neu by immunohistochemistry in 1362 women en with primary operable breast cancer / H. J. Huang, P. Neven, M. Drijkoningen [et al.] // *J. Clin. Pathol.* – 2005. – Vol. 58. – P. 611–616.
276. FSH inhibits ovarian cancer cell apoptosis by up-regulating surviving and down-regulating PDCD6 and DR5 / Y. Huang, H. Jin, Y. Liu [et al.] // *Endocrin. Rel. Cancer.* – 2010. – Vol. 18, № 1. – P. 13–26.
277. Luteinizing hormone compromises the *in vivo* anti-tumor effect of cisplatin on human epithelial ovarian cancer cells / Y. Huang, Y. Zhou, L. Xia [et al.] // *Oncol. Lett.* – 2018. – Vol. 15 № 3. – P. 3141–3146.
278. Identification of functional estrogen response elements in the gene coding for the potent angiogenic factor vascular endothelial growth factor / S. M. Hyder, Z. Nawaz, C. Chiappetta [et al.] // *Cancer Res.* – 2000. – Vol. 60, № 12. – P. 3183–3190.
279. Gi protein-mediated translocation of serine/threonine phosphatase to the plasma membrane and apoptosis of ovarian cancer cell in response to gonadotropin-releasing hormone antagonist cetrorelix / A. Imai, M. Sugiyama, T. Furui [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol.* – 2006. – Vol. 26, № 1. – P. 37–41.
280. Estrogen promotes ER-negative tumor growth and angiogenesis through mobilization of bone marrow-derived monocytes / V. Iyer, I. Klebba, J. McCready [et al.] // *Cancer Res.* – 2012. – Vol. 72, № 11. – P. 2705–2713.

281. HER-2/neu protein expression in breast cancer evaluated by immunohistochemistry / T. W. Jacobs, A. M. Gown, H. Yaziji [et al.] // *Am. J. Clin. Pathol.* – 2000. – Vol. 113. – P. 251–258.
282. Comparison of ID8 MOSE and VEGF-modified ID8 cell lines in an immunocompetent animal model for human ovarian cancer / M. M. Janat-Amsbury, J. W. Yockman, M. L. Anderson [et al.] // *Anticancer Res.* – 2006. – Vol. 26. – P. 2785–2790.
283. Global cancer statistics / A. Jemal, F. Bray, M. M. Center [et al.] // *CA Cancer J. Clin.* – 2011. – Vol. 61, № 2. – P. 69–90.
284. Follicle stimulating hormone-induced growth promotion and gene expression profiles on ovarian surface epithelial cells / Q. Ji, P. I. Liu, P. K. Chen [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2004. – Vol. 112. – P. 803–814.
285. Sex steroid hormone receptor expression affects ovarian cancer survival / J. M. Jönsson, N. Skovbjerg Arildsen, S. Malander [et al.] // *Transl. Oncol.* – 2015. – Vol. 8, № 5. – P. 424–433.
286. Activation of the estrogen receptor through phosphorylation by mitogen-activated protein kinase / S. Kato, H. Endoh, Y. Masuhiro [et al.] // *Science.* – 1995. – Vol. 270. – P. 1491–1494.
287. Estrogen receptor expression in benign breast epithelium and breast cancer risk / S. A. Khan, M. A. M. Rogers, K. K. Khurana [et al.] // *J. Nat. Cancer Inst.* – 1998. – Vol. 90. – P. 37–42.
288. Antitumor effect of GnRH agonist in epithelial ovarian cancer / J. H. Kim, D. C. Park, J. W. Kim [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 1999. – Vol. 74, № 2. – P. 170–180.
289. Mechanism of gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-I and -II-induced cell growth inhibition in ovarian cancer cells: role of the GnRH-I receptor and protein kinase C pathway / K. Y. Kim, K. C. Choi, N. Auersperg [et al.] // *Endocrin. Rel. Cancer.* – 2006. – Vol. 13. – P. 211–220.
290. King E. R. Steroid hormones and ovarian cancer / E. R. King, K. K. Wong [Электронный ресурс] // *Steroids – clinical aspect* / ed. by prof. H. Abduljabbar. – 2011. – P. 111–140. – Режим доступа: <http://www.intechopen.com/books/steroids-clinical-aspect/steroid-hormones-and-ovarian-cancer>. – Загл. с экрана.
291. Hormone replacement therapy and women with premature menopause a cancer survivorship issue / J. King, C. H. Wynne, L. Assersohn [et al.] // *Eur. J. Cancer.* – 2011. – Vol. 47, № 11. – P. 1623–1632.
292. Kramer S. Gonadotropin levels in ovarian cyst fluids: a predictor of malignancy? / S. Kramer, M. Leeker, W. Jager // *Int. J. Biol. Markers.* – 1998. – Vol. 13, № 3. – P. 165–168.
