

Динамика уровня CD95⁺-клеток в периферической крови у больных раком яичников в процессе комбинированного лечения

Н.Г. Кормош, Т.Н. Заботина
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Контакты: Наталия Геннадьевна Кормош nkormosh@hotmail.com

Работа посвящена исследованию содержания CD95⁺-клеток в крови больных раком яичников и доброкачественными новообразованиями. Установлено, что при злокачественном процессе низкий относительный уровень CD95⁺-клеток как до лечения, так и в процессе химиотерапии ассоциирован с низкой выживаемостью. Исходное повышение относительного уровня CD95⁺-клеток не оказывает влияния на выживаемость, повышение относительного уровня CD95⁺-клеток в процессе химиотерапии ассоциировано с низкой выживаемостью. Сделан вывод, что CD95 не может быть фактором прогноза, но реакция организма по поддержанию его уровня в пределах физиологической нормы в процессе лечения больных раком яичников позволяет достичь достоверно лучших отдаленных результатов.

Ключевые слова: рак яичников, CD95⁺-Т-лимфоциты

Evolution of CD95⁺-cells in peripheral blood of patients with ovarian cancer in during the combined treatment

N.G. Kormosh, T.N. Zabolina

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

Paper deals with the content of CD95⁺-cells in the blood of patients with ovarian cancer and benign tumors. Found that patients with a malignant process and low CD95⁺-cells before treatment and during chemotherapy have a poor survival. The initial increase in the relative level CD95⁺-cells has no effect on survival, increasing the relative level CD95⁺-cells during chemotherapy is associated with poor survival. Concluded that the CD95 can not be a factor in the forecast, but the reaction of the organism to maintain its level within the physiological range in the treatment of ovarian cancer patients can achieve significantly better long-term results.

Key words: ovarian cancer, CD95⁺-T-limphocytes

Введение

Ежегодно в мире регистрируется более 165 тыс. новых случаев рака яичников и более 100 тыс. смертей от злокачественных опухолей яичников. Рак яичников занимает 9-е место по заболеваемости онкопатологией у женщин и 5-е место среди причин женской смертности. Совершенствование химиотерапии (ХТ) и хирургической техники за последнее десятилетие привело к увеличению 5-летней выживаемости, но не изменило летальность на первом году после установления диагноза, которая составляет до 30 %.

Оценка прогноза при раке яичников, как правило, определяется распространенностью процесса, возрастом и общим состоянием больной. При ранних стадиях учитываются гистологический подтип, степень дифференцировки опухоли и уровень СА-125. При поздних стадиях практически все факторы прогноза теряют свою значимость. Однако существует группа больных раком яичников, которые живут долго, — 5-летняя выживаемость при этой патологии составляет, по разным оценкам, от 30 до 45 % [1, 2]. Поэтому поиск новых надежных

прогностических биомаркеров представляется актуальным.

CD95 (также называемый Fas и APO-1) — трансмембранный гликопротеин, являющийся членом семейства рецепторов к фактору некроза опухолей α. Основной его физиологической функцией является регуляция тканевого гомеостаза через индукцию апоптоза [3]. Процесс апоптотической гибели клеток является важным для организма в целом, поскольку предотвращает образование опухолевых клеток. Биологическая роль CD95 при онкопатологии неоднозначна. Снижение чувствительности к апоптозу обнаружено в клетках эпителиального рака яичников. J. Reed et al. показали, что проапоптотический рецептор CD95 определяется в 85 % случаев при кистозных образованиях, в 94 % — при цистаденомах, в 35 % — при пограничных опухолях и в 4 % — при злокачественных опухолях [4]. Нарушения в апоптотических сигнальных каскадах могут способствовать потенциальному выживанию раковых клеток и играют важную роль в развитии резистентности к ХТ [5, 6]. E.W. Duiker et al., изучая уровень Fas в тканях злокачественных опухолей яичников, показали, что его

снижение связано с дедифференцировкой опухоли и плохим прогнозом [7].

И.И. Антонеевой продемонстрировано, что у больных раком яичников на фоне снижения общего количества лимфоцитов происходит увеличение уровня CD95⁺-клеток, свидетельствующее как об активации, так и об усилении апоптоза лимфоидных клеток периферической крови [8].

В последние годы появились работы, свидетельствующие о том, что этот рецептор может способствовать росту опухоли не через апоптотическую активность, а через MAP-киназные сигнальные пути [9]. М. Peter, изучая уровень CD95 на различных клеточных линиях, обнаружил, что исчезновение CD95 редко встречается в опухолевых клетках, в то время как высокая его экспрессия — часто и при многих видах злокачественных опухолей, при этом *in vitro* опухолевые клетки с высоким уровнем CD95 высокочувствительны к апоптозу. Кроме того, показано, что снижение уровня CD95 в экспериментальных моделях рака яичников приводит к уменьшению размеров опухоли [10].

