

В.П. Козаченко, С.О. Никогосян, Н.Е. Кушлинский, К.И. Жордания

СОСТОЯНИЕ ГУМОРАЛЬНОГО И ИММУННОГО ГОМЕОСТАЗА У БОЛЬНЫХ С НОВООБРАЗОВАНИЯМИ ЯИЧНИКОВ

НИИ клинической онкологии

Одной из наиболее актуальных проблем современной онкологии являются злокачественные новообразования яичников. Это обусловлено несколькими причинами. Рак яичников занимает в структуре онкологических заболеваний женской репродуктивной системы 4-е место по частоте, уступая лишь раку молочной железы, эндометрия и шейки матки, смертность от этого заболевания во всем мире составляет 50—65%; 5-летняя выживаемость больных с этой патологией не превышает 35% [4—6], что значительно ниже этого показателя у больных раком молочной железы (84%), эндометрия (85%) и шейки матки (71%).

Функция яичников в норме зависит от различных факторов. Любая причина — генетические дефекты, стресс, патогенные микроорганизмы и вирусы, алиментарные нарушения или экологические катализмы — может привести к нарушению физиологической деятельности яичников. В одних случаях дисфункция органа выражается нарушением менструальной функции вплоть до аменореи, в других — возникновением так называемых функциональных кист или доброкачественных опухолей, а у определенной категории женщин — развитием пограничных или злокачественных новообразований.

Патофизиология яичника стала клинической моделью для концепций канцерогенеза, рассматривающих развитие рака как многоэтапный или одноэтапный процесс. Необычная легкость перехода опухоли из одной категории в качественно другую или изначально агрессивный рост опухоли не дает возможности своевременно определить грань между доброкачественной и злокачественной метаплазией клеток и создает серьезные трудности в своевременной диагностике рака. Несмотря на успехи ультразвуковой, эндоскопической и иммунологической диагностики, не всегда удается точно дифференцировать начальные формы рака и пограничных опухолей яичников с доброкачественными опухолями яичников, что ведет к ошибкам в определении стадии заболевания, неадекватному объему хирургического лечения, ухудшает тактику лечения в целом и ухудшает прогноз.

В связи с этим приобретают важное значение расширение и усовершенствование методов определения гуморально-тканевых маркеров, отражающих состояние основных гомеостатических систем (гормональной, иммунной и протеолитической) организма в условиях развивающихся опухолей.

Не угасает интерес к гормональной теории возникновения новообразований яичников, которая объясняет возникновение рака яичников в условиях непрерывного повышения порога чувствительности гипоталамуса к циркулирующим в крови половым гормонам, что в свою очередь сопряжено с усилением секреции гонадотропинов и стероидных гормонов, обладающих канцерогенными свойствами. Наряду с этим эндокринологическими исследованиями как *in vitro*, так и *in vivo*

V.P.Kozachenko, S.O.Nikogosyan, N.E.Kushlinsky, .I.Zhordania

HUMORAL AND IMMUNITY HOMEOSTASIS IN CASES WITH OVARIAN TUMORS

Institute of Clinical Oncology

Ovarian cancer is an important problem of oncology. There are several reasons for this. Ovarian cancer is the forth commonest malignancy among female cancers after breast, endometrial and cervical carcinomas and accounts for a 50–65% mortality worldwide. The 5-year survival in ovarian cancer is 35% or lower [4–6] which is less than for cancers of the breast (84%), endometrium (85%) and cervix (71%).

Function of ovaries is normally influenced by various factors. Any events such as genetic defects, stress, pathogenic organisms and viruses, alimentary or ecological disturbance may cause ovary impairment. The ovary dysfunction may result in menstrual cycle disorders up to amenorrhea in some patients, in arising of so called functional cysts in others, while some women may develop marginal or malignant disease.

Ovary pathophysiology is a clinical model to study carcinogenesis concepts that consider cancer as a multiple stage or a single stage process. The unusual readiness to transform from one category to another or initially aggressive behavior of ovarian tumors makes difficult timely distinction between benign and malignant cell neoplasia resulting in late diagnosis of cancer. In spite of the progress in ultrasound, endoscopic and immunological diagnosis it is still difficult to differentiate early cancer and borderline ovarian tumors from benign neoplasms. This leads to incorrect staging and insufficient surgery, makes difficult choice of treatment policy and results in poor prognosis.

It is therefore very important to find new humoral and tissular markers reflecting the state of principal homeostasis systems (hormonal, immune and proteolytic) of the body against the background of arising tumor.

Of much interest is hormonal theory of ovarian cancer origin that identifies causes of ovarian cancer under continuous rise in hypothalamus sensitivity cut-off to circulating sex hormones which is associated with increase in gonadotropins and steroid hormones with carcinogenic activity. Besides, endocrinological studies *in vitro* and *in vivo* discovered certain regularities of non-epithelial cancer types [3,10].

