

Е.В.Новичков

## СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ БЕЗРЕЦИДИВНОГО ПЕРИОДА У БОЛЬНЫХ СЕРОЗНЫМ РАКОМ ЯИЧНИКОВ

Ye.V. Novichkov

### METHOD FOR PREDICTION OF THE DURATION OF NON-RECURRENT PERIOD IN PATIENTS WITH OVARIAN SEROUS TUMOR

*ГОУ ВПО Кировская ГМА Росздрава*

Целью настоящей научно-исследовательской работы явилось выявление прогностически значимых патологоанатомических, морфометрических параметров овариального рака у женщин с последующей разработкой алгоритма определения продолжительности безрецидивного периода после радикального лечения.

Использовался операционно-биопсийный материал 63 больных серозными новообразованиями яичника Ic, II клинических стадий (FIGO, 2003). Морфометрические измерения проводились при помощи систем анализа Морфология 5.0 (ВидеоТест). Цифровое изображение для анализа получали с микроскопа Axiostar (Zeiss) с план-объективом FI APO 40x/0,30, совмещённого с цифровой видеокамерой Progress разрешением 800 x 600 pixel. На основании математического анализа полученной информационной матрицы была разработана кибернетическая модель, позволяющая с высокой точностью рассчитывать продолжительность безрецидивного периода данной категории онкологических больных.

**Ключевые слова:** рак яичников, прогноз, морфометрия, безрецидивный период.

The author aims at revealing prognostically important pathological-anatomical and morphological parameters of ovarian tumor in women with the subsequent establishment of the algorithm to reveal the duration of non-recurrent period after radical treatment.

We studied operational and biopsy material of 64 patients with ovarian serous tumor Ic, II clinical stages (FIGO, 2003). Morphometrical measurement was done with the help of analysis systems Morphology 5.0 (Video test). Digital image for the analysis was received from a microscope Axiostar (Zeiss) with plan objective FI APO 40x/0,30, combined with a digital video camera Progress, resolution 800 x 600 pixel. On basis of mathematical analysis of the received informational matrix we developed a cybernetic model to calculate duration of non-recurrent period of the given category for oncological patients with high precision.

**Key words:** ovarian tumor, prediction, morphometry, non-recurrent period.

Проблема рака яичников остаётся одной из самых актуальных в клинической онкологии. На сегодняшний день накоплен большой информационный материал по диагностике и лечению злокачественных опухолей различных органов, однако, карциномы яичников наиболее фатальные формы новообразований женских половых органов. Рак яичников по частоте занимает 2 – 3-е место (20%) среди опухолей женских половых органов [3, 6]. Смертность от него превышает смертность от рака шейки и тела матки вместе взятых. В Российской Федерации ежегодно от злокачественных опухолей яичников умирает почти 57% онкогинекологических больных, а 5-

летняя выживаемость их не превышает 35% [2].

В клинических рекомендациях по лечению распространённого рака яичников [1] в настоящее время нет факторов, которые могли бы быть однозначно использованы при выборе специфической терапии. Хотя сегодня описано много клинических прогностических критериев, но нам необходимы те из них, которые имеют предсказывающую важность (признаки, дающие объективную информацию для отбора пациентов, у которых следует рассчитывать на успех конкретного лечения). Использование клинко-патологоанатомических факторов является исключительно важным для стратификации пациентов при проведении клинических испытаний. При проведении анализа прогностических черт у больных диссеминированным раком яичников учитывается возраст, общее состояние пациенток, гистологическая форма опухоли, степень её дифференцировки, стадия болезни, остаточные проявления в случае производства циторедуктивной операции [5]. В то же время, по результатам исследования R. Zhang и соавт. (2003), у молодых женщин со злокачественными неоплазмами яичников только возраст пациенток, стадия заболевания и объём резидуальной опухоли имеют независимое прогностическое значение [8].

**Цель исследования.** Целью настоящей научно-исследовательской работы явилось выявление прогностически значимых патологоанатомических, морфометрических параметров овариального рака у женщин с последующей разработкой алгоритма определения продолжительности безрецидивного периода после радикального лечения.

#### **Материалы и методы**

Материалом настоящего исследования послужили гистологические препараты операционно-биопсийного материала 63 больных серозными злокачественными новообразованиями яичника Ic, II клинических стадий (FIGO, 2003). Изучались амбулаторные карты, операционные журналы, клинические истории болезни, результаты диспансерного наблюдения за онкологическими больными и парафиновые блоки патоморфологических лабораторий.

Женщины с первичными карциномами женских гонад подвергались хирургическому лечению (экстирпация матки с придатками и резекцией сальника). У всех пациенток отсутствовала противораковая предоперационная терапия. Послеоперационное лечение представляло собой химиотерапию по известной онкологической схеме.