Для того чтобы определить клиническую значимость уровня CD95 в течении рака яичников, необходимо динамическое исследование в группах с различной выживаемостью. Поэтому целью настоящего исследования было изучение динамики изменения уровня CD95⁺-клеток в периферической крови в процессе лечения больных опухолями яичников.

Материалы и методы

В исследование включены 167 пациенток с опухолями яичников, проходившие обследование и лечение в отделении женской репродуктивной системы РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН в период с июня 1998 г. по март 2007 г.; также проанализированы данные наблюдения за ними до марта 2012 г. У 43 пациенток были доброкачественные опухоли, у 124 — рак яичников. Группу контроля составили 22 практически здоровые женщины.

Все больные раком яичников разделены на группы в соответствии с распространенностью опухолевого процесса: I—IIa стадии — 23 женщины, IIb—IV стадии — 101 пациентка. Больные получали лечение в соответствии с общепринятыми стандартами на момент поступления в стационар. ХТ во всех случаях включала препараты платины.

Иммунофенотипирование клеток периферической крови проводили на проточном цитофлюориметре FACSCalibur (Becton Dickinson, США) в программе CellQuest (Becton Dickinson, США). Использовали моноклональные антитела серии ИКО-160, полученные в лаборатории клинической радиоиммунологии РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. У всех пациенток уровень CD95 определяли при первичном поступлении, на 10-е сутки после операции, до проведения каждого курса ХТ и при контрольном обследовании в ремиссии. Данные, полу-

ченные на всех курсах ХТ, проведенных пациенткам в каждой группе, проанализированы вместе. Показатели на фоне ХТ сравнивали с исходными показателями в каждой из групп.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 5.5 (StatSoft, Inc.). Для анализа полученных данных использовали непараметрические методы: ранговые корреляции Спирмена; при сравнении 2 независимых групп — критерий Манна–Уитни, зависимых — критерий Вилкоксона. Все данные в таблицах представлены в виде: медиана (квартиль 25 — квартиль 75). Для анализа выживаемости использовали метод Каплана–Майера. Статистические различия между группами больных оценивали с помощью log-rank теста. Медиана наблюдения за всей группой ($n = 124$) больных раком яичников составила 36,6 (0,7–175,1) мес.

Клиническая характеристика больных, включенных в исследование

Средний возраст пациенток с доброкачественными изменениями яичников — 45 (18–75) лет. Размеры новообразования в среднем составляли 8 (5–30) см. По гистологической структуре новообразования были представлены: опухолями стромы полового тяжа — в 6 случаях (текома — 5, фиброма — 1); герминогенными опухолями — в 9 случаях (зрелая тератома — 8, струма яичника — 1); эпителиальными опухолями — в 17 случаях (серозная цистаденома — 8, аденофиброма — 2; муцинозная цистаденома — 4; эндометриоидная аденома — 2; доброкачественная опухоль Бреннера — 1). У 11 пациенток по данным гистологического исследования были кисты (эндометриоидные — 8, желтого тела — 3).

Средний возраст больных раком яичников I—IIa стадий составил 41 год (от 25 до 66 лет). Из 23 больных ранним раком яичников, включенных в наше исследование, 7 пациенток ранее были оперированы в других стационарах; первичная опухоль у них была удалена, и повторное оперативное вмешательство носило диагностический характер; средний интервал между операциями составил 2 мес. Остальным 16 первичным больным выполнено радикальное хирургическое вмешательство. По морфологической структуре опухоли были представлены аденокарциномой: у 13 пациенток — серозно-сосочкового типа, у 2 — муцинозного, у 5 — эндометриоидного, в 2 случаях — смешанного типа; и у 1 пациентки была обнаружена злокачественная опухоль Бреннера.

У 6 (26 %) из 23 больных ранним раком яичников выявлен рецидив заболевания в сроки от 14 до 89 мес. На момент окончания исследования живы и находятся в очередной ремиссии 2 из 6 больных с рецидивом раннего рака яичников. Из оставшихся 17 больных живы 13 пациенток; причина смерти 4 больных не была связана с онкопатологией. Таким образом, при медиане времени наблю-

Таблица 1. Основные клинические данные больных диссеминированным раком яичников в группах

