

THE WAY TO ASSESS THE EFFICIENCY OF THE NEO-ADJUVANT POLYCHEMOTHERAPY OF PATIENTS WITH THE OVARIAN CANCER AT THE III-IV STAGES

M. Knyazyeva¹, Doctor of Biological sciences, Full Professor
A. Prokopyuk², Candidate of Medical sciences, gynecologic
oncologist

T. Pavlova³, Doctor of Medical sciences, Full Professor, President
Kharkiv National University named after V.N Karazin, Ukraine¹
Kharkov Regional Clinical Oncology Center, Ukraine²
Public Organization «The New Thinking in Medicine», Ukraine³

It was shown that ultrasonic, morphological and clinical-biochemical criteria can be used to assess the ovarian cancer (at late stages) neo-adjuvant polychemotherapy efficiency. The diagnostic complex and algorithm of the III-IV stage ovarian cancer treatment were introduced in this work.

Keywords: ovarian cancer of III-IV stages, neo-adjuvant chemotherapy efficiency, ultrasound criteria, glycosaminoglycans, oxuprolin, tyrosine, treatment efficiency assessment, Ki-67 expression.

Conference participants,
National championship in scientific analytics

Как известно, до 80% больных РЯ поступают в специализированные онкологические учреждения для первичного лечения с III-IV стадиями заболевания. Причем у трети этих больных опухолевый процесс имеет местно-распространенный характер, в связи с чем применение хирургического метода лечения на первом его этапе становится проблематичным [2,6]. Состояние больных в большинстве случаев осложняется наличием отдаленных метастазов, а также асцита и/или плеврита. Лечение таких больных начинают с проведения неoadъювантной полихимиотерапии (НПХТ) (1-6 курсов), что приводит клинически к уменьшению опухолевого конгломерата, снижению объема или исчезновению жидкости в брюшной и плевральной полостях, торможению роста или исчезновению метастазов различной локализации [5, 6]. Одним из актуальнейших подходов к повышению эффективности лечения является его индивидуализация, что применительно к НПХТ в настоящее время сводится к индивидуальному подбору оптимального количества курсов НПХТ. Препятствием к решению этой задачи до недавнего времени было отсутствие четких количественных критериев оценки эффектив-

ности НПХТ (в условиях отсутствия гистологического материала), в связи с чем целью настоящего исследования было- разработать способ оценки эффективности лечения больных РЯ III-IV стадий путем подбора комплекса количественных критериев оценки эффективности НПХТ в процессе ее проведения на основе изучения клинических, ультразвуковых, биохимических и морфологических характеристик.

Материалы и методы

Были обследованы 146 больных РЯ с III-IV стадий. Из числа обследованных I (основную) группу составляли 82 больные, которым на первом этапе комбинированного лечения проводилась НПХТ (1-6 курсов), на втором – операция с последующей полихимиотерапией (НПХТ+ОП). II (контрольную) группу составили 44 больные, которым на первом этапе комбинированного лечения была проведена операция, а в послеоперационном периоде проведено до 6 курсов полихимиотерапии (ОП+ПХТ). III группа – 20 больных РЯ с III-IV стадий, которым назначена только ПХТ (6 курсов) в связи с наличием противопоказаний для оперативного вмешательства (группа – контрольная к данным по выживаемости). Из

СПОСОБ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ III-IV СТАДИЙ

Князева М.В.¹, д-р биол. наук, проф.
Прокопюк А.В.², канд. мед. наук, врач-онкогинеколог
Павлова Т.Д.³, д-р мед. наук, проф., президент
Харьковский национальный университет
им. В.Н. Каразина, Украина¹
Харьковский областной клинический
онкологический центр, Украина²
Общественная организация
«Новое мышление в медицине», Украина³

Показано использование, ультразвуковых, морфологических и клинико-биохимических критериев оценки эффективности неoadъювантной полихимиотерапии больных раком яичников поздних стадий. Представлен диагностический комплекс и алгоритм лечения, повышающие его эффективность у больных раком яичников III-IV стадий.

