

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ПАРАМЕТРЫ КЛЕТОК ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ ПОГРАНИЧНЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ ЯИЧНИКОВ

И.В. Паниченко, В.Н. Богатырев, К.И. Жордания, В.В. Кузнецов, И.И. Бокин

ГУ РОИЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

QUANTITATIVE PARAMETERS OF TUMOR CELLS IN PATIENTS WITH BORDERLINE OVARIAN NEOPLASMS

I.V. Panichenko, V.N. Bogatyrev, K.I. Zhordania, V.V. Kuznetsov, I.I. Bokin

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Objective: to specify the prognostic value of DNA levels, their distribution by the phase of a cell cycle, as well as the proliferative activity index in borderline ovarian tumors (BOT).

Subjects and methods. The study included 88 patients with BOT whose age was 16 to 80 years (mean age 42.4 ± 1.4 years), 51 (57.9%) patients being under 45 years of age. A control group consisted of 18 patients with benign ovarian masses (BOM). An EPICS-XL (Coulter, USA) laser flow cytometer was used to study cellular DNA. The findings were analyzed, by applying the MultiCycle program (Phoenix Flow Systems, USA) employed to analyze ploidy and the count of tumor cells in each phase of a cell cycle.

Results. Diploid and aneuploid tumors were found in 55 (62.5%) and 33 (27.5%) patients with BOT, respectively. Comparative analysis of DNA-flow cytometric parameters in the BOT and BOM groups revealed statistically significant differences in DNA index (DNAi). Analysis of the distribution of tumors by age indicated that DNAi and the distribution of their cell cycle were age-unassociated. As the disease progressed, the patients with diploid tumors increased in number and those with aneuploid tumors decreased. At the same time these differences were statistically insignificant. The analysis of the distribution of a tumor cell cycle by the stage of the disease in patients with BOT did not reveal any significant differences in the compared groups either. Examining the distribution of tumor cells by the phases of a cell cycle showed that the rate of cell fission in serous BOTs was higher than that in mucinous BOTs.

Conclusion. BOTs are a heterogeneous group - more than half (61.9%) of them are aneuploid, in 42.4% of the patients, their number was in the range of 20–40%. No regularities were found in the distribution of the number of diploid BOTs in relation to the age of patients and to the stage of the disease.

Пограничные опухоли яичников (ПОЯ) составляют около 5% среди всех эпителиальных новообразований яичников. Для них характерны более благоприятное клиническое течение, низкая частота рецидивирования по сравнению со злокачественными опухолями. Средний возраст больных составляет 35–40 лет, в связи с чем актуальным становится вопрос о сохранении репродуктивной функции. Среди прогностических факторов наибольшее значение имеют возраст, стадия заболевания, размер остаточной опухоли, наличие диссеминации в брюшной полости [1]. Вместе с тем некоторые авторы подчеркивают прогностическое значение таких количественных параметров клеток опухоли, как содержание ДНК, распределение их по фазам клеточного цикла, индекс пролиферативной активности [2, 3].

В наше исследование включены 88 больных ПОЯ в возрасте от 16 до 80 лет (средний возраст $42,4 \pm 1,7$ года), при этом 51 (57,9%) больная была в возрасте до 45 лет. В контрольную группу вошли 18 пациенток с доброкачественными образованиями яичников (ДОЯ).

При анализе акушерско-гинекологического анамнеза выявлено, что в менопаузальном периоде находились 30 (34,1%), а в репродуктивном — 58 (65,9%) пациенток. Сопутствующие заболевания женской репродуктивной сферы отмечались у 15 пациенток: у 7 (33,4%) больных имело место воспаление придатков, у 3 (14,2%) — различные формы мастопатии, у 2 (9,5%) — киста яичника, у 2 (9,5%) — миома матки, а у 7 (33,4%) пациенток патологии выявлено не было.

При анализе наследственного анамнеза у родственников 8 (9,1%) больных в анамнезе имелись злокачественные опухоли яичников, у остальных 80 (90,9%) наследственный анамнез не отягощен.

Всем больным на первом этапе выполнялось хирургическое лечение: 51 (57,9%) пациентке — в объеме экстирпации матки с придатками и удаления большого сальника, 37 (42,1%) — удаление придатков матки с одной стороны, биопсия второго яичника, удаление большого сальника и множественные биопсии брюшины. Органосохраняющие операции выполнялись только у женщин репродуктивного возраста. При морфологическом исследовании у 19 (21,6%) больных опухоли имели строение пограничной муцинозной цистаденомы, у 69 (78,4%) — пограничной серозной цистаденомы.