Параметры	1-я группа (> 5 лет)	2-я группа (1–5 лет)	3-я группа (< 1 года)
Число больных	21	58	22
Возраст на момент постановки диагноза, годы	48,2	52,5	54,6
Стадия:			
IIb	4	0	0
IIc	1	1	0
IIIa	2	1	0
IIIb	0	4	0
IIIc	9	37	10
IV	5 (23,8 %)	15 (25,8 %)	12 (54,5 %)
Отказ от лечения	0	1	4
Сопутствующие заболевания:			
нет	8	17	4
сочетанные	3	18	10
Первичная циторедуктивная операция (ЦРО)			
оптимальная	16	21	11
неоптимальная	13	6	2
Неoadъювантная ХТ			
количество курсов	5	36	7
	2 (1–4)	2 (1–4)	4,7 (1–6)
Промежуточная ЦРО			
оптимальная	5	28	3
неоптимальная	5	15	0
Эффект ХТ 1-й линии:			
полная регрессия	21 (100 %)	33 (56,8 %)	0
частичная регрессия	0	12	0
стабилизация	0	0	3
прогрессирование	0	8	14 (77,7 %)
не оценен	0	4	1
Статус на момент окончания исследования:			
умерла	13	56	22
жива, в ремиссии	2	2	—
жива, без рецидива	6	—	—
Время до прогрессирования, мес	66,5 (26,9–131,4)	13,5 (3,9–21,7)	5,6 (2–8,2)
Общая выживаемость, мес	87,7 (61,1–175,1)	29,3 (12,6–57,4)	6,2 (0,1–11,2)

дения за больными ранним раком яичников 98,3 мес медиана общей продолжительности жизни не достигнута.

У больных распространенным раком яичников по морфологической структуре опухоли были представлены аденокарциномой: у 79 пациенток — серозно-сосочкового типа, у 8 — муцинозного, у 9 — эндометриоидного, у 3 — мезонефроидного типа, в 2 случаях — смешанной.

Для изучения значимости уровня CD95⁺-клеток нами выделены группы с крайними значениями выживаемости > 5 лет (1-я группа) и < 1 года (3-я группа). Оставшиеся больные были объединены во 2-ю группу. Характеристика групп представлена в табл. 1.

Уровень CD95⁺-клеток у первичных больных с опухолями яичников

Анализ общеклинических показателей крови подтвердил хорошо известный факт, что при злокачественном опухолевом процессе уровень лейкоцитов в периферической крови повышается, а лимфоцитов — снижается. При этом абсолютное количество лимфоцитов в периферической крови снижается до $1,67 \times 10^9/\text{л}$ уже на ранних стадиях рака яичников, и оно обратно пропорционально размеру злока-

чественной опухоли ($R = -0,42$; $p = 0,047$). У пациенток с доброкачественными опухолями яичников также отмечалось незначительное снижение числа лимфоцитов (до $1,69 \times 10^9/\text{л}$) по сравнению со здоровыми женщинами, у которых этот показатель составлял $1,83 \times 10^9/\text{л}$ ($p > 0,05$). Наиболее выраженное снижение числа лимфоцитов и рост числа лейкоцитов в периферической крови отмечены у больных распространенным раком яичников, преимущественно за счет больных 3-й группы, у которых эти показатели составляли $1,38 \times 10^9/\text{л}$ и $7,1 \times 10^9/\text{л}$.

Наиболее высокий исходный относительный уровень иммунокомпетентных CD95⁺-клеток по сравнению с практически здоровыми женщинами обнаружен у больных с доброкачественными опухолями яичников, у которых он достигал 55,5 % ($p < 0,05$). У больных с локализованным злокачественным процессом относительный уровень CD95⁺-клеток также был незначительно повышен и достигал 48,5 %, а у больных с распространенным злокачественным процессом — снижался до 39,6 % ($p < 0,017$). При разделении больных распространенным раком яичников на группы в зависимости от выживаемости оказалось, что наиболее низкий исходный уро-

вень CD95⁺-клеток наблюдался у больных 3-й группы – 32,3 %, в то время как у пациенток 1-й группы уровень CD95⁺-клеток не снижался и составлял 46,0 % (табл. 2). Несмотря на статистически значимые различия, в целом медианы относительного уровня этого показателя как у пациенток с доброкачественными опухолями, так и у больных раком яичников укладывались в границы общепринятой нормы.

Анализ абсолютного числа CD95⁺-клеток показал существование различий в зависимости от характера опухолевого процесса. При злокачественном процессе наблюдалось уменьшение абсолютного числа CD95⁺-клеток по сравнению с практически здоровыми женщинами ($p = 0,03$) и больными с доброкачественными изменениями яичников ($p = 0,013$). При диссеминированном опухолевом процессе абсолютный уровень CD95⁺-Т-клеток был достоверно ниже ($p = 0,028$), чем у пациенток с ранними стадиями заболевания, преимущественно за счет больных с низкой продолжительностью жизни.

Оценивая вместе полученные данные, можно сделать следующие выводы. Незначительное уменьшение количества лимфоцитов у больных с доброкачественными опухолями яичников и ранним раком яичников сопровождается увеличением доли активированных CD95⁺-клеток, что в свою очередь приводит к нормализации их абсолютного уровня в периферической крови. Такая реакция иммунологических клеток крови на опухолевый процесс может быть признана компенсаторной.

У больных распространенным раком яичников исходное существенное снижение уровня лимфоцитов, в том числе за счет снижения уровня активированных CD95⁺-клеток, наблюдалось у больных с низкой (< 1 года) и промежуточной (1–5 лет)

продолжительностью жизни. Такое состояние клеток иммунной системы может быть признано ареактивным. В то же время существует группа больных, у которых, несмотря на распространенный рак яичников, снижения абсолютного и относительного уровня активированных CD95⁺-клеток не происходит, и эти больные на фоне стандартного лечения живут > 5 лет.