293. Hormone receptors as a marker of poor survival in epithelial ovarian cancer / M. van Kruchten, P. van der Marel, L. de Munck [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2015. – Vol. 138, № 3. – P. 634–639.
294. Land J. A. Ovulation, ovulation induction and ovarian carcinoma / J. A. Land // *Baillieres Clin. Obstet. Gynaecol.* – 1993. – Vol. 7. – P. 455–472.
295. Landen J. C. N. Early stages of the pathogenesis of ovarian cancer / J. C. N. Landen, M. J. Birrer, A. K. Sood // *J. Clin. Oncol.* – 2008. – Vol. 26, № 6. – P. 149–160.
296. Langdon S. P. Growth factors and ovarian cancer / S. P. Langdon, J. F. Smyth // *Endocrin. Rel. Cancer.* – 1998. – Vol. 5. – P. 283–291.
297. Langdon S. P. The importance of growth factors and steroid hormones in ovarian cancer / S. P. Langdon, D. Faratian, D. J. Harrison // *Ibid.* – 2009. – Vol. 32, № 11. – P. 623–624.
298. Lange C. A. Hypothesis: progesterone primes breast cancer cells for cross-talk with proliferative or antiproliferative signals / C. A. Lange, J. K. Richer, K. B. Horwitz // *Mol. Endocrinol.* – 1991. – Vol. 13. – P. 829–836.
299. Lange C. A. Making sense of cross-talk between steroid hormone receptors and intracellular signaling pathways: who will have the last word? / C. A. Lange // *Mol. Endocrinol.* – 2004. – Vol. 8. – P. 269–278.
300. Primary human ovarian epithelial cancer cells broadly express HER-2/neu at immunologically-detectable levels / E. Lanitis, D. Dangaj, I. S. Hagemann [et al.] // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7, № 11. – P. e49829.
301. Lau M. T. Gonadotropins induce tumor cell migration and invasion by increasing cyclooxygenases expression and prostaglandin E₂ production in human ovarian cancer cells / M. T. Lau, A. S. Wong, P. C. Leung // *Endocrinology.* – 2010. – Vol. 151, № 7. – P. 2985–2993.
302. 17 β -estradiol accelerates tumor onset and decreases survival in a transgenic mouse model of ovarian cancer / L. A. Laviolette, K. Garson, E. A. Macdonald [et al.] // *Endocrinology.* – 2010. – Vol. 151, № 3. – P. 929–938.
303. Predictive and prognostic protein biomarkers in epithelial ovarian cancer: recommendation for future studies / C. Le Page, D. G. Huntsman, D. M. Provencher [et al.] // *Cancer.* – 2010. – Vol. 2. – P. 913–954.

304. Biological characterization of ovarian cancer: prognostic and therapeutic implications / F. Legge, G. Ferrandina, V. Salutari [et al.] // *Ann. Oncol.* – 2005. – Vol. 16, № 4. – P. 95–101.
305. Assessment of fertility protection and ovarian reserve with GnRH antagonist in rats undergoing chemotherapy with cyclophosphamide / C. N. Lemos, F. M. Reis, G. N. Pena [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2010. – Vol. 8, № 51. – Режим доступа: <http://www.rbej.com/content/8/1/51>. – Загл. с экрана.
306. Steroid hormone receptor expression in ovarian cancer: progesterone receptor B as prognostic marker for patient survival / M. Lenhard, L. Tereza, S. Heublein [et al.] // *BMC Cancer.* – 2012. – Vol. 12, № 553. – Режим доступа: <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/12/553>. – Загл. с экрана.
307. A phase II evaluation of goserelin and bicalutamide in patients with ovarian cancer in second or higher complete clinical disease remission / D. Levine, K. Park, M. Juretzka [et al.] // *Cancer.* – 2007. – Vol. 110, № 11. – P. 2448–2456.
308. Li A. J. Estrogen and progesterone receptor subtype expression in normal and malignant ovarian epithelial cell cultures / A. J. Li, R. L. Baldwin, B. Y. Karlan // *Am. J. Obst. Gynecol.* – 2003. – Vol. 189, № 1. – P. 22–27.
309. Combination of a GnRH agonist with an antagonist prevents flare-up effects and protects primordial ovarian follicles in the rat ovary from cisplatin-induced toxicity: a controlled experimental animal study / X. Li, X. Kang, Q. Deng [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2013. – Vol. 11, № 16. – Режим доступа: <http://www.rbej.com/content/11/1/16>. – Загл. с экрана.
310. Aromatase inhibitors in ovarian cancer: is there a role? / Y. F. Li, W. Hu, S. Q. Fu [et al.] // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2008. – Vol. 18, № 4. – P. 600–614.