Исследования ДНК в клеточной популяции проводили на лазерном проточном цитофлюорометре EPICS-XL (Coulter, США). Полученные данные были проанализированы при помощи программы «MultiCycle», используемой для анализа ploidy и числа опухолевых клеток в каждой фазе клеточного цикла (Phoenix Flow Systems, США). Количество клеток в различных фазах клеточного цикла выражалось в процентах. Индекс ДНК (ИДНК) диплоидных клеток на гистограммах соответствовал 1,0; ИДНК анеуплоидных клеток был больше или меньше 1,0. В качестве диплоидного стандарта использовали лимфоциты крови доноров. Определение количественных параметров клеток проводилось параллельно

с морфологическим (цитологическим и гистологическим) исследованием.

Содержание ДНК в опухолевых клетках изучено у 88 больных ПОЯ, из них у 55 (62,5%) выявлен диплоидный тип опухоли и у 33 (27,5%) — анеуплоидный. При анализе количества анеуплоидных клеток в опухоли ($n=33$) оказалось, что чаще всего в ПОЯ их число находилось в пределах 35—70% — в 14 (43,7%) случаях (см. рисунок).

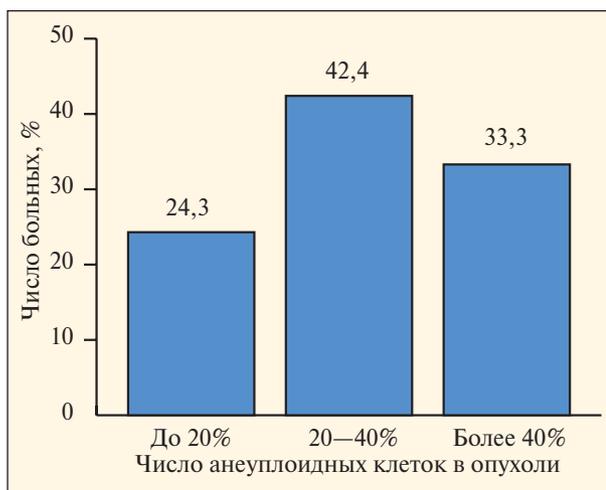
Сравнительный анализ ДНК-проточно-цитометрических параметров ПОЯ и аналогичных показателей в группе больных с ДОЯ выявил статистически достоверные различия по ИДНК. В группе больных ПОЯ диплоидные новообразования составили 62,5% ($n=55$), в то время как все ДОЯ ($n=18$) были диплоидными.

Чаще всего встречалась анеуплоидия в пределах митотического цикла (ИДНК 1,1—1,85) — у 21 (63,6%) больных, реже всего — многоклоновые опухоли — у 3 (9,1%); анеуплоидия с потерей хромосом выявлена у 9 (27,4%) больных. Вместе с тем тетраплоидные и гиперанеуплоидные образования не определялись вовсе.

Характеризуя клеточный цикл пограничных опухолей, можно отметить, что эта группа неоднородна по своему клеточному составу (табл. 1).

Из приведенных данных видно, что в диплоидных опухолях количество клеток в синтетической фазе клеточного цикла, а также индекс пролиферации (интенсивность деления клеток меньше в диплоидных новообразованиях) достоверно меньше. Таким образом, группа ПОЯ является крайне неоднородной по своему составу: с одной стороны, эти новообразования разделяются по критерию плоидности, с другой — интенсивность деления клеток в этих двух группах также разительно отличается.

С учетом полученных результатов представлялось важным выяснить, имеется ли корреляция меж-



Распределение больных ПОЯ ($n=33$) с учетом количества анеуплоидных клеток

ду количественными показателями клеток ПОЯ и клинко-морфологическими параметрами. Анализ распределения опухолей с учетом возраста пациентов показал, что ИДНК и распределение клеточного цикла опухолей не связаны с возрастным фактором.

Крайне важным, на наш взгляд, является вопрос о наличии корреляции между плоидностью опухоли и стадией заболевания у больных ПОЯ. Учитывая, что в исследовании отсутствовали больные с IV стадией, данный анализ проведен только среди пациентов с I, II и III стадиями (табл. 2).

Из приведенных данных видно, что с увеличением стадии заболевания количество больных с диплоидными опухолями увеличивалось, а с анеуплоидными — уменьшалось. Вместе с тем данные различия не носят статистически достоверный характер, что, с нашей точки зрения, позволяет говорить о том, что плоидность опухолей при ПОЯ не связана со стадией заболевания. Проведенный анализ распределения клеточного цикла опухолей у больных ПОЯ с учетом

Таблица 1. Распределение клеточного цикла (в %) опухолей у больных ПОЯ с учетом плоидности ($n=88$)

Плоидность опухолей	Фазы клеточного цикла			Индекс пролиферации (S+G2+M)
	G0/1	S	G2+M	
Анеуплоидные ($n=32$)	83,9±1,9	7,6±0,7*	8,5±1,4	16,1±0,8*
Диплоидные ($n=56$)	89,8±0,7	5,2±0,3	5,0±0,4	10,2±0,6

Примечание. * $p<0,05$ по сравнению с группой больных с диплоидными опухолями.