Уровень CD95⁺-клеток у больных с доброкачественными опухолями яичников в процессе хирургического лечения

Хирургическое удаление доброкачественной опухоли яичников является единственным методом лечения этой патологии и ведет к излечению. Динамика уровня CD95⁺-клеток на 10-е сутки и через 3 мес после операции у этих пациенток представлена в табл. 3.

На 10-е сутки после удаления доброкачественного новообразования яичников наблюдалось снижение исходно повышенного относительного уровня CD95⁺-клеток ($p > 0,05$). Также отмечен рост уровня лейкоцитов с $5,9$ до $6,3 \times 10^9/\text{л}$, что приводило к незначительному повышению абсолютного уровня лимфоцитов с $1,69$ до $1,84 \times 10^9/\text{л}$ ($p > 0,05$). На этом фоне снижения абсолютных значений CD95⁺-клеток не отмечено. При контрольном обследовании через 3 мес после операции отмечался дальнейший рост абсолютного уровня лимфоцитов до $1,94 \times 10^9/\text{л}$, что было достоверно выше, чем до операции ($p = 0,041$).

Таким образом, развитие доброкачественной опухоли яичников сопровождается незначительной лимфопенией и повышением относительного уровня активированных CD95⁺-Т-лимфоцитов, удаление опухоли ведет к нормализации этих показателей на 10-е сутки после операции.

Таблица 2. Содержание CD95⁺-клеток, лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови у первичных больных с опухолями яичников

Показатели	Практически здоровые женщины	Доброкачественные опухоли	Рак яичников				
			I–IIa стадии	III–IV стадии			
				все больные	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	6,1 (5,3–6,8)	5,9 (4,7–6,6)	5,6 (5,3–7,6)	6,8** (5,2–8,2)	6,4 (5,0–8,0)	6,3 (5,3–8,5)	7,1 (5,6–9,1)
Лимфоциты, %	31,5 (29–33)	29,5 (23–34)	29,0 (22–31)	21*,** (17–27)	26,0 (18–29)	23,7 (16–26)	19* (11–27)
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,83 (1,70–2,16)	1,69 (1,32–2,03)	1,67 (1,23–1,90)	1,42* (1,12–1,84)	1,57 (1,18–1,93)	1,40 (1,08–1,87)	1,38* (0,94–1,82)
CD95 ⁺ , %	43,0 (37,6–50,6)	55,5* (42,6–60,1)	48,5 (40,2–62,7)	39,6*** (31,1–48,5)	46,0 (33,6–56,2)	40,1 (31,6–56,2)	32,3* (18,6–43,9)
CD95 ⁺ , $\times 10^6/\text{л}$	731 (542–926)	926 (609–1410)	870 (592–966)	556*** (340–825)	762 (476–904)	527 (400–844)	438* (311–698)

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с практически здоровыми женщинами; ** – $p < 0,05$ по сравнению с доброкачественным процессом; *** – $p < 0,05$ по сравнению с ранним раком яичников.

Таблица 3. Содержание CD95⁺-клеток, лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови у больных с доброкачественными изменениями яичников до и после операции

Показатели	Практически здоровые женщины	Больные с доброкачественными опухолями яичников		
		до операции	10-е сутки после операции	3 мес после операции
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	6,1 (5,3–6,8)	5,9 (4,7–6,6)	6,3** (5,0–8,2)	6,1 (5,1–6,7)
Лимфоциты, %	31,5 (29–33)	29,5 (23,0–34,0)	30,0 (22,5–33,0)	31,4 (28–33)
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,83 (1,70–2,16)	1,69 (1,32–2,03)	1,84 (1,32–2,17)	1,94** (1,60–2,16)
CD95 ⁺ , %	43,0 (37,6–50,6)	55,5* (42,6–60,1)	49,4 (38,7–61,9)	49,0 (38,1–58,7)
CD95 ⁺ , $\times 10^6/\text{л}$	731 (542–926)	926 (609–1410)	902 (666–1183)	894 (592–998)

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с практически здоровыми женщинами; ** – $p < 0,05$ по сравнению с показателями до операции.

Уровень CD95⁺-клеток у больных раком яичников I–IIa стадий в процессе комбинированного лечения

Динамика уровня CD95⁺-клеток до и после операции определена у 16 первичных больных раком яичников ранних стадий и у 7 пациенток, у которых первичная опухоль была удалена в другом стационаре и повторное оперативное вмешательство носило диагностический характер (табл. 4). Как видно из представленных данных, у больных ранним раком яичников, несмотря на исходное снижение количества лимфоцитов до $1,67 \times 10^9/\text{л}$, изменений в относительном и абсолютном уровнях CD95⁺-клеток как до операции, так и после нее не обнаружено.