Клиническая стадия опухоли у больных определялась по Международным классификациям TNM (2003) и FIGO (2003). Степень гистологической дифференцировки опухоли устанавливалась по критериям A.C. Broders (1926) [7].

Для морфометрической характеристики опухолевых клеток использовались системы анализа цифрового изображения Морфология 5.0 (ВидеоТест). Цифровое изображение для анализа получали с микроскопа Axiostar (Zeiss) с план-объективом FI APO 40x/0,30, совмещённого с цифровой видеокамерой Progress разрешением 800 x 600 pixel. Были определены площадь,

раковых клеток, площадь их ядер, ядерно-клеточное соотношение. С целью обеспечения высокой точности измерений в каждом наблюдении исследовалось по 100 клеток. Измерение гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, выполняли в 5 произвольных полях зрения.

Митотический режим опухолевых клеток у 350 больных первичным раком яичника был проанализирован в гистологических срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, а также по Фельгену. Митотическая активность (индекс) определялась путем подсчета 1000 опухолевых клеток при увеличении микрообъекта в 900 раз. Долю различных форм патологии митоза вычисляли в процентах к общему числу митозов (Алов А.И., 1975): отставание хромосом в мета - ана - телофазе, мосты, рассеивание хромосом и их фрагментов, многополюсные митозы, полые метафазы. Трехгрупповые метафазы, моноцентричные, а также асимметричные митозы были объединены в группу "прочие" патологические митозы. В каждом наблюдении исследовалось общее количество митозов и общее количество патологических митозов. Подсчитывалось отношение метафаз к профазам – "метафазно-профазный индекс". В дальнейшем, при рассмотрении различных видов патологических митозов с целью изучения клеточного атипизма мы объединили наиболее часто встречающиеся типы патологических митозов в 2 категории: митозы, обуславливающие анеуплоидию опухолевых клеток (отставание хромосом в мета-, ана- и телофазе, многополюсные и асимметричные митозы, трёхгрупповая метафаза) и «летальные» - приводящие к гибели клетки (рассеивание хромосом в метафазе, мосты, полая метафаза, К-митоз).

Для изучения прогностического значения составляющих стромы осуществлена квантиметрия гистологических срезов толщиной 5 мкм, окрашенных пикрофуксином по методу ван Гизон, а также серебром по методу Фута, в 10 произвольных полях зрения с помощью системы анализа цифрового изображения Морфология 5.0 (ВидеоТест). Цифровое изображение для анализа получали с микроскопа Axiostar (Zeiss) с план-объективом FI APO 40x/0,30, совмещённого с цифровой видеокамерой Progres разрешением 800 x 600 pixel. В автоматическом режиме были зафиксированы следующие показатели: количество, площадь и коэффициент округлости опухолевых сосудов; удельная доля отёка; степень зрелости и деградации коллагена; площадь, периметр, эквивалентный диаметр ядер и количество свободных клеток стромы, площадь и удельную долю ретикулярной стромы.

Полученные в ходе исследования результаты подвергнуты автоматизированной обработке с помощью специализированных статистических пакетов SPSS 10.0 с функциональными приложениями. Зависимость между признаками оценивали по коэффициенту корреляции ( $r$ ), его ошибке ( $m$ ) и уровню значимости ( $p$ ), которые высчитывались с помощью метода непараметрической корреляции Спирмена. Применялись непараметрические методы изучения достоверности разницы величин Крускала-Уоллиса и Манна-Уитни.

В своей работе мы использовали многопараметрическую линейную регрессионную модель. Доверительный интервал полученной модели

определяли по значению  $R^2$ .

### **Результаты исследования и их обсуждение**

Наиболее достоверными прогностически значимыми критериями у больных были признаны степень гистологической дифференцировки, площадь ядра опухолевой клетки, митотический индекс, удельная доля «летальных» форм митозов, количество свободных клеток стромы и плотность васкуляризации неоплазмы.

На основании математического анализа полученной информационной матрицы была разработана кибернетическая модель, позволяющая с высокой точностью рассчитывать продолжительность безрецидивного периода у данной категории онкологических больных.

Наиболее близкий способ описан в [4]. Он заключается в том, что срок наступления рецидива у больных раком молочной железы определяется по значению коэффициента соотношения концентрации общих 17-оксикортикостероидов к сумме концентраций кортизола, кортизона, тетрагидрокортизола, тетрагидрокортизона, установленных при помощи биохимического исследования в моче пациентки. При уровне коэффициента соотношения менее 2,0 прогнозируют продолжительность безрецидивного периода от 3-х до 6-ти лет после окончания комплексного лечения, а при величине соотношения более 2,0 – развитие рецидива в срок до 1,5 лет после операции.