311. Surviving expression in ovarian cancer / Z. Liguang, L. Peishu, M. Honglun [et al.] // *Experim. Oncol.* – 2007. – Vol. 29, № 2. – P. 121–125.
312. The emerging epidemic of estrogen-related cancers in young women in a developing Asian country / C. H. Lin, Y. C. Chen, C. J. Chiang [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2012. – Vol. 130, № 11. – P. 2629–2637.
313. Nanog interaction with the androgen receptor signaling axis induce ovarian cancer stem cell regulation: studies based on the CRISPR/Cas 9 system / K. Ling, L. Jiang, S. Liang [et al.] // *J. Ovarian Res.* – 2018. – Vol. 11, № 1. – P. e36.
314. Gonadotropin-releasing hormone-II increases membrane type I metalloproteinase production via beta-catenin signaling in ovarian cancer cells / S. Ling Poon, M. T. Lau, G. L. Hammond [et al.] // *Endocrinology.* – 2011. – Vol. 152, № 3. – P. 764–772.
315. Prognosis and hormone receptor status in older and younger patients with advanced-stage papillary serous ovarian carcinoma / J. F. Liu, M. S. Hirsch, H. Lee [et al.] // *Ibid.* – 2009. – Vol. 115, № 3. – P. 401–406.
316. Liu N. The clinicopathological characteristics of «triple-negative» epithelial ovarian cancer / N. Liu, X. Wang, X. Sheng // *J. Clin. Pathol.* – 2012. – Vol. 63. – P. 240–243.
317. Lobo R. A. Menopause. Biology and pathobiology / R. A. Lobo, J. Kelsey, R. Marcus. – San Diego : Academic Press, 2000. – 672 p.
318. Løkkegaard E. C. L. Tibolone and risk of gynecological hormone sensitive cancer / E. C. L. Løkkegaard, L. S. Mørch // *Int. J. Cancer.* – 2018. – Vol. 142, № 12. – P. 2435–2440.
319. Losordo D. W. Estrogen and angiogenesis: a review / D. W. Losordo, J. M. Isner // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2001. – Vol. 21. – P. 6–12.
320. Circulating levels of sex steroid hormones and risk of ovarian cancer / A. Lukanova, E. Lundin, A. Akhmedkhanov [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2003. – Vol. 104, № 5. – P. 636–642.
321. Lukyanova N. Yu. Characteristics of homocysteine-induced multidrug resistance of human MCF-7 breast cancer cells and human A2780 ovarian cancer cells / N. Yu. Lukyanova // *Ibid.* – 2010. – Vol. 32, № 1. – P. 10–14.
322. Age related changes in follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, oestradiol and immunoreactive inhibin in women of reproductive age / J. MacNaughton, M. Banah, P. McCloud [et al.] // *Clin. Endocrinol.* – 1992. – Vol. 36. – P. 339–345.
323. Makar A. P. Hormone therapy in epithelial ovarian cancer / A. P. Makar // *Endocrin. Rel. Cancer.* – 2000. – Vol. 7. – P. 85–93.
324. Manna P. R. Dysregulation of aromatase in breast, endometrial, and ovarian cancers: an overview of therapeutic strategies / P. R. Manna, D. Molehin, A. U. Ahmed // *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* – 2016. – Vol. 144. – P. 487–537.

325. Marinas M. C. EGFR, HER-2/neu and Ki-67 immunoexpression in serous ovarian tumors / M. C. Marinas, G. Mogos, R. Ciurea // Rom J. Morphol. Embryol. – 2012. – Vol. 53, № 3. – P. 563–567.
326. Markman M. Перспективы в лечении рака яичников: как улучшить количество и качество жизни? / M. Markman // Архив онкологии. – 2003. – № 2. – С. 2–4.
327. Phase I trial of paclitaxel plus megestrol acetate in patients with paclitaxel-refractory ovarian cancer / M. Markman, A. Kennedy, K. Webster [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2000. – Vol. 6, № 11. – P. 4201–4204.
328. Activation of estrogen receptor α by estradiol and cisplatin induces platinum-resistance in ovarian cancer cells / S. Matsumura, T. Ohtaa, K. Yamanouchia [et al.] // Cancer Biol. Ther. – 2017. – Vol. 18, № 9. – P. 730–739.
329. HER-2/neu expression in ovarian carcinoma: caution and complexity in biomarker analysis / H. McCaughan, I. Um, S. P. Langdon [et al.] // J. Clin. Pathol. – 2012. – Vol. 65. – P. 670–671.
330. Prediagnostic circulating follicle stimulating hormone concentrations and ovarian cancer risk / M. A. McSorley, A. J. Alberg, D. S. Allen [et al.] // Int. J. Cancer. – 2009. – Vol. 125, № 3. – P. 674–679.