Нами также проанализированы показатели у пациенток до и после повторной диагностической лапаротомии. Следует отметить, что данные показатели представляют несомненный интерес – они в определенной степени отражают состояние иммунитета через 2 мес после радикальной операции. Несмотря на небольшое число больных, в этой группе не выявлено изменения абсолютного значения лимфоцитов, которое составляло $1,81 \times 10^9/\text{л}$, также не отмечалось изменений относительного и абсолютного уровней CD95⁺-клеток. На 10-е сутки после диагностической лапаротомии у этих пациенток количество лимфоцитов, а также относительный и абсолютный уровни CD95⁺-клеток оставались стабильными и соответствовали значениям практически здоровых женщин.

В анализ уровня CD95⁺-клеток в процессе адъювантной ХТ включены данные 81 курса ХТ, проведенных 22 пациенткам (табл. 5). Проведение адъювантной ХТ больным раком яичников ранних стадий сопровождалось незначительной лимфопенией, которая не приводила к значимому снижению относительного и абсолютного уровней CD95⁺-клеток. Так, на фоне адъювантной ХТ медиана количества лимфоцитов в периферической крови снижалась до $1,34 \times 10^9/\text{л}$, что было несколько ниже, чем до проведения ХТ ($p > 0,05$). При этом снижения относительного уровня CD95⁺-клеток не наблюдалось, а их абсолютный уровень незначительно снижался – до $674 \times 10^6/\text{л}$ ($p > 0,05$).

Восстановление абсолютного уровня CD95⁺-клеток наблюдалось через 3 мес после окончания ХТ по мере восстановления уровня лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови. Через год после окончания лечения все показатели были стабильными и не отличались от аналогичных показателей у здоровых женщин.

Таким образом, рак яичников на ранних стадиях вызывает лимфопению, не затрагивая уровень активированных CD95⁺-клеток; радикальное удаление опухоли ведет к восстановлению количества лимфоцитов в течение 2 мес после операции; проведение адъювантной полихимиотерапии с включением препаратов платины сопровождается лимфопенией при сохранении уровня активированных CD95⁺-клеток.

Таблица 4. Содержание CD95⁺-клеток, лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови у больных раком яичников I–IIa стадий до и после операции

Показатели	Практически здоровые женщины	Первичная ЦРО		Диагностическая лапаротомия	
		до операции	после операции	до операции	после операции
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	6,1 (5,3–6,8)	5,6 (5,3–7,6)	6,7 (5,2–8,2)	5,8 (4,5–6,2)	6,2 (6,0–6,7)
Лимфоциты, %	31,5 (29–33)	29,0 (22–31)	25,8 (18–33)	32 (29–37)	29 (19–41)
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,83 (1,70–2,16)	1,67 (1,23–1,90)	1,63 (1,05–2,26)	1,81 (1,57–2,01)	1,84 (1,16–2,50)
CD95 ⁺ , %	43,0 (37,6–50,6)	48,5 (40,2–62,7)	47,2 (29,9–50,7)	48,5 (34,4–50,1)	42,9 (36,4–44,7)
CD95 ⁺ , $\times 10^6/\text{л}$	731 (542–926)	870 (592–966)	825 (342–866)	882 (871–1135)	832 (813–927)

Восстановление количества лимфоцитов у этих пациенток наблюдается через 3 мес после окончания ХТ.

Уровень CD95⁺-клеток у больных раком яичников IIb–IV стадий в процессе комбинированного лечения

Для изучения влияния хирургического лечения на уровень CD95⁺-клеток у больных с диссеминированным опухолевым процессом необходимо было прежде всего выделить однородные группы по выполненным операциям. Общепринято, что при диссеминированном процессе критерием оценки хирургии является оптимальность выполненной операции. При этом под оптимальной подразумевается операция, после которой максимальный размер остаточной опухоли не превышает 1 см. Из 84 выполненных нами ЦРО 41 была оптимальной: 21 первичная и 20 промежуточных. Сравнительный анализ иммунологических показателей до и после операции в группах, сформированных по критерию оптимальности выполненной операции, не выявил достоверных различий. Поэтому, учитывая, что практически все выполненные операции носили характер максимальной циторедукции, мы провели анализ иммунологических показателей в зависимости от того, на каком этапе комбинированного лечения выполнена операция. Такой анализ поможет ответить на вопрос, отличается ли иммунологическая реакция у больных,

оперированных на первом этапе комбинированного лечения, от реакции у пациенток, оперированных после проведения эффективной ХТ. Полученные данные представлены в табл. 6.

Как и следовало ожидать, у пациенток, оперированных после ХТ, уровень лейкоцитов был достоверно ниже, чем у больных, оперированных на первом этапе комбинированного лечения ($p = 0,0001$), что сопровождалось относительным лимфоцитозом. При этом абсолютное число лимфоцитов в обеих группах до операции достоверно не различалось. У пациенток обеих групп относительный и абсолютный уровни CD95⁺-клеток до операции достоверно не отличались от аналогичных показателей у практически здоровых женщин.