Ключевые слова: неoadъювантная полихимиотерапия (НПХТ), рак яичников (РЯ), количественные УЗИ-критерии оценки эффективности лечения, гликозаминогликаны (ГАГ), оксипролин, тирозин, СА125, экспрессия Ki-67.

Участники конференции,
Национального первенства по научной аналитике

числа злокачественных эпителиальных опухолей яичников обследованных больных преобладали серозные аденокарциномы, составляя 60,3%. УЗИ органов малого таза и брюшной полости проводили на аппарате «Aloka» модели SSD 1100, 500 (Япония). Использовали следующую схему описания: локализация, размеры, длина, ширина, передне-задний размер; внутренняя эхоструктура и звукопроводимость. Оценивали размеры опухоли и метастазов различной локализации, метастатические изменения сальника, наличие или отсутствие асцитической жидкости до начала лечения и в динамике проведения НПХТ (после 1-2, 3-4, 5-6 курсов). Морфологические исследования проводили универсальными общепринятыми методами. Верификацию злокачественных опухолей яичников проводили по Международной гистологической классификации опухолей ВОЗ (2002). Биохимические исследования включали определение в сыворотке крови суммарного содержания ГАГ и их фракций по методике М.Р. Штерн и др., карбогидратного антигена – СА-125 иммуноферментным методом. В ткани опухоли определяли суммарное содержание ГАГ и их фракций по методике S. Schiller в модификации

Л.И. Слущкого, а также оксипролин по Н. Stegemann, тирозин по методу Л.И. Слущкого, глюкозамин по N.P. Voas и гексурановые кислоты по Bitter T. и Muir H.M. Биологический материал для биохимических исследований отбирался в подгруппе больных РЯ III-IV стадий с серозной аденокарциномой, наиболее многочисленной подгруппе. В качестве контроля в исследовании биохимических параметров крови и тканей опухолей использовались доброкачественные опухоли яичников (ДОЯ) 25 больных и сыворотка крови 30 здоровых женщин соответствующего возраста.

Для характеристики эффективности лечения больных оценивали: частоту возникновения ремиссии, длительность безрецидивного периода и выживаемость через 1-3 года. Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием программ STATGRAPHICS Plus 5,0; SPSS for Windows Release 10.0.5, пакета программ Excel 2003. Использовали критерии Стьюдента, Фишера, корреляционный анализ. Статистически значимым принимали условие $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

В соответствии с результатами УЗИ структура опухоли до лечения была отмечена как опухолевый конгломерат неправильной формы, неоднородной структуры (кистозно-солидная структура – 31 больная (30,4%), преимущественно солидная структура – 45 больных (44,1%), с нечеткими бугристыми контурами, размерами от $180 \times 130 \times 100$ до $90 \times 60 \times 40$ мм. Если опухоль развивалась в неувеличенных яичниках (26 больных – 25,5%), в их структуре определялись нечетко выраженные признаки: «пятнистые» участки с отражениями пониженной интенсивности. Ультразвуковое изображение при этом соответствовало солидному образованию. Иногда отмечались холмистые очертания яичника с отражениями повышенной интенсивности в виде бляшек по его поверхности.

В ряде случаев отмечалось наличие множественных перегородок и эховключений, неоднородных по экоструктуре, расположенных беспорядочно, неравномерность структуры опу-