Study of most frequent and aggressive epithelial cancer provides ambiguous and equivocal results. The published data mainly concern two pituitary hormones, i.e. follicle-stimulating (FSH) and luteotropic (LH) hormones.

There are practically no complex studies of estrogens, progesterone, testosterone and gonadotropic hormones and their role both in cancer or borderline and benign tumors of the ovary.

There are few publications about an important pituitary hormone, prolactin [7,10]. The scarce data fail to reflect its role in development of ovarian cancer although its contribution to cancer of the breast, endometrium and cervix is rather well studied.

удалось раскрыть закономерности развития в основном неэпителиальных форм опухолей [3, 10]. Результаты изучения самых частых и агрессивных эпителиальных форм рака остаются неоднозначными и порой противоречивыми. В литературе в основном обсуждается роль двух представителей гипоталамических гормонов — фолликулостимулирующего (ФСГ) и лютеотропного (ЛГ).

Практически нет работ по комплексному изучению эстрогенов, прогестерона, тестостерона и гонадотропных гормонов одновременно как при раке, так и при пограничных и доброкачественных новообразованиях яичников.

Мало информации о другом, не менее важном гипоталамическом гормоне — пролактине [7, 10]. С скромными сведениями не дают отчетливого представления о его роли в развитии злокачественных опухолей яичников, хотя роль этого гормона в значительной степени изучена при раке молочной железы, эндометрия и шейки матки. В большинстве случаев указанные заболевания характеризуются гиперпролактинемией и дисбалансом стероидных гормонов, ФСГ и ЛГ. Редкие исследования при раке яичников установили нарушение сопряженных соотношений ФСГ, ЛГ и пролактина в моче и крови. Особенности экскреции пролактина выражаются в значительных колебаниях его уровня у части больных. В отдельных случаях отмечено чрезмерно высокое содержание этого гормона. Имеется предположение, что высокий уровень гипоталамических гормонов является первичным и играет немаловажную роль в развитии опухолей яичников [2, 3, 10]. В современной литературе есть несколько сообщений, посвященных изучению экскреции пролактина у больных раком яичников [2, 3, 10]. Большей частью это описание отдельных случаев и свидетельств о гиперпролактинемии у больных с дисгерминомой и другими формами опухолей, исходящих из полового тяжа.

Кроме того, особый интерес представляет определение уровня инсулина в сыворотке больных с новообразованиями яичников. Как известно, рак яичников относится к категории особо агрессивных форм злокачественных опухолей, отличается богатым арсеналом пара- и аутокринных механизмов регуляции роста и распространения опухоли.

Проведенные в нашей клинике исследования совместно с сотрудниками лаборатории клинической биохимии показали количественные и качественные нарушения баланса гипоталамических, половых гормонов, а также инсулина. Детальное эндокринологическое исследование проводилось у 74 больных раком (30 — с пограничными и 43 — с доброкачественными опухолями). Определяли уровень эстрадиола, тестостерона, прогестерона, ФСГ, ЛГ, пролактина и инсулина в сыворотке крови. Тестирование проводилось до удаления опухоли с учетом фазы менструального цикла и факта менопаузы.

У больных со злокачественными опухолями яичников чаще всего наблюдается гиперинсулинемия (76,7% случаев), гиперпролактинемия (71,6%), гиперпрогестеронемия (64,9%), относительно реже — повышенные уровни эстрогенов (40,5%), ФСГ (32,4%), ЛГ (29,7%) и тестостерона (12,2%).

У пациенток с пограничными опухолями яичников чаще всего констатируется высокий уровень ФСГ (64,5%), ЛГ (58,1%) и пролактина (45,2% случаев), сравнительно реже — высокий уровень прогестерона (32,3%), инсулина (25,8%) и эстрогенов (3,2%).

При доброкачественных опухолях яичников в сыворотке крови больных чаще всего превышала норму концентрация

В большинстве случаев эти заболевания характеризуются гиперпролактинемией и дисбалансом стероидных гормонов, ФСГ и ЛГ. В немногих гормональных исследованиях опухолей яичников обнаружен расстройство соотношения между мочевым и сывороточным ФСГ, ЛГ и пролактином. Специфическая экскреция пролактина приводит к значительной вариабельности его концентраций у некоторых больных. Встречаются случаи с чрезвычайно повышенными уровнями этого гормона. Гипотеза была сделана, что повышение гипоталамических гормонов было первичным фактором, сыгравшим значительную роль в развитии опухолей яичников [2,3,10]. В литературе описано несколько случаев экскреции пролактина у больных раком яичников [2,3,10]. Они в основном описывают конкретные случаи с наличием гиперпролактинемии у больных с дисгерминомой и другими типами опухолей, исходящих из гонады.

