

Доцент Е. В. Новичков  
**СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ  
ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ  
БОЛЬНЫХ СЕРОЗНОЙ  
КАРЦИНОМОЙ ЯИЧНИКА  
В КЛИМАКТЕРИЧЕСКОМ  
ПЕРИОДЕ И ПОСТМЕНОПАУЗЕ**  
*Кировская государственная медицинская  
академия*

Анализируя основные достижения в области клинической онкогинекологии за различные периоды, начиная с 1990-х гг., многие авторы отмечают, что успехи в диагностике и терапии рака не внесли существенных изменений в улучшение отдалённых результатов лечения новообразований различных локализаций, в том числе и относительно овариального рака.

Несмотря на внедрение современных диагностических технологий в конце XX века (эхографии, компьютерной, магнитно-резонансной и позитронной эмиссионной томографии, определение опухолевого маркера СА-125), более ¼ больных поступает для первичного лечения с далеко зашедшими стадиями опухолевого процесса [3].

Запущенность и отсутствие методов объективной оценки прогноза заболевания зачастую ведут к ошибке в выборе методов и объёма проводимой терапии, что значительно увеличивает риск рецидивирования и метастазирования злокачественных новообразований придатков матки, сокращая тем самым продолжительность жизни онкологических больных.

Что касается сведений о выживаемости больных раком яичников старших возрастов и молодых, то они весьма противоречивы. Так, И.Д. Нечаева (1987) в своей монографии «Опухоли яичников» сообщает, что наилучшие отдаленные результаты лечения рака яичников наблюдаются у женщин в постменопаузе, в то время как молодые пациентки живут меньше [4]. Другие авторы отстаивают противоположное мнение. I.V. Panichenko и соавт. (1997) считают, что возраст больной до 50 лет является благоприятным прогностическим фактором – 2-летняя безрецидивная выживаемость у них составляет 75,9%, что значительно выше, чем в группе больных старше 50 лет (41,0%) [10]. Эти сведения согласуются с данными Т.В. Харитоновой (1998), М. Markman и соавт. (1993), Вгау F. и соавт. (2005), показывающими лучшую выживаемость у женщин молодого возраста по сравнению с больными в постменопаузе [6, 9, 7].

По заключению Р.В. Орловой (2000), формирование стандартов лечения карцином яичника представляется крайне затруднительным для клиницистов, поскольку в большинстве случаев формулировка минимальных стандартов лечения проводится с учётом, в основном, клинических

факторов прогноза без учёта биологических особенностей рака этой локализации [5]. Такая ситуация неизбежно снижает эффект от проводимой комбинированной терапии и способствует худшей выживаемости.

*Цель исследования.* Целью настоящей научно-исследовательской работы явилось выявление прогностически значимых патологоанатомических, морфометрических, гистоспектрофотометрических и иммуногистохимических характеристик овариального рака у женщин в климактерическом периоде и постменопаузе с последующей разработкой алгоритма определения продолжительности жизни после радикального лечения.

#### **Материалы и методы**

Материалом настоящего исследования послужили гистологические препараты операционно-биопсийного материала 71 больной серозными злокачественными новообразованиями яичника Ic, II и III клинических стадий (FIGO, 1976) старше 55 лет, у которых была утрачена генеративная функция. Использовались амбулаторные карты, операционные журналы, клинические истории болезни и парафиновые блоки патоморфологических лабораторий.

Пожилые 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 в сочетании с гормонотерапией по известной онкологической схеме. В нашей работе методы лечения первичного рака яичника не учитывались.

Клиническая стадия опухоли у больных определялась по Международным классификациям TNM (1997) и FIGO (1976). Степень гистологической дифференцировки опухоли устанавливалась по критериям А.С. Broders (1926) [8].

Для морфометрической характеристики опухолевых клеток использовались системы анализа цифрового изображения Quantimet 500 C+ QWin (Leica Cambridge Ltd., 1998) и AxioVision 3.0 (Carl Zeiss GmbH, 2001). Цифровое изображение для анализа получали с микроскопа Leica REICHERT POLIVAR 2 с план-объективом FI APO 40x/0,30, совмещённого с цифровой видеокамерой JVC 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.