На 10-е сутки после первичной ЦРО наблюдалась тенденция к увеличению абсолютного числа лимфоцитов до $1,68 \times 10^9/\text{л}$ по сравнению с $1,36 \times 10^9/\text{л}$ до операции. После промежуточной ЦРО такого увеличения не отмечено — при исходно сниженных значениях ($1,26 \times 10^9/\text{л}$) после операции их уровень составил $1,22 \times 10^9/\text{л}$, что было достоверно ниже, чем у больных после первичной ЦРО ($p = 0,04$). Увеличение числа лимфоцитов после первичной ЦРО приводило к незначительному росту как относительного, так и абсолютного уровня CD95⁺-клеток по сравне-

Таблица 5. Изменения уровней CD95⁺-клеток, лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови в процессе адъювантной ХТ у больных раком яичников I–IIa стадий

Показатели	Практически здоровые женщины	Адъювантная ХТ		Ремиссия	
		до ХТ	на фоне ХТ	3 мес	1 год
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	6,1 (5,3–6,8)	6,4 (5,7–8,0)	4,1* (3,4–6,5)	5,2 (3,45–5,15)	5,6 (4,29–6,77)
Лимфоциты, %	31,5 (29–33)	27,5 (18–33)	32 (24–35)	30,5 (23,5–35,5)	33 (19–27)
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,83 (1,70–2,16)	1,68 (1,21–1,81)	1,34 (1,05–1,46)	1,57 (0,91–1,41)	1,70 (0,99–1,55)
CD95 ⁺ , %	43,0 (37,6–50,6)	45,2 (32,3–53,7)	45,8 (34,9–56,2)	45,7 (37,3–56,2)	44,8 (38,1–51,9)
CD95 ⁺ , $\times 10^6/\text{л}$	731 (542–926)	827 (395–897)	674 (431–831)	751 (487–865)	832 (513–927)

Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению с практически здоровыми женщинами.

Таблица 6. Содержание CD95⁺-клеток, лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови у больных раком яичников IIb–IV стадий в зависимости от вида ЦРО

Показатели	Практически здоровые женщины	Первичная ЦРО ($n = 48$)		Промежуточная ЦРО ($n = 36$)	
		до операции	после операции	до операции	после операции
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	6,1 (5,3–6,8)	6,3 (4,8–7,6)	6,7 (5,3–8,2)	4,4* (3,45–5,15)	5,5** (4,3–6,8)
Лимфоциты, %	31,5 (29–33)	24,1 (18–28)	26 (18–33)	30* (23,5–35,5)	24** (19–27)
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,83 (1,70–2,16)	1,36 (1,11–1,84)	1,68 (1,25–2,26)	1,26 (0,91–1,41)	1,22* (0,99–1,55)
CD95 ⁺ , %	43,0 (37,6–50,6)	41,45 (32,3–61,5)	48,35 (34,6–54,3)	47,65 (37,3–56,2)	46,9 (33–60,2)
CD95 ⁺ , $\times 10^6/\text{л}$	731 (542–926)	693 (542–926)	861 (582–1105)	616 (540–906)	546* (330–810)

Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению с соответствующими значениями при первичной ЦРО; ** — $p < 0,05$ по сравнению со значениями до операции.

Таблица 7. Изменения уровней CD95⁺-клеток, лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови в процессе ХТ у больных раком яичников IIb–IV стадий (1-я группа)

Показатели	Практически здоровые женщины	До ХТ	На фоне ХТ	Промежуточная ЦРО (n = 36)	
				до операции	после операции
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л	6,1 (5,3–6,8)	6,5 (4,9–8,1)	4,3* (3,5–5,2)	5,72 (4,7–6,5)	5,64 (4,6–6,8)
Лимфоциты, %	31,5 (29–33)	24,0 (18–26)	30,0* (24–36)	31,0 (27–37)	31,2 (28–34)
Лимфоциты, ×10 ⁹ /л	1,83 (1,70–2,16)	1,68 (1,05–2,05)	1,36 (1,12–1,49)	1,72 (1,44–2,10)	1,76 (1,60–2,10)
CD95 ⁺ , %	43,0 (37,6–50,6)	42,9 (37,5–54,9)	46,3 (35,7–55,9)	45,8 (42,8–60,0)	45,8 (40,1–56,0)
CD95 ⁺ , ×10 ⁶ /л	731 (542–926)	888 (543–996)	692 (466–786)	860 (585–1163)	806 (565–936)

Примечание. * – $p < 0,05$ по сравнению с практически здоровыми женщинами.

нию с аналогичными значениями до операции ($p > 0,05$). После промежуточной ЦРО увеличения относительного уровня CD95⁺-клеток не отмечено, а их абсолютный уровень снижался до $546 \times 10^6/\text{л}$, что было достоверно ниже, чем у больных после первичной ЦРО ($p = 0,048$).