Таблица 2. Распределение больных ПОЯ по стадиям заболевания с учетом плоидности опухоли

Плоидность	I стадия ($n=49$)	II стадия ($n=20$)	III стадия ($n=19$)
Анеуплоидные ($n=32$)	23 (46,9)	5 (25)	4 (21,1)
Диплоидные ($n=56$)	26 (53,1)	15 (75)	15 (78,9)

Примечание. Здесь и в табл. 4 данные представлены как число больных (в скобках — процент).

Таблица 3. Распределение клеточного цикла (в %) в ПОЯ с учетом морфологического варианта

Морфологический вариант	G0/1	Фазы клеточного цикла S	G2+M	Индекс пролиферации (S+G2+M)
Серозный (n=69)	86,9±1,0	6,4±0,4*	6,7±0,7	13,1±1,0
Муцинозный (n=19)	80,9±2,2	10,3±1,3	8,8±1,0	19,1±2,2

*Различия статистически достоверны.

Таблица 4. Распределение больных с ПОЯ в зависимости от наличия прогрессирования заболевания с учетом плоидности опухолей

Тип опухоли	Ремиссия заболевания (n=82)	Прогрессирование (n=6)
Анеуплоидные (n=33)	29 (87,8)	4 (12,2)
Диплоидные (n=55)	53 (96,3)	2 (3,7)

стадии заболевания также не выявил достоверных различий в сравниваемых группах.

Следует подчеркнуть, что всем 56 больным с диплоидным типом ПОЯ удалось выполнить радикальную операцию; ни у одной из них не выявлено наличия остаточной опухоли в брюшной полости после хирургического вмешательства. Вместе с тем из 32 больных с анеуплоидными ПОЯ у 4 (12,5%) пациенток операции носили циторедуктивный характер — определялась остаточная опухоль от 2 до 5 см. Таким образом, анеуплоидный тип ПОЯ клинически проявляется более агрессивным инвазивным ростом.

Анализ количественных показателей клеток опухолей с учетом их морфологической структуры показал, что среди муцинозных ПОЯ количество анеуплоидных новообразований несколько больше по сравнению с аналогичным показателем среди серозных ПОЯ (47,4 и 34,7%; $p > 0,05$).

Вместе с тем при изучении распределения опухолевых клеток по фазам клеточного цикла выявлено, что среди серозных новообразований количество клеток в S-фазе и индекс пролиферации достоверно больше по сравнению с муцинозными опухолями (табл. 3). Таким образом, интенсивность деления клеток в серозных ПОЯ выше по сравнению с муцинозными новообразованиями.

Анализ отдаленных результатов лечения показал, что из 55 больных с диплоидными новообразованиями рецидивы заболевания возникли у 2 (3,7%) пациентов, в то время как среди больных с анеуплоидными опухолями рецидивы возникли у 4 (12,2%; табл. 4).

Вместе с тем из 6 больных, у которых впоследствии отмечено прогрессирование заболевания, у 3 (50%) имелась анеуплоидия в пределах митотического цикла, у 2 (33,4%) — диплоидные опухоли и у 1 (16,7%) — анеуплоидия с потерей хромосом.

Таким образом, изучение плоидности ПОЯ выявило, что данные новообразования являются неоднородной группой — более половины из них (61,9%) анеуплоидные, при этом у 42,4% больных их количество находилось в пределах 20—40%. Не выявлено какой-либо закономерности в распределении количества диплоидных ПОЯ в зависимости от возраста пациентов и стадии заболевания. Также не выявлено достоверных различий в распределении клеток опухоли по фазам клеточного цикла и пролиферативной активности в зависимости от возраста пациенток с ПОЯ как диплоидного, так и анеуплоидного типов.

При анализе клеточного цикла в диплоидных и анеуплоидных ПОЯ выявлены статистически достоверные различия по процентному содержанию клеток в фазах G0/1, S, G2+M. Индекс пролиферации достоверно ниже в диплоидных опухолях по сравнению с анеуплоидными новообразованиями ($p < 0,05$). Для группы анеуплоидных ПОЯ характерна более высокая пролиферативная активность опухоли по сравнению с диплоидным типом ПОЯ, что, по-видимому, может указывать на более злокачественное течение болезни у больных этой группы, что диктует необходимость длительного и тщательного мониторинга. С нашей точки зрения, необходимы кооперированные многоцентровые исследования для анализа большего числа наблюдений.

ЛИТЕРАТУРА

- Gershenson D.M. Clinical management potential tumours of low malignancy. Best Pract Res Clin Obstet Gynecol 2002;16:513—27.
- Flezar M.S., But I., Kavalari R. Flow and image cytometric DNA ploidy, includin 5c exceeding cells, of serous borderline malignant ovarian tumors. Anal Quant Cytol Histol 2003;25(3): 139—45.
- Mecke H., Borner-Klaussner B., Grosse G. Clinical behavior of serous and mucinous borderline tumors of the ovary with diploid DNA stem line. Follow-up studies after organ preserving and non-organ preserving therapy. Zentralbl Gynakol 2000;122(5): 274—9.