Плоидометрию опухолевых клеток рака женских гонад осуществляли при окраске микропрепаратов по методу Фельгена посредством компьютерного анализатора изображений Quantimet

500 C+ QWin (Leica Cambridge Ltd., 1998), совмещённого с микроскопом Leica REICHERT POLIVAR 2 на монохроматичном светофильтре длиной волны 570 нм. Для получения «тканевого стандарта плоидности» в тех же гистологических срезах определяли среднюю интегральную яркость ядер малых лимфоцитов, которая соответствует параплоидному набору хромосом (2с). Вычисляя плоидность ядер исследуемых эпителиальных клеток рака яичников в единицах «с», средние показатели интегральной яркости ядер делили на половину указанного тканевого стандарта [1].

Стромально-паренхиматозные отношения опухолевого узла (объемная плотность паренхимы, стромы, некротизированных тканей) изучались в операционно-биопсийном материале 71 больной. С этой целью все гистологические препараты окрашивались гематоксилином и эозином, пикрофуксин по ван Гизон. Исследование производилось с помощью телевизионного видеотерминала „ТВТ“ (телекамера с блоком управления, видеоконтрольное устройство „ВКУ“, электронное устройство обработки изображения, цветной видеомонитор „32 ВТЦ – PAL / SEKAM / RGB“, универсальная тестовая система (сетка) для количественной морфометрии), совмещенного со световым микроскопом. Этот телевизионный видеотерминал позволяет выделить до 8 уровней оптической плотности объекта в условных цветах (цветовых фазах) и определить соотношение площадей цветовых фаз в пределах поля экрана с точностью до 1%. Измерение объемных соотношений опухолевой ткани каждого наблюдения проводилось в 10 произвольных полях зрения микроскопа при увеличении объекта исследования в 200 раз.

В иммуногистохимической оценке пролиферативной активности рецидивирующего и безрецидивного рака яичников нами использовались антитела к PCNA, bcl-2, mt p53. При исследовании использовались мышинные моноклональные антитела к PCNA (антиген ядер пролиферирующих клеток) клона PC 10, Ig G2 (NCL-PCNA Novocastra) в разведении 1 : 200 при времени инкубации 60 мин. Затем суммировали количество клеток (%), в ядрах которых выявлялась экспрессия антигена PCNA на 300 раковых клеток. Bcl-2 обнаруживался нами с помощью моноклональных антител к bcl-2, клон Bcl-2/100/D5, Ig G1 (NCL-bcl-2 Novocastra) в разведении 1:80 при инкубации 60 мин. Положительной считалась реакция при цитоплазматической и мембранной окраске более 10% опухолевых клеток. Mt p53 дифференцировался мышинными моноклональными антителами p53, клон DO-7, IgG2b (M 7001 DakoCytomation) в разведении 1:100 при времени экспозиции 60 мин. Критерием положительной реакции считалась ядерная окраска 10% и более ядер опухолевых клеток.

Полученные в ходе исследования результаты подвергнуты автоматизированной обработке с помощью специализированных статистических па-

кетов 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<sup>2</sup>.

### Результаты исследования и их обсуждение

Наиболее достоверными прогностически значимыми критериями у женщин молодого возраста были признаны площадь опухолевой клетки, средняя плоидность ядер опухолевых клеток, уровень экспрессии онкогена-супрессора mt p53, уровень экспрессии PCNA, объёмная доля спонтанных некрозов в опухолевом узле.

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

Наиболее близкий способ описан Я.В. Бохман и соавт. (1979) [2]. Он заключается в том, что прогноз выставляется по балльной оценке некоторых факторов: возраст, метод лечения опухоли, степень дифференцировки карциномы, сопутствующие заболевания. И далее прогноз в зависимости от суммы баллов делится на благоприятный, относительно благоприятный, сомнительный и неблагоприятный. Недостатками вышеописанного способа являются большое число параметров при вычислении прогноза, а также субъективность используемых критериев.

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

Техническим результатом изобретения является повышение точности определения продолжительности жизни, уменьшение количества вычисляемых переменных и возможность использования его при планировании тактики ведения больных, а также в выборе метода лечения.

Способ реализуется следующим образом: определяются такие параметры опухоли, как площадь опухолевой клетки, средняя плоидность ядер опухолевых клеток, уровень экспрессии PCNA, уровень экспрессии p53, объёмная площадь спонтанных некрозов.

Площадь раковой клетки измеряется окуляром-микрометром или анализатором телевизионного изображения в мкм<sup>2</sup>.

Средняя плоидность ядер опухолевых клеток измеряется фотометром в единицах количества наборов хромосом, с.

Величина экспрессии PCNA (ядерного антигена пролиферирующих клеток) определяется в процентах по количеству PCNA – позитивных клеток в опухоли.