В послеоперационном периоде осложнения наблюдались у 17 (35,4 %) из 48 больных, которым выполнена первичная ЦРО, и у 6 (16,6 %) из 36 пациенток, которых оперировали после проведения ХТ. У больных, оперированных на первом этапе комбинированного лечения, чаще развивались осложнения, требующие интенсивной терапии: почечная недостаточность – 1 случай, печеночная недостаточность – 1, септическое состояние – 3, тромбоз глубоких вен нижних конечностей – 2, длительный парез кишечника – 3, острая язва 12-перстной кишки – 2, сочетанные осложнения – 4 случая; 1 больная погибла на 4-е сутки после операции – фатальная тромбоэмболия легочной артерии. После промежуточной ЦРО только в 3 случаях развились осложнения, требующие интенсивной терапии: сердечно-сосудистая недостаточность – 1, септическое состояние – 1, острая язва 12-перстной кишки – 1; в остальных случаях наблюдались: пиелонефрит – 2 и прикультевой инфильтрат – 1. Несмотря на большее число и тяжесть послеоперационных осложнений, проведение ХТ было возможным через 17 сут после первичной ЦРО, а после промежуточной ЦРО – через 12 сут ($p > 0,05$).

Таким образом, рост абсолютного числа лимфоцитов и их активация за счет увеличения уровня CD95⁺-клеток возможны только после первичной ЦРО, а значит, у больных с относительно меньшей распространенностью опухолевого процесса. У больных раком яичников, у которых исходная распространенность опухоли не позволяла выполнить оптимальную операцию, даже после эффективной ХТ и промежуточной ЦРО такой иммунологической реакции не наблюдалось. С другой стороны, обнаруженная иммунологическая реакция не защищала от развития послеоперационных осложнений, частота и тяжесть которых у больных, оперированных на первом этапе комби-

нированного лечения, были выше, чем у пациенток, оперированных после проведения эффективной ХТ.

Уровень CD95⁺-клеток изучен у больных с диссеминированным опухолевым процессом на фоне ХТ 1-й линии производными платины в зависимости от продолжительности их последующей жизни. В 1-й группе в анализ включены данные 102 курсов ХТ, проведенных 21 пациентке с продолжительностью жизни > 5 лет. В группе больных с продолжительностью жизни 1–5 лет для анализа доступны полные данные 188 курсов, проведенных 49 больным. В 3-й группе для анализа доступны данные 69 курсов ХТ, проведенных 17 пациенткам с продолжительностью жизни < 1 года. Полученные данные представлены в табл. 7–9.

У пациенток 3-й группы еще до начала ХТ отмечались относительная лимфопения до 19 % ($p < 0,001$) и лейкоцитоз до $8,1 \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,01$), за счет которого абсолютный уровень лимфоцитов поддерживался в пределах нормальных значений – $1,55 \times 10^9/\text{л}$ (см. табл. 9). У больных 2-й группы повышения уровня лейкоцитов не наблюдалось, а снижение абсолютного уровня лимфоцитов до $1,23 \times 10^9/\text{л}$ было значимым ($p = 0,001$). Снижение как относительного, так и абсолютного уровня CD95⁺-Т-лимфоцитов по сравнению с аналогичными показателями у практически здоровых женщин отмечено только у больных 2-й ($p > 0,05$) и 3-й групп ($p < 0,05$) (см. табл. 8, 9). У больных 1-й группы (с высокой продолжительностью жизни) до начала ХТ не отмечено значимых изменений в изучаемых показателях по сравнению с аналогичными показателями у практически здоровых женщин (см. табл. 7).

У больных 1-й группы на фоне ХТ снижение уровня лейкоцитов с 6,5 до $4,3 \times 10^9/\text{л}$ сопровождалось незначительным снижением абсолютного уровня лимфоцитов с 1,68 до $1,36 \times 10^9/\text{л}$ ($p > 0,05$). На этом фоне обнаруживалась тенденция к снижению абсолютных значений CD95⁺-клеток ($p > 0,05$), уменьшения их относительного уровня не отмечено. В ремиссии, через 3 мес после последнего курса ХТ, у этих больных наблюдалось восстановление уровня лейкоцитов, абсолютного числа

лимфоцитов и CD95⁺-клеток. При последующем контрольном обследовании через 1 год все эти показатели оставались стабильными и соответствовали показателям практически здоровых женщин (см. табл. 7).