331. Mendelsohn M. E. The protective effects of estrogens on the cardiovascular system / M. E. Mendelsohn, R. H. Karas // N. Engl. J. Med. – 1999. – Vol. 340. – P. 1801–1811.
332. Identification of common mechanisms between endometriosis and ovarian cancer / Q. Meng, W. Sun, J. Jiang [et al.] // J. Assist. Reprod. Genet. – 2011. – Vol. 28. – P. 917–923.
333. Growth inhibition of human ovarian cancers by cytotoxic analogues of luteinizing hormone-releasing hormone / M. Miyazaki, A. Nagy, A. Schally [et al.] // J. Natl. Cancer Int. – 1997. – Vol. 89. – P. 1803–1809.
334. Significance of vascular endothelial growth factor in growth and peritoneal dissemination of ovarian cancer / S. M. Moghaddam, A. Amini, D. L. Morris [et al.] // Cancer Metastasis Rev. – 2012. – Vol. 31. – P. 143–162.
335. Moriarty K. Minireview: estrogen receptor-mediated rapid signaling / K. Moriarty, K. H. Kim, J. R. Bender // Endocrinology. – 2006. – Vol. 147, № 12. – P. 5557–5563.
336. Modulation of HER-2/neu is a marker of dynamic cell signaling in ovarian cancer: implications for pertuzumab sensitivity / Y. Nagumo, D. Faratian, P. Mullen [et al.] // Mol. Cancer Res. – 2009. – Vol. 7, № 9. – P. 1563–1571.
337. Nagy A. Targeting of cytotoxic luteinizing hormone-releasing hormone analogs to breast, ovarian, endometrial, and prostate cancers / A. Nagy, A. V. Schally // Biol. Reprod. – 2005. – Vol. 73, № 5. – P. 851–859.
338. An epidemiologic case-control study of ovarian cancer and reproductive factors / P. C. Nasca, P. Greenwald, S. Chorost [et al.] // Am. J. Epidemiol. – 1984. – Vol. 119. – P. 705–713.
339. Ness R. B. Possible role of ovarian epithelial inflammation in ovarian cancer / R. B. Ness, C. Cottreau // J. Natl. Cancer Inst. – 1999. – Vol. 91. – P. 1459–1467.
340. Nodin B. Immunohistochemical and molecular studies on ovarian cancer progression and prognosis : doctoral dissertation / Nodin B. ; the Faculty of Medicine, Lund University. – Sweden, 2013. – P. 46–48.
341. Increased androgen receptor expression in serous carcinoma of the ovary is associated with an improved survival / B. Nodin, N. Zendeirokh, J. Brändstedt [et al.] // J. Ovarian. Res. – 2010. – Vol. 3, № 14. – Режим доступа: <http://www.ovarianresearch.com/content/3/1/14>. – Загл. с экрана.
342. Androgens stimulate telomerase expression, activity and phosphorylation in ovarian adenocarcinoma cells / M. Nourbakhsh, A. Golestani, M. Zahrai [et al.] // Mol. Cell. Endocrinol. – 2010. – Vol. 330, № 1–2. – P. 10–16.
343. Prognostic values of estrogen and progesterone expression receptors in ovarian papillary serous carcinoma / S. Nourieh, Y. Zohreh, S. Shohreh [et al.] // Ir. J. Pathology. – 2009. – Vol. 4, № 1. – P. 9–12.
344. Molecular markers for cancer prognosis and treatment / S. Nowsheen, K. Aziz, M. I. Panayiotidis, A. G. Georgakilas // Cancer Letters. – 2012. – Vol. 327, № 1–2. – P. 142–152.
345. Obesity and the risk of epithelial ovarian cancer / C. M. Olsen, A. C. Green, D. C. Whiteman [et al.] // Eur. J. Cancer. – 2007. – Vol. 43, № 4. – P. 690–709.
346. Obesity and risk of ovarian cancer subtypes / C. M. Olsen, C. M. Nagle, D. C. Whiteman [et al.] // Endocrin. Rel. Cancer. – 2013. – Vol. 20, № 2. – P. 251–262.
347. Prevention of paclitaxel and cisplatin induced ovarian damage in rats by a gonadotropin-releasing hormone agonist / B. Ozcelik, C. Turkyilmaz, M. T. Ozgun [et al.] // Reprod. Biol. – 2010. – Vol. 93, № 5. – P. 1609–1614.

348. Clinical benefit and risk of death with endocrine therapy in ovarian cancer: a comprehensive review and meta-analysis / L. Paleari, S. Gandini, N. Provinciali [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2017. – Vol. 146, № 3. – P. 504–513.
349. Paleari L, DeCensi A. Endocrine therapy in ovarian cancer: where do we stand? / L. Paleari, A. DeCensi // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* – 2018. – Vol. 30, № 1. – P. 17–22.