Очень интересен уровень инсулина в сыворотке у больных раком яичников. Как известно, рак яичников относится к наиболее агрессивным злокачественным новообразованиям с широким спектром пара- и аутокринных механизмов роста опухоли.

Наше исследование совместно с коллегами из Клинической биохимической лаборатории выявило количественные и качественные нарушения соотношения гипоталамических и половых гормонов, а также инсулина. Подробное эндокринологическое исследование было проведено у 74 больных раком, 30 с пограничными опухолями и 43 с доброкачественными опухолями. Изучали уровень эстрадиола, тестостерона, прогестерона, ФСГ, ЛГ, пролактина и инсулина. Исследования проводились до операции по удалению опухоли с учетом фазы менструального цикла и менопаузы.

Рак яичников чаще всего ассоциируется с гиперинсулинемией (76,7%), гиперпролактинемией (71,6%), гиперпрогестинемией (64,9%), реже с повышением эстрогенов (40,5%), ФСГ (32,4%), ЛГ (29,7%) и тестостерона (12,2%).

Пограничные опухоли яичников в основном характеризуются повышенными уровнями ФСГ (64,5%), ЛГ (58,1%), пролактина (45,2%) и реже с повышением прогестерона (32,3%), инсулина (25,8%) и эстрогенов (3,2%).

В случаях доброкачественных опухолей яичников чаще всего обнаружены повышенные концентрации: прогестерона (46,9%), пролактина (37,5%), тестостерона (34,4%), ФСГ (31,3%) и ЛГ (21,9%). Эстрогены (15,6%) и инсулин (10%) повышены реже.

Изучение клинического течения заболевания с точки зрения соотношения гормонов выявило тенденцию к снижению выживаемости больных с повышением эстрогенов, прогестерона и пролактина.

Уровень ФСГ и ЛГ в сыворотке у больных раком яичников имел выраженное влияние на безрецидивную выживаемость, прогноз хуже при более высоких концентрациях гормонов. В то время как тестостерон не оказывал значительного влияния на исход заболевания.

Уровень инсулина в сыворотке имел важное прогностическое значение при раке яичников. Гормон играет ведущую роль в углеводном обмене и других метаболических процессах и вызывает значительные количественные изменения при опухоли.

Повышение инсулина и связанное с ним ухудшение прогноза заболевания свидетельствует о том, что опухоль имеет специфические метаболические особенности независимо от стадии и гистологии.

В последние годы возрос интерес к изучению клинического значения простагландинов, важных продуктов метаболизма арахидоновой кислоты [4,10]. Главная роль простагландинов — обеспечить адекватную функцию защитных

прогестерона (46,9%), пролактина (37,5%), тестостерона (34,4%), ФСГ (31,3%) и ЛГ (21,9%). В редких случаях был повышен уровень эстрогенов (15,6%) и инсулина (10%).

Изучение клинического течения рака в зависимости от концентрации определенных нами гормонов установило тенденцию к снижению выживаемости при высоком содержании эстрогенов, прогестерона и пролактина.

Содержание ФСГ и ЛГ в сыворотке крови больных со злокачественными опухолями яичников заметно влияет на безрецидивную выживаемость больных. При высоком их уровне прогноз заболевания ухудшается.

В то же время уровень тестостерона не оказывает существенного влияния на исход заболевания.

Высокую прогностическую значимость у больных со злокачественными опухолями имеет содержание инсулина в сыворотке крови. Гормон, который во многом определяет углеводный метаболизм и ряд других сторон обмена веществ, подвергается количественным изменениям у онкологических больных.

Повышение уровня инсулина у больных раком яичников и худший прогноз заболевания при этом указывают на особые метаболические свойства опухоли независимо от стадии заболевания и гистологической структуры.

В последние годы значительно возрос интерес к изучению клинического значения простагландинов — важных продуктов метаболизма арахидоновой кислоты [4, 10]. Основная роль простагландинов — обеспечение адекватного функционирования защитных механизмов организма в условиях стресса путем направленного действия на важные факторы гуморально-иммунного гомеостаза (формирование воспалительной реакции, активация лимфоцитов и макрофагов, синтез антител, препятствие липолизу и т. п.) [4, 10]. Наряду с этим установлено, что простагландины серии E являются сильными модуляторами злокачественного перерождения клеток и процесса метастазирования [10].