Величина экспрессии p53 выражается в баллах: отсутствие экспрессии p53 в опухолевых клетках – 0 баллов; экспрессия p53 выявлена в 1-10% клеток – 1 балл; p53 визуализируется в 11-50% клеток опухоли – 2 балла; p53 определяется в 51-100% раковых клеток – 3 балла.

Объемная доля спонтанных некрозов может быть получена с помощью морфометрических сеток и выражается в процентах от площади опухолевого узла

Далее вычисляется продолжительность жизни в месяцах по формуле:

$$ПЖ (мес) = (-67,94) + 2,09 \cdot x_1 - 10,24 \cdot x_2 + 2,84 \cdot x_3 - 47,51 \cdot x_4 - 9,69 \cdot x_5,$$

где X1 – площадь опухолевой клетки, мкм<sup>2</sup>;

X2 – средняя плоидность ядер опухолевых клеток, с;

X3 – уровень экспрессии PCNA, %;

X4 – уровень экспрессии p53 (в баллах);

X5 – объёмная площадь спонтанных некрозов, %.

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.

Опыт применения способа в клинической практике:

1. Больная А., 69 лет, № истории болезни 1035, пенсионерка, поступила в Республиканский клинический онкологический диспансер гор. Чебоксары 20 декабря 1997 г. с жалобами на сильные тупые боли в низу живота с иррадиацией в промежность и по внутренней поверхности левого бедра, выраженную слабость, снижение веса. Наследственность по онкопатологии не отягощена, в анамнезе 9 беременностей. Объективно: состояние пациента средней тяжести, кожные покровы бледные, тургор их снижен. АД – 160/100 мм рт. ст., пульс – 70/мин, в легких – ослабленное везикулярное дыхание. При пальпации живот не увеличен, мягкий, болезненный в подвздошных областях, больше слева. При глубокой пальпации диагностируется плотное опухолевидное образование размером до 20 см. При влагалищном исследовании определяется опухолевый узел диаметром до 20 см., инфильтрирующий стенку свода влагалища, плотный, несмещаемый, резко болезненный. Патологических выделений из влагалища нет. При диагностической лапаротомии диагностировано двустороннее опухолевое поражение яичников кистозно-солидного характера с прорастанием влагалища. При цитологичес-

ком исследовании в смыве выделены атипичные клетки. Произведена паллиативная двусторонняя цистовариэктомия с последующими 10 курсами химио- и гормонотерапии по стандартной схеме. Клинический диагноз: рак обоих яичников с прорастанием влагалища, клиническая стадия III (FIGO), T<sub>3</sub>N<sub>x</sub>M<sub>0</sub>, карциноматоз брюшины, метастаз в сальник.

При гистологическом исследовании №2903 был выявлен серозный гистологический тип карциномы яичника низкой степени гистологической дифференцировки. После проведения цитоморфометрического исследования установлено, что средняя площадь опухолевой клетки равна 44,79 мкм<sup>2</sup>. Средняя плоидность ядер опухолевых клеток составила 4,22 с. Экспрессия антигена p53 не определялась (0 баллов), уровень экспрессии PCNA – 90%, а объёмная площадь спонтанных некрозов составила 17,1%.

Таким образом, вычисляем продолжительность жизни:

$$ПЖ = (-67,94) + 2,09 \cdot 44,79 - 10,24 \cdot 4,22 + 2,84 \cdot 90 - 47,51 \cdot 0 - 9,69 \cdot 17,1 = 72,4 \text{ месяца.}$$

По данным диспансерного наблюдения за больной, полученным из онкологического диспансера, установлено, что пациентка А. прожила 72 месяца с момента постановки диагноза.

2. Больная А., 59 лет, № истории болезни 2190, пенсионерка, поступила в Республиканский клинический онкологический диспансер гор. Чебоксары 27 мая 2000 г. с жалобами на тянущие боли в низу живота, увеличение живота, выраженную слабость, недомогание. Наследственность по онкопатологии не отягощена, в анамнезе 2 беременностей. Объективно: состояние пациента средней тяжести, кожные покровы бледно-розовые, АД – 170/95 мм рт.ст., пульс – 68/мин, в легких – ослабленное везикулярное дыхание. При пальпации живот увеличен, мягкий, при глубокой пальпации по Образцову определяется свободная жидкость в брюшной полости. При влагалищном исследовании диагностируется плотное опухолевидное образование в малом тазу размером до 15 см. При пункции Дугласова пространства в брюшинной жидкости выявлены атипичные клетки. Иных изменений в лабораторных показателях не установлено. Произведена диагностическая цистаденопункция с последующим 1 курсом химио- и гормонотерапии по стандартной схеме. Клинический диагноз: рак яичников, клиническая стадия III (FIGO), T<sub>3</sub>N<sub>x</sub>M<sub>0</sub>. Асцит, карциноматоз брюшины.