350. Vascular endothelial growth factor expression in early stage ovarian carcinoma / P. Paley, K. Staskus, K. Gebhard [et al.] // *Cancer.* – 1997. – Vol. 80, № 1. – P. 98–106.
351. Pan Y. Endometrioid ovarian carcinoma benefits from aromatase inhibitors: case report and literature review / Y. Pan, M. S. Kao // *Curr. Oncol.* – 2010. – Vol. 17, № 6. – P. 82–85.
352. Hormonal therapy with letrozole for relapsed epithelial ovarian cancer. Long-term results of a phase II study / C. A. Papadimitriou, S. Markaki, J. Siapkarakas [et al.] // *Oncology.* – 2004. – Vol. 66, № 2. – P. 112–117.
353. Modulation of microRNA associated with ovarian cancer cells by genistein / L. P. Parker, D. D. Taylor, J. Kesterson [et al.] // *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* – 2009. – Vol. 30, № 6. – P. 616–621.
354. Patel S. Disruption of aromatase homeostasis as the cause of a multiplicity of ailments: a comprehensive review / S. Patel // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 2017. – Vol. 168. – P. 19–25.
355. Inherited variants in mitochondrial biogenesis genes may influence epithelial ovarian cancer risk / J. Permeth-Wey, Y. A. Chen, Y. Y. Tsai [et al.] // *Cancer Epidemiol. Biomarkers. Prev.* – 2011. – Vol. 20, № 6. – P. 1131–1145.
356. In ovarian cancer the prognostic influence of HER-2/neu is not dependent on the CXCR4/SDF-1 signaling pathway / D. Pils, A. Pinter, J. Reibenwein [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2007. – Vol. 96. – P. 485–491.
357. Diagnosis and therapy of vulvar dystrophy / G. Pinzger, K. Heim [et al.] // *Gynecol. Rundsch.* – 1991. – Vol. 31, № 2. – P. 225–229.
358. 37-kDa laminin receptor precursor mediates GnRH-II-induced MMP-2 expression and invasiveness in ovarian cancer cells / S. L. Poon, C. Klausen, G. L. Hammond [et al.] // *Ibid.* – 2011. – Vol. 25, № 2. – P. 327–338.
359. Gonadotropin-releasing hormone-II increases membrane type I metalloproteinase production via beta-catenin signaling in ovarian cancer cells / S. L. Poon, M. T. Lau, G. L. Hammond [et al.] // *Endocrinology.* – 2011. – Vol. 152, № 3. – P. 764–772.
360. The luteinizing hormone receptor: insights into structure-function relationships and hormone-receptor-mediated changes in gene expression in ovarian cancer cells / D. Puett, K. Angelova, M. R. da Costa [et al.] // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2010. – Vol. 329, № 1–2. – P. 47–55.
361. Raben D. Pituitary and gonadal desensitization after continuous luteinizing hormone infusion in normal females / D. Raben, Z. Menell // *J. Clin. Endocrin. and Metab.* – 1980. – Vol. 51, № 3. – P. 873–876.
362. Ratnatunga N. Hormone receptor expression and HER-2/neu amplification in breast carcinoma in a cohort of Sri-Lankans / N. Ratnatunga, L. V. C. Liyanapathirana // *Papers.* – 2007. – Vol. 52, № 4. – P. 133–136.
363. Expression of the forkhead box transcription factor FOXP1 is associated with estrogen receptor alpha, estrogen receptor beta and improved survival in familial breast cancers / M. Rayoo, M. Yan, E. A. Takano [et al.] // *J. Clin. Pathol.* – 2009. – Vol. 62, № 10. – P. 896–902.
364. Proximal events in signaling by plasma membrane estrogen receptors / M. Razandi, A. Pedram, S. T. Park [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278. – P. 2701–2712.
365. Mutant p53 promotes epithelial ovarian cancer by regulating tumor differentiation, metastasis, and responsiveness to steroid hormones / Y. A. Ren, L. K. Mullany, Z. Liu [et al.] // *Cancer Res.* – 2016. – Vol. 76, № 8 – P. 2206–2218.
366. Risk factors for invasive epithelial ovarian cancer: results from a Swedish case-control study / T. Riman, P. W. Dickman, S. Nilsson [et al.] // *Am. J. Epidemiol.* – 2002. – Vol. 156. – P. 363–373.
367. Endogenous androgens and risk of epithelial ovarian cancer: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) / S. Rinaldi, L. Dossus, A. Lukanova [et al.] // *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* – 2007. – Vol. 16, № 1. – P. 23–29.
368. Risch H. A. Parity, contraception, infertility, and the risk of epithelial ovarian cancer / H. A. Risch, L. D. Marrett, G. R. Howe // *Am. J. Epidemiol.* – 1994. – Vol. 140. – P. 585–597.