холевого образования, чередование жидкостного компонента с плотными включениями в виде сосочковых разрастаний по внутренней и внешней поверхности капсулы, «размытость» контуров опухоли. В 86,3% случаев оказывалась свободная асцитической жидкость в брюшной полости. С увеличением количества курсов НПХТ от 1-2 до 3-4 и 5-6 размеры конгломерата уменьшались на 10-15%, 20-30% до значений менее 50% от первоначальных, соответственно. Структура опухоли становилась более гетерогенной за счет участков повышенной экзогенности, контур – более четкий и бугристый. Если до лечения обнаруживалась асцитическая жидкость (1-10 л), то под действием НПХТ асцитическая жидкость, как и метастатический плеврит, не выявлялась практически у всех больных после 1-2 курсов. Метастаз в ректо-влагалищной перегородке уменьшался в среднем от 65×45 мм после 1-2 курсов, до 45×40 мм после 3-4 курсов и до 20 мм и менее в диаметре после 5-6 курсов. Толщина сальника по мере увеличения количества курсов НПХТ от 1-2 до 5-6 уменьшалась на 1-3 см. Подкапсульные метастазы в печени определялись как округлой формы образования от 0,5 до 5,0 см в диаметре, неоднородной структуры. Под действием НПХТ размеры образования уменьшались, очертания опухоли могли полностью исчезать. Была отмечена следующая динамика: после 1-2 курсов метастазы в среднем уменьшались на 10-20%, в структуре образования появлялись зоны с высокой экзогенностью; после 3-4 курсов, размеры образования уменьшались на 40-60%, а после 5-6 курсов часто исчезали. Подкапсульные метастазы в печени после 5-6 курсов НПХТ у части больных уменьшались в 1,7-2,5 раза, а у ряда больных – исчезали.

Результаты УЗИ подтверждались данными, полученными при ревизии органов малого таза и брюшной полости во время операции.

Морфологические изменения, выявленные при анализе ткани опухоли больных РЯ III-IV стадий после проведенной операции, которой предшествовала НПХТ (1-2, 3-4, 5-6 курсов) подтвердили выводы, полученные при

обобщении УЗИ-характеристик.

Было показано, что наиболее чувствительными к количеству курсов НПХТ были серозные эпителиальные опухоли с низкой и умеренной дифференцировкой, степень выраженности терапевтического эффекта возрастала с увеличением количества курсов НПХТ. Это подтверждается появлением расширенных очагов некроза в опухоли, а также апоптоза опухолевых клеток в различных стадиях их гибели. По мере увеличения количества курсов НПХТ в опухоли появлялись типичные апоптотические структуры в виде «тутовой ягоды» с пустыми ядрами, которые имели только кариолемму.

Исследование Ki-67 – молекулярно-биологического маркера пролиферации клеток, было проведено на примере серозных аденокарцином яичников. Проллиферативную активность оценивали как процент Ki-67-позитивных клеток от общего количества опухолевых клеток. Средняя пролиферативная активность серозного РЯ без НПХТ составила 40,3%, что достоверно выше, чем таковая после проведения НПХТ – 11,8% ($p < 0,05$). Проллиферативная активность клеток (индекс пролиферации- ИП) был достоверно выше в низкодифференцированных опухолях ($68 \pm 1,18\%$) по сравнению с высокодифференцированными опухолями ($21 \pm 1,09\%$) ($p < 0,05$). Под действием химиопрепаратов пролиферативная активность в серозных аденокарциномах угасает- чем более чувствительна опухоль к лечению, тем меньше ИП.

Результаты исследования биохимических параметров крови и тканей опухолей больных РЯ III-IV стадий показали, что развитие ракового процесса у этих больных сопровождается повышением содержания суммарных ГАГ, I (F1 – содержит хондроитин-6-сульфат), II (F2 – содержит хондроитин-4-сульфат и дерматан-сульфат) и III (F3 – содержит гепарин, гепаран-сульфат, кератан-сульфат) фракций ГАГ в сыворотке крови по сравнению с нормой. Содержание суммарных ГАГ, I и II фракций, суммарных хондроитинсульфатов у больных РЯ было выше, чем у больных с ДОЯ. В связи с тем, что клинически злокачествен-

ная опухоль яичников отличается от доброкачественной способностью к инвазии и метастазированию, которые сопровождаются повышением количества соединительнотканых структур, значительное повышение концентрации суммарных ГАГ и суммарных хондроитинсульфатов в сыворотке крови в ходе развития опухоли можно расценить как признак злокачественности. Были установлены снижение содержания суммарных ГАГ и отдельных фракций до значений ниже, чем при РЯ до лечения (в отдельных случаях до нормы) после разного количества курсов НПХТ, а также нормализация величин различных соотношений суммарных ГАГ и их фракций: $K1 = \sum \text{ГАГ}/F1$; $K2 = \sum \text{ГАГ}/F2$; $K3 = \sum \text{ГАГ}/F3$; $K4 = \sum F2 + F3/F1$, после применения 5-6 курсов. Это возможно интерпретировать как результат восстановления под влиянием НПХТ тканевых барьеров и стенок сосудов, разрушенных при инвазии опухолевых клеток в ходе развития ракового процесса. Нормализация значений указанных соотношений суммарных ГАГ и их фракций в сочетании с результатами клинических наблюдений и установленных изменений УЗИ- характеристик могут свидетельствовать об эффективности НПХТ на данном этапе лечения больных.