Недостатками способа являются невозможность использования при раке яичников, прогностическое суждение носит условный характер, а используемые параметры требуют проведения специфических биохимических методов.

Сущность изобретения заключается в том, что срок наступления рецидива в месяцах вычисляется по формуле, представляющей собой линейную комбинацию нескольких переменных. Переменными являются морфологические параметры опухоли.

Способ реализуется следующим образом: определяются такие параметры опухоли как степень гистологической дифференцировки, площадь ядра опухолевой клетки, митотический индекс, удельная доля «летальных» форм митозов, количество свободных клеток стромы и плотность васкуляризации неоплазмы.

Степень дифференцировки карциномы устанавливается в соответствии с критериями А.С. Broders и учитывается в баллах: низкая степень дифференцировки 1 балл; умеренная – 2 балла; высокая – 3 балла.

Площадь ядра раковой клетки измеряется окуляром-микрометром или анализатором телевизионного изображения в  $\text{мкм}^2$ .

Митотический индекс определяется путём подсчёта общего количества фигур деления на 1000 опухолевых клеток и выражается в промиллях ( $\text{‰}$ ).

Удельная доля «летальных» для клетки форм митозов выражается в процентах (%) от общего количества фигур деления.

Количество свободных клеток подсчитывается на 10000  $\text{мкм}^2$  площади стромы с использованием анализатора телевизионного изображения.

Плотность васкуляризации вычисляется анализатором телевизионного изображения на 1000 мкм<sup>2</sup> площади стромы опухоли и выражается в мкм<sup>2</sup>.

Далее вычисляется срок наступления рецидива (Y) в месяцах по формуле:

$$Y(\text{мес}) = (-30,42) - 12,31 * X_1 + 0,04 * X_2 - 1,61 * X_3 + 1,41 * X_4 + 1,13 * X_5 + 1,29 * X_6,$$

где  $X_1$  – степень дифференцировки опухоли (1 – низкая, 3 – высокая);

$X_2$  – площадь ядра раковой клетки (мкм<sup>2</sup>);

$X_3$  – митотический индекс (‰);

$X_4$  – удельная доля «летальных» митозов от общего количества (%);

$X_5$  – количество свободных клеток на 10000 мкм<sup>2</sup> площади стромы;

$X_6$  – плотность васкуляризации на 1000 мкм<sup>2</sup> площади стромы (мкм<sup>2</sup>).

Достоинствами способа являются небольшое количество используемых морфологических критериев, простота и небольшая стоимость реактивов для получения необходимых параметров, возможность использования в рутинной патоморфологической практике и медицинской науке.

Примеры использования:

1. Больная Л., пенсионерка, 62 лет, № истории болезни 1525, поступила в Республиканский клинический онкологический диспансер гор. Чебоксары 25 октября 1998 г. с жалобами на тянущие боли внизу живота, увеличение живота, слабость. В акушерском анамнезе 10 беременностей. Менопауза более 10 лет. Объективно: состояние пациентки удовлетворительное, кожные покровы бледно-розовые, гемодинамические показатели в пределах нормы, в легких везикулярное дыхание. При пальпации живот увеличен, мягкий, безболезненный, при глубокой пальпации по Образцову определялась свободная жидкость в брюшной полости. При влагалищном исследовании выявлено опухолевидное образование в малом тазу размером до 15 см. Патологических выделений из влагалища нет. При цитологическом исследовании асцитической жидкости выявлены атипичные клетки. Иных изменений в лабораторных показателях не установлено. При лапаротомии диагностировано опухолевое поражение обоих яичников кистозного строения, метастатическое поражение большого сальника. Произведена экстирпация матки с придатками и резекцией сальника с последующими 8 курсами химио- и гормонотерапии по стандартной схеме. Клинический диагноз: Рак обоих яичников, клиническая стадия III (FIGO), T<sub>3</sub>N<sub>x</sub>M<sub>0</sub>, метастаз в сальник, асцит.

При гистологическом исследовании был выявлен серозный гистологический тип карциномы яичника высокой степени гистологической дифференцировки (3 балла). После проведения цитоморфометрического исследования установлено, что средняя площадь ядра опухолевой клетки равна 22,7 мкм<sup>2</sup>. Митотический индекс составил 3,7 ‰, удельная доля «летальных» для клетки форм митоза – 29%. При морфометрическом исследовании стромального компонента количество свободных клеток на 10000 мкм<sup>2</sup> площади стромы равнялось 8,84, а плотность васкуляризации – 32,27 мкм<sup>2</sup> на 1000 мкм<sup>2</sup> площади стромы.