369. Risch H. A. Hormonal etiology of epithelial ovarian cancer, with a hypothesis concerning the role of androgens and progesterone (review) / H. A. Risch // *J. Natl. Cancer Inst.* – 1998. – Vol. 90. – P. 1774–1786.

370. A case-control study of oral contraceptive use and invasive epithelial ovarian cancer / L. Rosenberg, J. R. Palmer, A. G. Zauber [et al.] // *Am. J. Epidemiol.* – 1994. – Vol. 139. – P. 654–661.
371. Loss of ovarian function promotes angiogenesis in human ovarian carcinoma / Y. S. Schiffenbauer, R. Abramovitch, G. Meir [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sc. USA.* – 1997. – Vol. 94. – P. 13203–13208.
372. Gonadotropin stimulation of MLS human epithelial ovarian carcinoma cells augments cell adhesion mediated by CD44 and by alpha(v)-integrin / Y. S. Schiffenbauer, G. Meir, M. Maoz [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2002. – Vol. 84. – P. 296–302.
373. Epithelial ovarian cancer risk among women with polycystic ovary syndrome / J. M. Schildkraut, P. J. Schwingl, E. Bastos [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 1996. – Vol. 88. – P. 554–559.
374. Height, body mass index, and ovarian cancer / L. J. Schouten, C. Rivera, D. J. Hunter [et al.] // *Cancer Epidemiol. Biomark. Prevent.* – 2008. – Vol. 17, № 4. – P. 902–912.
375. The molecular mechanisms of action of the endocrine disrupting chemical bisphenol A in the development of cancer / A. Shafei, M. M. Ramzy, A. I. Hegazy [et al.] // *Gene.* – 2018. – Vol. 647. – P. 235–243.
376. The association between reproductive and hormonal factors and ovarian cancer by estrogen-A and progesterone receptor status / A. L. Shafir, M. S. Rice, M. Gupta [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2016. – Vol. 143, № 3. – P. 628–635.
377. Androgen-related expression of G-proteins in ovarian cancer / L. A. Sheach, E. M. Adeney, A. Kucukmetin [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2009. – Vol. 101, № 3. – P. 498–503.
378. Hormone receptors expression in ovarian cancer taking into account menopausal status: a retrospective study in Chinese population / F. Shen, X. Zhang, Y. Zhang [et al.] // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, № 48. – P. 84019–84027.
379. The coupling of epidermal growth factor receptor down regulation by 1-alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 to the hormone-induced cell cycle arrest at the G1-S checkpoint in ovarian cancer cells / Z. Shen, X. Zhang, J. Tang [et al.] // *Ibid.* – 2011. – Vol. 338, № 1–2. – P. 58–67.
380. Dihydrotestosterone induces p27 degradation via direct binding with SKP2 in ovarian and breast cancer / P. Shi, Y. Zhang, X. Tong [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* – 2011. – Vol. 28, № 1. – P. 109–114.
381. Shi W. F. Estrogen plays a critical role in AAV2-mediated gene transfer in ovarian cancer / W. F. Shi, J. S. Bartlett // *Acta. Pharmacol. Sin.* – 2008. – Vol. 29, № 12. – P. 1440–1450.
382. Estrogen regulation of transforming growth factor-alpha in ovarian cancer / B. J. Simpson, S. P. Langdon, G. J. Rabiasz [et al.] // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 1998. – Vol. 64, № 3–4. – P. 137–145.
383. Estrogen – the gold, the bad and the unexpected / E. R. Simpson, M. Misso, N. Hewitt [et al.] // *Endocr. Rev.* – 2005. – Vol. 26. – P. 322–330.
384. Smyth J. F. Hormone therapy effective in ovarian cancer / J. F. Smyth // *Clin. Cancer Res.* – 2007. – Vol. 13. – P. 3617–3622.
385. Antiestrogen therapy is active in selected ovarian cancer cases: the use of letrozole in estrogen receptor-positive patients / J. F. Smyth, C. Gourley, G. Walker [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2007. – Vol. 13, № 12. – P. 3617–3622.
386. Gonadotropin-releasing hormone and ovarian cancer: a functional and mechanistic overview / W. K. So, J. C. Cheng, S. L. Poon [et al.] // *FEBS J.* – 2008. – Vol. 275, № 22. – P. 5496–5511.
387. Tissue-specific pathways for estrogen regulation of ovarian cancer growth and metastasis / M. A. Spillman, N. G. Manning, W. W. Dye [et al.] // *Cancer Res.* – 2010. – Vol. 70, № 21. – P. 8927–8936.
388. Epithelial growth factor receptor status in primary and recurrent ovarian cancer / S. Stadlmann, U. Gueth, U. Reiser [et al.] // *Mol. Pathol.* – 2006. – Vol. 19. – P. 607–610.