Проведенные в нашей клинике исследования совместно с сотрудниками лаборатории клинической биохимии показали, что содержание ПГЕ в ткани как первичного ($16\,792 \pm 2527$ пг/г), так и метастатического рака ($22\,354 \pm 1763$ пг/г) яичников значительно выше, чем в ткани доброкачественных опухолей (3087 ± 591 пг/г) и неизмененного яичника (2818 ± 249 пг/г) (содержание ПГЕ определяли в ткани опухоли 56 больных со злокачественными, 20 — с доброкачественными опухолями яичников, в качестве контроля исследовалась микроскопически неизмененная ткань яичника 14 женщин).

Частота возникновения рецидивов опухоли в течение первого года наблюдения после проведенного комбинированного лечения независимо от стадии и гистологической структуры опухоли была выше у тех больных, в опухолях которых содержание ПГЕ не превышало 1000 пг/г ткани (соответственно $87,5 \pm 11,7$ и $19,2 \pm 11,1\%$).

Как известно, злокачественные новообразования гонад относятся к числу особо агрессивных форм рака, отличаются быстрым распространением путем имплантационного роста, возникновением гематогенных и лимфогенных метастазов. Рак яичников характеризуется быстрым распространением по брюшине, он охватывает все больше и больше «пристанищ» для внедрения и развития новых опухолевых узлов. Подобные свойства опухоли обеспечиваются влиянием протеолитических ферментов, с помощью которых опухолевые клетки яичников

mechanisms of the body under stress by acting on important humoral immunity homeostasis components (inflammatory reaction, lymphocyte and macrophage activation, antibody synthesis, lipolysis counteraction, etc.) [4,10]. Besides, prostaglandins E are strong modulators of cell malignant transformation and tumor metastasis [10].

Our study conducted together with colleagues from the Clinical Biochemistry Laboratory discovered that PGE content both in primary ($16,792 \pm 2,527$ pg/g) and metastatic ($22,354 \pm 1,762$ pg/g) ovarian cancer was much higher than in benign tumors ($3,087 \pm 591$ pg/g) and intact ovaries ($2,818 \pm 249$ pg/g). In this study PGE was measured in tumor tissue from 56 cases with ovarian cancer, 20 cases with benign ovarian tumors and intact ovarian tissue from 14 women.

Ovarian cancer recurrence within the first year of follow-up after multimodality treatment was higher in cases with tumor PGE levels 1000 pg/g or less ($87.5 \pm 11.7\%$ and $19.2 \pm 11.1\%$, respectively) independently from disease stage and tumor histology.

Gonadal cancer belongs to most aggressive cancer types with rapid advance due to implantation, hematogenic and lymphogenic metastasis. Ovarian cancer spreads rapidly through the peritoneum and invades more and more sites to develop new lesions. This feature is explained by the effect of proteolytic enzymes that help tumor cells to disturb integrity of extracellular matrix and make favorable conditions for invasion and metastasis.

Lysis of extracellular matrix components (collagen, laminin, fibronectin, proteoglycans) is a key process in the multistage cascade of cancer invasion and metastasis [1,10]. There are 4 protease classes known today that contribute to this process. These are aspartyl, cysteine, serine and metal-dependent proteases [10]. These catalysts are responsible for blood coagulation, zygote implantation into endometrium, embryonic morphogenesis, tissue and organ remodeling during physiological growth of the body [4,9,10].

Metal-depending enzymes are the largest group of proteases that are responsible for lysis of various collagen and proteoglycane types. Cathepsins B are bright representatives of aspartyl-dependent proteases [4,9,10]. Urokinase and tissue plasminogen activators (uPA, tPA) are important elements of the serine protease, plasminogen, activation system. This system both effects lysis of adjacent tissues and activates metal-dependent proteases thus leading a double lytic attack on extracellular matrix [4,10]. Clinical studies demonstrated uPA and tPA or their inhibitors to play a significant prognostic role in gastric, breast, lung, colorectal cancers. Interim results suggest that study of plasminogen activation components in ovarian cancer is clinically promising.

Cathepsin B activity is rather high in tissue from ovarian cancer (983.0 ± 99.3 pmol/min per mg protein) and its metastases (1393 ± 203 pmol/min per mg protein) as compared to tissue from benign tumors (520.0 ± 9.3 pmol/min per mg protein) and intact ovaries (76.7 ± 3.4 pmol/min per mg protein). This enzyme was measured in tissue samples from 56 cases with ovarian cancer, 20 patients with benign ovarian tumors and 14 women with intact ovaries.

Urokinase plasminogen activator was found in all samples from ovaries and epiploon (40 cases with primary and 13 with metastatic ovarian cancer, 23 cases with borderline and 19 with benign ovarian tumors, 14 women with intact ovaries).

нарушают целостность внеклеточного матрикса, создают благоприятные условия для инвазии и метастазирования.