Было установлено, что после воздействия НПХТ на раковую опухоль яичника в ней отмечается повышение содержания коллагеновых белков (по оксипролину) и снижение содержания неколлагеновых белков (по тирозину). Сопоставление изучаемых показателей при разном количестве курсов НПХТ выявило, что исходный уровень содержания оксипролина в опухоли у больных РЯ ($0,75 \pm 0,014$ г/100 г сухой ткани) был ниже, чем в опухоли, подвергнутой НПХТ. Это отличие становится достоверно значимым ($P < 0,05$) после 3-4 курсов ($0,797 \pm 0,015$ г/100 г) сухой ткани и усугубляется после 5-6 курсов НПХТ ($0,81 \pm 0,011$ г/100 г сухой ткани). Содержание тирозина при этом снижалось до $8,2 \pm 0,6$ г/100 г и $7,54 \pm 0,5$ г/100 г после 3-4 и 5-6 курсов НПХТ, соответственно, от значения $10,3 \pm 0,7$ г/100 г сухой ткани, обнаруженного при РЯ до лечения. Содержание оксипролина

в ДОЯ составляло $0,51 \pm 0,01$ г/100 г сухой ткани, а тирозина – $7,65 \pm 0,5$ г/100 г сухой ткани, что достоверно ниже ($P < 0,05$), чем при РЯ. Изучение содержания указанных метаболитов в ткани опухоли, полученной после циторедуктивной операции, показало, что по мере увеличения количества курсов НПХТ в опухоли наблюдается усиленное развитие стромы (увеличение содержания оксипролина свыше 150% от уровня ДОЯ) и тормозится развитие паренхимы (снижение содержания тирозина ниже 120% от уровня ДОЯ), что можно рассматривать в качестве признака благоприятного прогноза течения заболевания.

Результаты исследования содержания СА-125, у больных РЯ III-IV стадий в подгруппе с серозными аденокарциномами подтвердило достоверное снижение этого метаболита от $501,8 \pm 21,50$ МЕ/мл при РЯ до лечения до $18,2 \pm 0,42$ МЕ/мл после 5-6 курсов НПХТ (до 9,6 – 3,6% от исходного уровня).

При оценке результатов эффективности лечения больных РЯ III-IV стадий в зависимости от количества проведенных курсов НПХТ было установлено, что частота возникновения ремиссии в контрольной группе больных без оперативного вмешательства составляла всего 20% от исходного (4 случая из 20). После 1-2, 3-4 и 5-6 курсов НПХТ с последующей операцией частота возникновения ремиссии была достоверно выше и составляла 70,6% (24 случая из 32), 71,4% (20 случаев из 28), 65% (13 из 20) соответственно ($p < 0,05$). В группе больных с операцией на первом этапе частота возникновения ремиссии составила 72,7% (32 случая из 44), что достоверно не отличалось от результатов в группах по 1-2, 3-4, 5-6 курсов НПХТ. Продолжительность безрецидивного периода в контрольной группе больных без оперативного вмешательства составляла $6,2 \pm 0,14$, то есть достоверно ниже ($p < 0,001$), чем в группах больных, которым на первом этапе лечения проводилась НПХТ (1-2, 3-4, 5-6). Результаты продолжительности безрецидивного периода в последней достоверно не отличались от таковых в группе больных с оперативным вмешательством на пер-

вом этапе лечения. Установлено, что выживаемость больных через 1 год в контрольной группе без оперативного вмешательства была достоверно ниже, чем в группах больных после НПХТ. Результаты выживаемости в последних достоверно не отличались от таковых в группе больных с операцией на первом этапе лечения. Установлено, что выживаемость больных через 2 года в контрольной группе без операции была нулевой, а в группах больных после 1-2, 3-4, 5-6 курсов НПХТ была выше и составляла 44,1%, 46,4%, 35%, соответственно, и достоверно не отличалась от результатов в группе с операцией на первом этапе. 3-летняя выживаемость в группе больных с разным количеством курсов НПХТ (1-2, 3-4, 5-6) составляла 29,4%, 28,6%, 20% соответственно и достоверно не отличалась от результатов в группе с операцией на первом этапе.