389. Vascular endothelial growth factor splice variants and their prognostic value in breast and ovarian cancer / M. Stimpfl, D. Tong, B. Fasching [et al.] // *Clin. Cancer Res.* – 2002. – Vol. 8, № 7. – P. 2253–2259.
390. Progesterone induces apoptosis in TRAIL-resistant ovarian cancer cells by circumventing c-FLIPL overexpression / V. Syed, K. Mukherjee, S. Godoy-Tundidor [et al.] // *J. Cell. Biochem.* – 2007. – Vol. 102, № 2. – P. 442–452.
391. Sylvia M. T. The expression of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2/neu, p53 and Ki-67 in epithelial ovarian tumors and its correlation with clinicopathologic variables / M. T. Sylvia, S. Kumar, P. Dasari // *Pathol. Microbiol.* – 2012. – Vol. 55, № 1. – P. 33–37.
392. Taplin M. E. The endocrinology of prostate cancer / M. E. Taplin, S. M. Ho // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2001. – Vol. 86. – P. 3467–3477.

393. Roles of luteinizing hormone / chorionic gonadotropin receptor in anchorage-dependent and -independent growth in human ovarian surface epithelial cell lines / H. Tashiro, H. Katabuchi, M. Begum [et al.] // *Cancer Sci.* – 2003. – Vol. 94. – P. 953–959.
394. Overexpression of mammaglobin B in epithelial ovarian carcinomas / R. A. Tassi, E. Bignotti, E. Rossi [et al.] // *Ibid.* – 2007. – Vol. 105, № 3. – P. 578–585.
395. Clinical significance of hormonal receptor status of malignant ovarian tumors / I. G. Tkalia, L. I. Vorobyova, V. S. Svintsitsky [et al.] // *Experim. Oncol.* – 2014. – Vol. 36, № 2. – P. 125–133.
396. Increase of antitumor activity of cisplatin using agonist of gonadotropin-releasing hormone and inhibitor of aromatase on the model of ascites ovarian tumor / I. G. Tkalia, L. I. Vorobyova, A. N. Grabovoy [et al.] // *Experim. Oncol.* – 2014. – Vol. 36, № 3. – P. 184–190.
397. The antitumor efficacy of cisplatin in combination with triptorelin and exemestane therapy for an ovarian cancer ascites model in Wistar rats / I. G. Tkalia, L. I. Vorobyova, A. N. Grabovoy, V. S. Svintsitsky, T. O. Tarasova // *Experim. Oncol.* – 2015. – Vol. 37, № 1. – P. 30–35.
398. Prognostic significance of hormonal receptor status of malignant ovarian tumors / I. G. Tkalia, V. S. Svintsitsky, S. V. Nespryadko, N. Yu. Lukyanova, and V. F. Chekhun // *Journal of Pharmacy and Pharmacology* – 2017. – Vol. 5, № 6. – P. 323–339.
399. Global cancer statistics, 2012 / L. A. Torre, F. Bray, R. L. Siegel [et al.] // *CA Cancer J. Clin.* – 2015. – Vol. 65, № 2. – P. 87–108.
400. Targeting the heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor in ovarian cancer therapy / H. Tsujioka, F. Yotsumoto, S. Hikita [et al.] // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* – 2011. – Vol. 23, № 1. – P. 24–30.
401. HER-2/neu status in ovarian carcinomas: a multicenter GINECO study of 320 patients / M. Tuefferd, J. Couturier, F. Penault-Llorca [et al.] // *PLoS One.* – 2007. – Vol. 2, № 11. – P. e1138.
402. Effect of estradiol on the expression of angiogenic factors in epithelial ovarian cancer / M. Valladares, F. Plaza-Parrochia, M. Lépez [et al.] // *Histol. Histopathol.* – 2017. – Vol. 32, № 11. – P. e11874.
403. G protein-coupled receptor 30 expression is up-regulated by EGF and TGF- α in estrogen receptor α -positive cancer cells / A. Vivacqua, R. Lappano, P. De Marco [et al.] // *Mol. Endocrinol.* – 2009. – Vol. 23, № 11. – P. 1815–1826.
404. Voutsadakis I. A. Hormone receptors in serous ovarian carcinoma: prognosis, pathogenesis, and treatment considerations / I. A. Voutsadakis // *Clin. Med. Insights Oncol.* – 2016. – Vol. 29, № 10. – P. 17–25.
405. Clinical factors and biomarkers in ovarian tumors development / C. D. Vrabie, A. Petrescu, M. Waller [et al.] // *Rom J. Morphol. Embryol.* – 2008. – Vol. 49, № 3. – P. 327–338.
406. Estrogen-regulated gene expression predicts response to endocrine therapy in patients with ovarian cancer / G. Walker, K. MacLeod, A. R. Williams [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 2007. – Vol. 106, № 3. – P. 461–468.