Лизис компонентов внеклеточного матрикса (коллаген, ламинин, фибронектин, протеогликаны) является ключевым в многоступенчатом каскаде инвазии и метастазирования злокачественных опухолей [1, 10]. В настоящее время известны 4 класса протеаз, участвующих в этом процессе. К ним относятся аспартиловые, цистеиновые, сериновые, а также металлозависимые протеазы [10]. Эти катализаторы в физиологических условиях ответственны за свертывание крови, имплантацию зиготы в эндометрий, эмбриональный морфогенез, ремоделирование тканей и органов при физиологическом росте организма и т. п. [4, 9, 10].

Металлозависимые ферменты составляют самую большую группу протеаз, обеспечивают лизис различных типов коллагена, протеогликанов. Яркими представителями аспартилзависимых протеаз являются катепсины В [4, 9, 10]. Важными компонентами системы активации сериновой протеазы — плазминогена являются активаторы плазминогена урокиназного и тканевого типов (uPA, tPA). Эта система не только сама по себе осуществляет лизис окружающих тканей, но и одновременно активирует металлозависимые протеазы, обеспечивая тем самым двойную литическую атаку на компоненты внеклеточного матрикса [4, 10]. Клинические исследования указывают на высокую прогностическую значимость уровня uPA, tPA или их ингибиторов при раке желудка, молочной железы, легкого, колоректального рака. Результаты предварительных исследований свидетельствуют, что изучение компонентов системы активации плазминогена при раке яичников весьма перспективно с клинической точки зрения.

Активность катепсина В достаточно высока в ткани рака яичников ($983,0 \pm 99,3$ пмоль/мин на 1 мг белка) и его метастазах (1393 ± 203 пмоль/мин на 1 мг белка) в сравнении с его активностью в ткани доброкачественных опухолей ($520,0 \pm 9,3$ пмоль/мин на 1 мг белка) и неизмененных яичниках ($76,7 \pm 3,4$ пмоль/мин на 1 мг белка) (уровень этого фермента определяли в ткани опухоли 56 больных со злокачественными, 20 — с доброкачественными опухолями яичников, в качестве контроля исследовалась микроскопически неизмененная ткань яичника 14 женщин).

Активатор плазминогена урокиназного типа мы обнаружили во всех образцах яичников и большого сальника (уровень этого фермента определяли в ткани опухоли у 40 больных с первичным, 13 — с метастатическим раком, 23 — с пограничными и 19 — с доброкачественными образованиями, в качестве контроля исследовалась микроскопически неизмененная ткань яичника 14 женщин).

Его содержание колебалось в широких пределах: от 0,1 до 6,79 нг/мг белка. При сравнении среднего уровня этого фермента в зависимости от диагноза и в нормальной ткани оказалось, что содержание uPA в цитозолях постепенно увеличивается по мере увеличения злокачественности опухолей яичников. Эта корреляция более наглядно прослеживается при сравнении медиан (0,45 нг/мг белка — первичный рак, 0,70 нг/мг белка — метастатический рак, 0,25 нг/мг белка — пограничные опухоли, 0,16 нг/мг белка — доброкачественные опухоли и 0,07 нг/мг белка — ткань неизмененного яичника).

Высокое содержание uPA в первичной опухоли больных раком яичников свидетельствует о неблагоприятном прогнозе

The enzyme concentration varied in a broad range from 0.1 to 6.79 ng/mg protein. Comparison of mean concentration of the enzyme with respect to diagnosis demonstrated that uPA cytosol content was increasing with degree of tumor malignancy. This relationship was more clear when comparing median values: primary cancer 0.45 ng/mg protein, metastatic cancer 0.70 ng/mg protein, borderline tumors 0.25 ng/mg protein, benign tumors 0.16 ng/mg protein and intact ovary 0.07 ng/mg protein.

The presence of uPA in primary ovarian cancer is indicative of poor prognosis and high risk of recurrence after surgical treatment or chemotherapy.

Comparison of ovarian cancer cases with favorable and poor prognosis discovered that uPA content in cytosol of recurrent cancer (follow-up 12 months or more) was three-fold as high as in primary tumors (1.3 ± 0.36 ng/mg protein vs 0.45 ± 0.19 ng/mg protein, $p=0.02$) irrespective of disease stage. Disease-free survival of patients with tumor uPA more than 0.45 ng/mg protein for a 49-month follow-up was 33% and overall survival was 52%. While in cases with low uPA concentrations disease-free and overall survival rates were 75% and 92%, respectively ($p=0.034$ for disease-free and $p=0.043$ for overall survivals).