Таким образом, выживаемость больных РЯ III-IV стадий с применением разного количества курсов (1-2, 3-4, 5-6) НПХТ достоверно повышалась от уровня показателей в группе без оперативного вмешательства до уровня показателей эффективности лечения при варианте ОП + ПХТ.

Результаты проведенных исследований позволили сформировать диагностический комплекс и сформулировать способ оценки эффективности лечения больных РЯ III-IV стадий, который включает проведение НПХТ с дальнейшим исследованием биологического материала, который отличается тем, что НПХТ проводят курсами от 1 до 6, при этом после каждого курса определяют комплекс показателей: размеры опухолевого конгломерата, размеры метастатической опухоли в ректо-влагалищной перегородке, размеры субкапсулярных метастазов в печени, объем асцитической жидкости, уровень опухолевого маркера СА-125, суммарных сульфатированных ГАГ, суммарных хондроитинсульфатов в сыворотке крови, далее, на основании полученных данных определяют коэффициенты $K1, K2, K3$ как соотношение суммарных сульфатированных ГАГ и, соответственно, содержания первой (F1), второй (F2), третьей F3 фракций ГАГ, и $K4$, как соотношение содержания суммы второй и третьей фрак-

ций к величине первой фракции, где F1 – содержит хондроитин-6-сульфат, F2 – содержит хондроитин-4-сульфат и дерматансульфат, F3 – содержит гепарин, гепаран-сульфат и кератан-сульфат, а на послеоперационном этапе определяют в опухолях лечебный патоморфоз, экспрессию маркера пролиферации Ki-67, содержание оксипролина и тирозина, и при изменении размеров опухолевого конгломерата до 60 – 20%, размеров метастатической опухоли в ректо-влагалищной перегородке до 70 – 20%, размеров субкапсулярных метастазов в печени на 40% и более, объема асцитической жидкости до 0, уровня опухолевого маркера СА125 до 9,6 – 3,6% от исходного уровня, суммарных ГАГ и суммарных хондроитинсульфатов F1, F3, K1, K2, K3, K4 до нормы, уменьшении F2 на 25-35% от исходного уровня, наличии лечебного патоморфоза, умеренной или выраженной экспрессии Ki-67 (индекс пролиферации меньше или равен 40%), повышении содержания оксипролина до уровня 150% и более, снижении содержания тирозина до уровня 120% и менее, в сравнении с содержанием в ДОЯ, оценивают эффективность влияния НИХТ на течение опухолевого процесса.

References:

1. Bohman Ja.V. Rukovodstvo po onkoginekologii [Guidance on oncogynecology], Ja.V. Bohman., - Sankt-Peterburg., Foliant, 2002., 540 P.
2. Vinokurov V.L. Rak jaichnikov: zakonornosti metastazirovaniya i vybor adekvatnogo lecheniya bol'nyh [Ovarian cancer: patterns of metastasis and selection of an adequate patients treatment], V.L. Vinokurov., - Sankt-Peterburg., FOLIANT, 2004., 336 P.
3. Volkov A.E. Ul'trazvukovaya diagnostika v akusherstve i ginekologii [Ultrasound diagnosis in obstetrics and gynecology], A.E. Volkov., - Moskva., Feniks, 2009., 477 P.
4. Vorobjova L.I. Proekt standartnogo hirurgichnogo protokolu u hvorih na puhlini yaichniha [Project

of the standard surgical protocol among patients with tumors of the ovary], L.I. Vorobjova, V.S. Svincic'kij., Zdorov'e zhenshhiny [Women's Health]. – 2008, No 3 (36), 27-28 november. - Cherkasi, pp. 53–55.