При гистологическом исследовании №8583 был выявлен серозный гистологический тип карциномы яичника высокой степени гистологической дифференцировки. После проведения цитоморфометрического исследования установлено, что средняя площадь опухолевой клетки равна 62,47 мкм<sup>2</sup>. Средняя плоидность ядер опухолевых клеток составила 9,03 с. Экспрессия антигена p53 не выявлялась (0 баллов), уровень экспрессии

PCNA – 15%, объёмная доля спонтанных некрозов составила 1,2%.

Таким образом, вычисляем продолжительность жизни:

$$ПЖ = (-67,94) + 2,09*62,47 - 10,24*9,03 + 2,84*15 - 47,51*0 - 9,69*1,2 = 1,1 \text{ месяцев.}$$

По данным диспансерного наблюдения за больной, полученным из онкологического диспансера, установлено, что больная А. прожила 1 месяц с момента постановки диагноза.

#### Список литературы:

1. Автандилов Г.Г. Методика плоидометрии в диагностике стадий новообразований. Методические рекомендации / Г.Г. Автандилов. – М.: РМАПО. – 2005. – 12 с.
2. Бохман Я.В. Миома матки в сочетании с эндометриозом – факторы высокого риска развития злокачественных опухолей / Я.В. Бохман, А.Т. Волкова, А.Е. Колосов, И.Л. Юдковская, А.С. Вишневецкий // Миома матки: Сб. науч. тр. / Под ред. проф. Л.Н. Василевской. – М., 1979. – с. 47-50.
3. Винокуров В.Л. Рак яичников: закономерности метастазирования и выбор адекватного лечения больных / В.Л. Винокуров. – СПб: ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2004. – 336 с.
4. Нечаева И.Д. Опухоли яичников / И.Д. Нечаева. – Л.: Медицина, 1987. – 216с.
5. Орлова Р.В. Современное стандартное лечение больных раком яичников / Р.В. Орлова // Практическая онкология. – 2000. - №4. – С. 42-44.
6. Харитоновна Т.В. Опухоли яичников: клинические проблемы / Т.В. Харитоновна // Русский медицинский журнал. – 1998. – Т.6, №10. – С.23-28.
7. Bray F. Ovarian cancer in Europe: Cross-sectional trends in incidence and mortality in 28 countries, 1953-2000 / F. Bray, A.H. Loos, S. Tognazzo, C. La Vecchia // Int. J. Cancer. – 2005. – Vol.113 (6). – P. 977-90.
8. Broders A.C. Carcinoma: Grading and practical application / A.C. Broders // Arch. Pathol. – 1926. – Vol.2 (1). – P. 376-380.
9. Markman M. Impact of age on survival of patients with ovarian cancer / M. Markman, J.L. Lewis, P. Saigo et al. // Gynecol. Oncol. – 1993. – Vol.49 (2). – P. 236.
10. Panichenko I.V. Use DNA flow cytometry in diagnosis and prognosis of serous borderline tumors and high grade ovarian cancer / I.V. Panichenko, V.N. Bogatyrev, K.I. Jordania, M. Shabanov // Eur. J. Cancer. – 1997. – Vol. 33 (Suppl. 8). – P. 124.

The method is intended for evaluation of life expectancy of patients with widespread ovarian carcinoma in climax phase and menopausal period. It can be used in daily practice of pathology departments in hospitals, oncological clinics, specialized centers and research institutes. The point of the method is the development of formula including the combination of several variables: morphological parameters of a swelling, mean square of the tumor cell, average nuclear DNA-contention in tumor cells, expression level of p53, expression level of PCNA and the expression level of receptors to estrogens. The main result of that work is the receiving invention that makes possible to forecast recurrent tumor growth on the base of morphological data of primary swelling before clinical manifestations of the tumor relapse. It also can be used for planning treatment tactics in patients with widespread ovarian carcinoma in climax phase and menopausal period.

#### SUMMARY

E.V. Novichkov

### **METHOD OF LIFE EXPECTANCY PREDICTION IN PATIENTS WITH WIDESPREAD OVARIAN CARCINOMA IN CLIMAX PHASE AND MENOPAUSAL PERIOD**

*Kirov state medical academy*