Baseline cathepsin B level also has prognostic significance in ovarian cancer. In cases with cathepsin B level higher than cut-off (723.5 pmol/min per mg protein) recurrence within the first follow-up year is two-fold higher than for patients with low levels of the enzyme. Therefore, measurement of tumor proteolytic enzyme activity helps in prognosis of tumor malignancy and choosing treatment policy in ovarian cancer.

The discovery of apoptosis, programmed cell death, was an important oncological achievement. Apoptosis is a valuable tool to maintain homeostasis and stable cell content of multicellular organisms. Apoptosis impairment may be a pathogenic stage in development of disease [8,10]. Decreased vigilance of the system responsible for apoptosis results in longer cell life which in turn leads to autoimmune and lymphoproliferative diseases and cancer. There are several apoptosis regulators including cytokines, tumor necrosis factors, oncogene c-myc, protein p53, gene BCL-2. One more system was discovered over the last years that contributed to cell programmed death, i.e. transmembrane protein Fas-antigen (also referred to as APO-1, CD95). It triggers apoptosis after interaction with a ligand (FasL) or an agonistic monoclonal antibody which results in activation of caspase-8 or caspase-2 proteases. The latter split vital cell substrates, mediate morphological and functional changes in cytoplasm or nucleus characteristic of apoptosis [8,10].

As demonstrated experimentally, increased production of Fas-antigen soluble fraction (sFas) may account for resistance of some cell types to Fas-dependent apoptosis. The soluble Fas binds to FasL thus inhibiting the ligand and ensuring survival and proliferation of cells producing the sFas. Fas-antigen is found most frequently and in large amounts in cases with Ewing's tumor (100%, 6.6 ng/ml), osteosarcoma (85.7%, 7.46 ng/ml), ovarian cancer (87.6%, 4.76 ng/ml), prostatic cancer (80%, 3.35 ng/ml) and nodal euthyroid goiter (71.4%, 6.02 ng/ml) as compared to normal control (36%, 0.86 ng/ml).

These data are interim and may become a basis for clinical study to assess cell apoptosis by measuring sFas in patients with ovarian lesions.

Serum sFas antigen was found in 36.6% of normal women. its concentration varied from 0.52 ng/ml to 1.40 ng/ml (mean

заболевания и большой вероятности рецидива на фоне лечения (хирургическое, лекарственное).

При сопоставлении больных с благоприятным и неблагоприятным исходом заболевания установлено, что содержание uPA в цитозолях опухолей пациенток с рецидивом рака яичников (прослеженность 12 мес и более) независимо от стадии заболевания почти втрое превышает его содержание в опухолях больных без возврата болезни (соответственно $1,38 \pm 0,36$ и $0,45 \pm 0,19$ нг/мг белка; $p = 0,02$). Безрецидивная выживаемость больных с содержанием uPA в опухоли больше чем $0,45$ нг/мг белка за 49 мес наблюдения составила 33%, а общая выживаемость — 52%. При низком уровне uPA безрецидивная и общая выживаемость составила соответственно 75 и 92% ($p = 0,034$ — для безрецидивной выживаемости; $p = 0,043$ для общей).

Исходный уровень активности катепсина В также является немаловажным прогностическим фактором при раке яичников. При уровне катепсина В выше критического, составляющего 723,5 пмоль/мин на 1 мг белка, в течение первого года после лечения рецидив опухоли возникает в 2 раза чаще, чем у больных с низким уровнем этого фермента. Следовательно, определение активности протеолитических ферментов в опухолевой ткани позволяет установить суждение о степени злокачественности опухоли и уточнить тактику лечения больных раком яичников.

Одним из последних достижений клеточной биологии и экспериментальной онкологии стало открытие программированной смерти клетки — апоптоза, что служит важным фактором поддержания гомеостаза и постоянства клеточного состава многоклеточных организмов. Нарушение процессов программированной смерти может стать патогенетическим звеном для развития ряда заболеваний [8, 10]. В случаях снижения бдительности системы, обеспечивающей апоптоз, увеличивается длительность жизни клеток, что часто становится причиной аутоиммунных и лимфопролиферативных заболеваний, злокачественных новообразований. Известно несколько категорий регуляторов апоптоза (цитокины, факторы некроза опухоли, онкоген *c-myc*, белок Р-53, ген BCL-2). В последние годы выявлена еще одна система, которая участвует в программированной смерти клеток, — трансмембранный гликопротеид, названный Fas-антигеном (другие названия — APO-1, CD-95). Он запускает процесс апоптоза после взаимодействия с соответствующим лигандом (FasL) или агонистическими моноклональными антителами, что приводит к активации протеаз семейства caspas-8 или caspas-2. Последние расщепляют жизненно необходимые для клетки субстраты, опосредуют морфофункциональные изменения цитоплазмы и ядра, характерные для апоптоза [8, 10].