5. Vpliv hiioterapevtichnogo likuvannja na angiogenez raku jaechnikiv [The impact of chemotherapy on ovarian cancer angiogenesis], M.I. Lomnic'ka, N.A. Volod'ko, B.I. Solomko ta in., materialy naukovopraktichnoy konferencii Himioterapija v likuvanni onkoginekologichnih hvorih [Chemotherapy in the treatment of oncogynecological patients], Zdorov'e zhenshhiny [Women's Health]. – 2005, No 2., Ch.2., pp. 55–57.

6. Pavlova T.D. Onkoginekologija: uchebnoe posobie dlja vrachej onkoginekologov i akusherovginekologov [Oncogynecology: a manual for oncogynecologists and obstetricians-gynecologists], T.D. Pavlova, M.V. Knjazeva, A.V. Prokopjuk., - Har'kov., Karavella, 2006., 364 P.

7. Shhepotin I.B. Onkologija [Oncology], Shhepotin I.B., Ganul V.L., Klimento I.O. and other. - Kiev., Kniga pljus, 2008., 568 P.

Литература:

1. Бохман Я.В. Руководство по онкогинекологии / Я.В. Бохман. – СПб. : Фолиант, 2002. – 540 с.
2. Винокуров В.Л. Рак яичников: закономерности метастазирования и выбор адекватного лечения больных / В.Л. Винокуров. – СПб. : ФОЛИАНТ, 2004. – 336 с.
3. Волков А.Е. Ультразвуковая диагностика в акушерстве и гинекологии / А.Е. Волков. – М. : Феникс, 2009. – 477 с.
4. Воробйова Л.І. Проект стандартного хірургічного протоколу у хворих на пухлини яєчника / Л.І. Воробйова, В.С. Свінцицький. – Здоров'я жінчини. – 2008, №3 (36), 27-28 листопада, м. Черкаси, С. 53–55.
5. Вплив хііотерапевтичного лікування на ангіогенез раку яєчників / М.І. Ломницька, Н.А. Володько, Б.І. Соломко [та ін.] // мат. наук. практ.

конф. Хіміотерапія в лікуванні онкогінекологічних хворих : Здоров'я жінчини. – 2005 – №2. – Ч.2. – С. 55–57.

6. Павлова Т.Д. Онкогинекология: учебное пособие для врачей онкогинекологов и акушеров-гинекологов / Т.Д. Павлова, М.В. Князева, А.В. Прокопюк. - Харьков: Каравелла, 2006. - 364 с.

7. Щепотин И.Б. Онкология. / Щепотин И.Б., Ганул В.Л., Клименко И.О. и др. - К.: Книга плюс, 2008. - 568 с.

Information about authors:

1. Marina Knyazyeva - Doctor of Biological sciences, Full Professor, Kharkiv National University named after V.N Karazin; address: Ukraine, Kharkov city; e-mail: m_knyazyeva@zic.in.ua

2. Alexandra Prokopyuk - Candidate of Medical sciences, gynecologic oncologist, Kharkov Regional Clinical Oncology Center; address: Ukraine, Kharkov city; e-mail: m_knyazyeva@zic.in.ua

3. Tamara Pavlova - Doctor of Medical sciences, Full Professor, President, Public Organization «The New Thinking in Medicine»; address: Ukraine, Kharkov city; e-mail: m_knyazyeva@zic.in.ua

Сведения об авторах:

1. Князева Марина - доктор биологических наук, профессор, Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина; адрес: Украина, Харьков; электронный адрес: m_knyazyeva@zic.in.ua

2. Прокопюк Александра - кандидат медицинских наук, врач-онкогинеколог, Харьковский областной клинический онкологический центр; адрес: Украина, Харьков; электронный адрес: m_knyazyeva@zic.in.ua

3. Павлова Тамара - доктор медицинских наук, профессор, президент, Общественная организация «Новое мышление в медицине»; адрес: Украина, Харьков; электронный адрес: m_knyazyeva@zic.in.ua