407. VEGF expression and enhanced production by gonadotropins ovarian epithelial tumors / J. Wang, F. Luo, J. J. Lu [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 2002. – Vol. 97. – P. 163–167.
408. Wang P. H. Androgens and ovarian cancers / P. H. Wang, C. Chang // *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* – 2004. – Vol. 25, № 2. – P. 157–163.
409. Weinberg O. K. New approaches to reverse resistance to hormonal therapy in human breast cancer / O. K. Weinberg, D. C. Marquez-Garbon, R. Piatres // *Drug Resist. Up-dates.* – 2005 – Vol. 8. – P. 219–233.
410. Oral contraceptive use and ovarian cancer risk among carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations / A. S. Whittemore, R. R. Balise, P. D. Pharoah [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2004. – Vol. 91, № 11. – P. 1911–1915.
411. Whittemore A. S. Characteristics relating to ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12 US case-control studies. II. Invasive epithelial ovarian cancers in white women. Collaborative Ovarian Cancer Group / A. S. Whittemore, R. Harris, J. Itnyre // *Am. J. Epidemiol.* – 1992. – Vol. 136. – P. 1184–1203.
412. Williams C. Tamoxifen for relapse of ovarian cancer / C. Williams, I. Simera, A. Bryant // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2010. – Vol. 17, № 3. – P. CD001034.
413. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in epithelial ovarian neoplasms correlation with clinicopathology and patient survival, and analysis of serum VEGF levels / S. Yamamoto, Y. Konishi, H. Kuroda [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 1997. – Vol. 76. – P. 1221–1227.
414. Yen S. S. C. Reproductive endocrinology : пер. с англ. / S. S. C. Yen, R. B. Jaffe ; под. ред. И. И. Дедова. – М. : Медицина, 1998. – 704 с.

415. Subtype specific elevated expression of hyaluronidase-1 (HYAL-1) in epithelial ovarian cancer / P. H. Yoffou, L. Edjekouane, L. Meunier [et al.] // PLoS One. – 2011. – Vol. 6, № 6. – P. e20705.
416. Development of engineered antibodies specific for the Müllerian inhibiting substance type II receptor: a promising candidate for targeted therapy of ovarian cancer / Q. A. Yuan, H. H. Simmons, M. K. Robinson [et al.] // Mol. Cancer Ther. – 2006. – Vol. 5, № 8. – P. 2096–2105.
417. A new irreversible aromatase inhibitor, 6-methylenandrosta-1,4-diene-3,17-dione (FCE 24304): antitumor activity and endocrine effects in rats with DMBA-induced mammary tumors / T. Zaccaro, D. Giudici, P. Lombardi [et al.] // Cancer Chemotherapy Pharmacology. – 1989. – Vol. 23, № 1. – P. 47–50.
418. Comparison of the effects of the irreversible aromatase inhibitor exemestane with atamestane and MDL 18962 in rats with DMBA-induced mammary tumors / T. Zaccaro, D. Giudici, G. Ornati [et al.] // Eur. J. Cancer. – 1991. – Vol. 27, № 9. – P. 1145–1150.
419. Zhang F. Correlations of Bmi-1 expression and telomerase in ovarian cancer tissues / F. Zhang, L. Sui, Tao Xin // Ibid. – 2008. – Vol. 30, № 1. – P. 70–74.
420. Retro-inverso follicle-stimulating hormone peptide-mediated polyethylenimine complexes for targeted ovarian cancer gene therapy / M. Zhang, J. Wang, Q. Cai [et al.] // Drug. Deliv. – 2018 – Vol. 25, № 1. – P. 995–1003.
421. Zhang S. Comparisons of gene coexpression network modules in breast cancer and ovarian cancer / S. Zhang // BMC Syst. Biol. – 2018. – Vol. 12, № 1. – P. 75–87.
422. Ovarian epithelial tumor growth promotion by follicle-stimulating hormone and inhibition of the effect by luteinizing hormone / W. Zheng, J. J. Lu, F. Luo [et al.] // Gynecol. Oncol. – 2000. – Vol. 76. – P. 80–88.
423. FSH receptor binding inhibitor restrains follicular development and possibly attenuates carcinogenesis of ovarian cancer through down-regulating expression levels of FSHR and ER β in normal ovarian tissues / G. Zhuandi, C. Tuanjie, L. Luju [et al.] // Gene. – 2018. – Vol. 668. – P. 174–181.

Ткаля Юлия Георгиевна

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ГОРМОНАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ЯИЧНИКА

Формат 84×108/16. Папір крейд. Гарнітура Галеон.
Фіз. др. арк. 13,25. Умовн. друк. арк. 22,26.
Тираж 300 прим.

Видавництво «Кварт» м. Львів
Свідоцтво про державну реєстрацію
ДК № 2060 від 13.01.2005 р.