Экспериментальными исследованиями установлено также, что причиной устойчивости различных типов клеток к Fas-зависимому апоптозу может быть повышенная продукция растворимой фракции Fas-антигена (sFas). Растворимый Fas связывается с FasL, ингибируя действие последнего, и обеспечивает выживание и размножение клеток — продуцентов растворимого Fas. Показано, что растворимый Fas-антиген выявляется наиболее часто и его уровни самые высокие в сыворотке крови у больных опухолью Юинга (у 100% $6,6$ нг/мл), остеосаркомой (у 85,7% $7,46$ нг/мл), раком яичников (у 87,6% $4,76$ нг/мл), раком предстательной железы (у 80% $3,35$ нг/мл) и узловым эутиреоидным зобом (у 71,4% $6,02$ нг/мл) по сравнению с таковыми контрольной группы практически здоровых людей (у 36% $0,86$ нг/мл).

$0,86 \pm 0,14$ нг/мл). The sFas antigen was present in 87.5% of cancer patients, 67% of patients with borderline ($p < 0,05$) and in 72% of patients with benign tumors as determined in 40 ovarian cancer cases, 30 borderline and 43 benign ovarian tumor cases.

Serum sFas-antigen content in ovarian cancer, borderline and benign tumors was 3- to 5-fold as great as in normal donors ($p < 0,05$). Mean sFas level was $4,29 \pm 0,48$ нг/мл in cancer, $3,17 \pm 0,38$ нг/мл in borderline and $5,47 \pm 0,89$ нг/мл in benign tumors. However, all the differences with respect to diagnosis were not statistically significant ($p > 0,05$).

Disease-free survival in patients having no serum sFas was 80% and higher (49-month follow-up) than in sFas-positive patients (43%, $p < 0,05$). Overall survival rates for these categories were 66.6% and 77.2%, respectively. The difference between the latter parameters was not statistically significant. It follows from these findings that serum sFas status correlates with disease-free survival only.

In conclusion, better knowledge of etiological and pathogenetic factors of ovarian cancer development may contribute to improvement of follow-up results together with early diagnosis and new therapy regimens.

Эти данные предварительные, они могут стать основанием при проведении клинических исследований для оценки клеточного апоптоза путем определения уровня растворимой фракции Fas у больных с новообразованиями яичников.

sFas-антиген был обнаружен в сыворотке крови у 36,6% здоровых женщин. Его уровень колебался от $0,52$ до $1,40$ нг/мл (в среднем $0,86 \pm 0,14$ нг/мл). sFas-антиген обнаружен у 87,5% больных раком, у 67% больных пограничными ($p < 0,05$) и у 72% больных с доброкачественными опухолями (уровень растворимого Fas-антигена в сыворотке крови определяли у 40 больных со злокачественными, 30 — с пограничными и 43 — с доброкачественными образованиями яичников).

Содержание растворимого Fas-антигена в сыворотке крови больных со злокачественными, пограничными и доброкачественными опухолями превышало норму в 3—5 раз ($p < 0,05$). При раке средний уровень sFas составил $4,29 \pm 0,48$ нг/мл, при пограничных опухолях $3,17 \pm 0,38$ нг/мл, а при доброкачественных $5,47 \pm 0,89$ нг/мл. Однако все различия в зависимости от диагноза оказались статистически недостоверны ($p > 0,05$).

Безрецидивная выживаемость больных, у которых sFas в сыворотке крови не определялся, за 49 мес наблюдения оказалась выше (80%), чем у больных с положительным sFas (43%; $p < 0,05$). Общая выживаемость больных составила соответственно 66,6 и 77,2%. Разница между последними показателями оказалась статистически недостоверной. Из полученных результатов следует, что наличие или отсутствие sFas в сыворотке крови больных раком яичников коррелирует только с безрецидивной выживаемостью.

Углубление наших представлений об этиологических и патогенетических факторах возникновения и развития опухолей яичников может позволить улучшить отдаленные результаты лечения пациенток с этой патологией при условии усовершенствования ранней диагностики и разработки новых методов терапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Аббасова С. Г. Создание тест-системы для количественного определения растворимого Fas-антигена в сыворотке крови человека: Дис... канд. биол. наук. — М., 1999.
2. Вартанян Л. Г. Изучение гонадотропной функции гипофиза у больных злокачественными опухолями яичников: Дис... канд. мед. наук. — М., 1980.
3. Дильман В. М. Эндокринологическая онкология. — Л., 1974. — С. 333.
4. Жордания К. И. //Журн. соврем. онкол. — Том 2, № 2. — С. 51—57.
5. Новикова Е. Г., Ронина Е. А. //Материалы пленума проблемной комиссии 01.04. — Диагностика и лечение гинекологических заболеваний. — Иркутск, 1998, 28—29 сентября. — С. 51—57.