Таким образом, вычисляем срок возобновления опухолевого роста:

$$Y = (-30,42) - 12,31 * 3 + 0,04 * 22,7 - 1,61 * 3,7 + 1,41 * 29 + 1,13 * 8,84 + 1,29 * 32,27 = 20,1 \text{ месяца.}$$

По данным диспансерного наблюдения за больной, полученным из онкологического диспансера установлено, что рецидив злокачественного новообразования у больной Л. Развился через 20 месяцев после радикального лечения.

2. Больная Ц., 58 лет, рабочая, № истории болезни 114, поступила в Республиканский клинический онкологический диспансер гор. Чебоксары 27 августа 1997 г. с жалобами на тянущие боли внизу живота, слабость. В акушерском анамнезе 2 беременности, менопауза 5 лет. Объективно: состояние пациентки удовлетворительное, кожные покровы физиологической окраски, гемодинамические показатели в пределах нормы, в легких везикулярное дыхание. При пальпации живот увеличен, мягкий, умеренно болезненный в левой и правой подвздошных областях. Определяется свободная жидкость в брюшной полости. При влагалищном исследовании диагностируются бугристые опухолевые узлы в малом тазу размером до 5 см. Во влагалище скудные кровянистые выделения. При пункции Дугласова пространства в брюшинной жидкости выявлены атипичные клетки. Иных изменений в лабораторных показателях не установлено. При лапаротомии диагностировано опухолевое поражение обоих яичников кистозно-солидного характера с метастатическим поражением сальника. Произведена экстирпация матки с придатками и резекцией сальника с последующими 4 курсами химио- и гормонотерапии по стандартной схеме. Клинический диагноз: Рак обоих яичников, клиническая стадия III (FIGO), T<sub>3</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>, асцит.

При гистологическом исследовании был выявлен серозный гистологический тип карциномы яичника умеренной степени гистологической дифференцировки (2 балла). После проведения цитоморфометрического исследования установлено, что средняя площадь ядра опухолевой клетки равна 23,0 мкм<sup>2</sup>. Митотический индекс составил 4,5 ‰, удельная доля «летальных» для клетки форм митоза – 29,0%. При морфометрическом исследовании стромального компонента количество свободных клеток на 10000 мкм<sup>2</sup> площади стромы равнялось 6,05, а плотность васкуляризации – 12,92 мкм<sup>2</sup> на 1000 мкм<sup>2</sup> площади стромы.

Таким образом, вычисляем срок возобновления опухолевого роста:

$$Y = (-30,42) - 12,31 \cdot 2 + 0,04 \cdot 23,0 - 1,61 \cdot 4,5 + 1,41 \cdot 29 + 1,13 \cdot 6,05 + 1,29 \cdot 12,92 = 3,02 \text{ месяца.}$$

По данным диспансерного наблюдения за больной, полученным из онкологического диспансера установлено, что рецидив злокачественного новообразования у больной Ц. развился через 3 месяца от начала радикального лечения.

### **Заключение**

На основании изучения патологоанатомических, морфометрических характеристик серозного рака яичников женских гонад разработано и внедрено в практику изобретение «Способ прогнозирования продолжительности безрецидивного периода у больных серозным раком яичников».

На данную работу получен патент РФ на изобретение №2299018 от 27 апреля 2007г.

### Список литературы

1. Винокуров В.Л. Рак яичников: закономерности метастазирования и выбор адекватного лечения больных. СПб: ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2004. 336 с.
2. Вишневецкий А.С., Скрыбин О.Н. Опухоли яичников // Журнал акушерства и женских болезней. 1999. Т. 48. № 4. С.54-60.
3. Злокачественные новообразования в России и странах СНГ в 2001 г. / Под ред. М.И. Давыдова, Е.М. Аксель. Медицинское информативное агентство, 2003. С. 293.
4. Патент Российской Федерации №2251692, опубликованный 10.05.2005, бюллетень №13.
5. Berek J.S. Bertelsen K., Bois A. et al. Advanced epithelial ovarian cancer: 1998 consensus statements // Ann. Oncol. 1999. №10 (suppl. 1). P. 87-92.
6. Bertone-Johnson E.R. Epidemiology of ovarian cancer: a status report // Lancet. 2005. Vol. 365. № 8. P.101-102.
7. Broders A.C. Carcinoma: Grading and practical application // Arch. Pathol. 1926. Vol. 2. № 1. P. 376-380.
8. Zhang R. Wu L.Y., Zhang W.H. et al. Prognostic factors of epithelial ovarian cancer in young women // Zhonghua Zhong Liu Za Zhi. 2003. Vol. 25. № 3. P. 264-267.

### Сведения об авторе:

Новичков Евгений Владимирович – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой патологической анатомии с секционным курсом ГОУ ВПО Кировская ГМА Росздрава, e-mail: [novichkovjenya@mail.ru](mailto:novichkovjenya@mail.ru).