6. Трапезников Н. Н., Аксель Н. М., Бармина Н. М. Состояние онкологической помощи населению стран СНГ в 1996 г. — М., 1997.
7. Романцева Т. И., Мельниченко Г. А., Черноглов В. А. //Журн. гинекол. — 1999. — № 2. — С. 56—60.
8. Фильченков А. А., Стойка Р. С. //Экспер. онкол. — 1996. — Вып. 18. — С. 435—448.
9. Andreassen P. A., Kgjoller L., Christen L., Duffy M. G. // Int. J. Cancer. — 1997. — Vol. 72. — P. 1—22.
10. Biology of female cancer. /Eds S.P Langton, W. Miller, A. Berchuck. — New York, 1997.

Поступила 19.03.2001 / Submitted 19.03.2001

© Коллектив авторов, 2001
УДК 616-006.34.04-085.28

Л. И. Смирнова, Н. А. Оборотова, З. С. Шпрах,
Н. М. Перетолчина, Г. К. Герасимова, Л. М. Михайлова,
Н. И. Зимакова, Г. В. Круглова, Е. А. Демина, А. Ю. Барышников

САРКОЛИЗИН-ЛИО ДЛЯ ВНУТРИВЕННОГО ПРИМЕНЕНИЯ

НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей

Значительный удельный вес среди применяемых в настоящее время препаратов для лечения злокачественных опухолей приходится на долю алкилирующих агентов. Они успешно используются в медицинской практике как самостоятельно, так и в комбинированной химиотерапии. Определяющим биологического эффекта подобных соединений является реакция с нуклеиновыми кислотами, особенно с ДНК. В результате этой реакции появляются поперечные связи между молекулами ДНК и ДНК-белок. Изменения ДНК и других объектов организма, вызываемые хлорэтилдаминами, приводят к значительным нарушениям обмена веществ, что резко сказывается на жизнедеятельности клеток вплоть до полной их гибели [5]. Кроме того, они разобщают дыхание и окислительное фосфорилирование в митохондриях и повреждают мембраны митохондрий, микросом и лизосом [4].

Одним из наиболее активных противоопухолевых препаратов широкого класса соединений алкилирующего механизма действия является сарколизин — 4-[ди-(2-хлорэтил)амино]-DL-фенилаланин гидрохлорид;



Впервые сарколизин был синтезирован и изучен почти одновременно двумя группами исследователей. В Англии сарколизин и его оптически активные изомеры получены F. Bergel и соавт. [8]. Изомер с L-фенилаланином вошел в медицинскую

L.I.Smirnova, N.A.Oborotova, Z.S.Shprakh, N.M.Peretolchina,
G.K.Gerasimova, L.M.Mikhailova, N.I.Zimakova, G.V.Kruglova,
E.A.Demina, A.Yu.Baryshnikov

SARCOLYSINE-LYO FOR INTRAVENOUS ADMINISTRATION

Institute of Experimental Diagnosis and Therapy of Tumors

Alkylating agents are most common drugs for the treatment of cancer. They are used both as monotherapy or in combination with other chemotherapeutics. These agents produce their biological effect mainly by reacting with nucleic acids especially DNA. The reaction results in transverse bonds between DNA molecules and DNA protein. Chloroethylamine-induced changes in DNA and other body targets lead to considerable impairment of metabolism and cell damage or death [5]. Besides, they affect mitochondrial breathing and oxidizing phosphorylation and destroy mitochondrial, microsomal and lysosomal membranes [4].

Sarcolysine, 4-[di-(2-chloroethyl)amino]-DL-phenyl alanine hydrochloride, is a most active antitumor agent from the broad range of compounds with alkylating mechanism of action.

Sarcolysine was first synthesized and studied practically simultaneously by two groups of investigators. In the UK sarcolysine and its optically active isomers were synthesized by F.Bergel et al. [8]. The isomer with L-phenyl alanine is known under the name of melphalan. In this country sarcolysine was synthesized by E.N.Shkodinskaya et al. And studied by L.F.Larionov [3]. The discovery of sarcolysine confirmed the idea of academician L.F.Larionov about the possibility to derive antitumor agents by linking cytotoxic groups to metabolites, i.e. combining the reactive cytotoxic activity of alkylating substances and metabolite transport selectivity.

Sarcolysine demonstrated clinical antitumor effect in testicular seminoma and its metastases, reticulosarcoma, malignant angioendothelioma, Ewing's tumor and myeloma. In non-Hodgkin's lymphoma sarcolysine produced a direct effect as a marked shrinkage or complete disappearance of disease in 22% to 28% of cases. In myeloma sarcolysine gave a 70% clinical response