У больных 2-й группы на фоне ХТ снижение уровня лейкоцитов с 6,8 до $4,3 \times 10^9/\text{л}$ также не сопровождалось снижением абсолютного уровня лимфоцитов. Медиана абсолютного уровня лимфоцитов как до, так и в процессе ХТ составляла $1,22-1,23 \times 10^9/\text{л}$, что было достоверно ниже, чем у практически здоровых женщин ($p < 0,05$). На этом фоне значимо увеличивалась доля лимфоцитов, экспрессирующих молекулу CD95. Так, до ХТ относительный уровень CD95⁺-лимфоцитов составлял 37,1 %, а на фоне ХТ он возрастал до 49,8 % ($p < 0,01$). Изменений абсолютного уровня CD95⁺-клеток у больных этой группы на фоне ХТ не обнаружено: как до, так и в процессе ХТ абсолютный уровень CD95⁺-клеток имел устойчивую тенденцию к снижению по сравнению с аналогичным показателем у практически здоровых женщин. У этих пациенток в ремиссии не восстанавливался абсолютный уровень лимфоцитов, относительный уровень CD95⁺-клеток снижался, абсолютное число CD95⁺-Т-лимфоцитов оставалось низким по сравнению с практически здоровыми женщинами ($p < 0,001$).

У больных 3-й группы на фоне ХТ снижение уровня лейкоцитов с 8,1 до $5,1 \times 10^9/\text{л}$ сопровождалось лимфопенией до $1,12 \times 10^9/\text{л}$, что было значительно ниже, чем у этих же пациенток до ХТ ($p = 0,01$) и у практически здоровых женщин ($p < 0,001$). На этом фоне значимых изменений в относительном уровне CD95⁺-

клеток не наблюдалось — как до, так и в процессе ХТ он был низким. Абсолютное число CD95⁺-клеток снижалось с 521 до $423 \times 10^6/\text{л}$ ($p > 0,05$).

Итак, при оценке иммунологических показателей у первичных больных распространенным раком яичников было обнаружено, что изменения в процессе ХТ в большей степени определяются их исходными значениями.

1. У больных диссеминированным раком яичников с продолжительностью жизни > 5 лет (1-я группа) при исходно неизмененных показателях проведение ХТ с включением препаратов платины не приводило к достоверному снижению количества лимфоцитов, а также относительного и абсолютного уровней CD95⁺-клеток. В ремиссии, через 3 мес после последнего курса ХТ, у больных данной группы все эти показатели оставались стабильными и соответствовали показателям практически здоровых женщин.

2. У больных с продолжительностью жизни от 1 до 5 лет (2-я группа) еще до ХТ наблюдались абсолютная лимфопения и тенденция к снижению относительного и абсолютного уровней CD95⁺-клеток. На фоне ХТ у этих пациенток дальнейшего снижения количества лимфоцитов не выявлено, но повышалась доля клеток, экспрессирующих молекулу CD95, что не сопровождалось ростом абсолютного уровня CD95⁺-клеток. У этих пациенток в ремиссии относительный уровень CD95⁺-клеток снижался, а абсолютный уровень лимфоцитов и абсолютное число CD95⁺-Т-лимфоцитов оставались низкими по сравнению с показателями практически здоровых женщин.

Таблица 8. Изменения уровней CD95⁺-клеток, лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови в процессе ХТ у больных раком яичников IIb–IV стадий (2-я группа)

Показатели	Практически здоровые женщины	До ХТ	На фоне ХТ	Ремиссия (3 мес)
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	6,1 (5,3–6,8)	6,8 (5,5–8,0)	4,3** (3,5–5,2)	5,0 (3,3–6,3)
Лимфоциты, %	31,5 (29–33)	21,0* (15–26)	28,0 (20–37)	26,0 (22–36)
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,83 (1,70–2,16)	1,23* (1,05–1,85)	1,22* (0,87–1,55)	1,22* (1,09–1,56)
CD95 ⁺ , %	43,0 (37,6–50,6)	37,1 (25,6–44,4)	49,8** (38,8–57,0)	39,1 (35,1–51,6)
CD95 ⁺ , $\times 10^6/\text{л}$	731 (542–926)	493 (289–916)	574 (389–840)	515* (461–728)

Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению с практически здоровыми женщинами; ** — $p < 0,05$ по сравнению со значениями до ХТ.

Таблица 9. Изменения уровней CD95⁺-клеток, лейкоцитов и лимфоцитов в периферической крови в процессе ХТ у больных раком яичников IIb–IV стадий (3-я группа)

Показатели	Практически здоровые женщины	До ХТ	На фоне ХТ
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	6,1 (5,3–6,8)	8,1* (5,9–10,7)	5,1** (4,0–7,1)
Лимфоциты, %	31,5 (29–33)	19,0* (17–24)	20,0* (16–25)
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,83 (1,70–2,16)	1,55 (1,27–2,14)	1,12*** (0,98–1,33)
CD95 ⁺ , %	43,0 (37,6–50,6)	31,8* (21,5–35,9)	37,1* (32,7–41,3)
CD95 ⁺ , $\times 10^6/\text{л}$	731 (542–926)	521* (409–866)	423* (279–623)

Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению с практически здоровыми женщинами; ** — $p < 0,05$ по сравнению со значениями до ХТ.

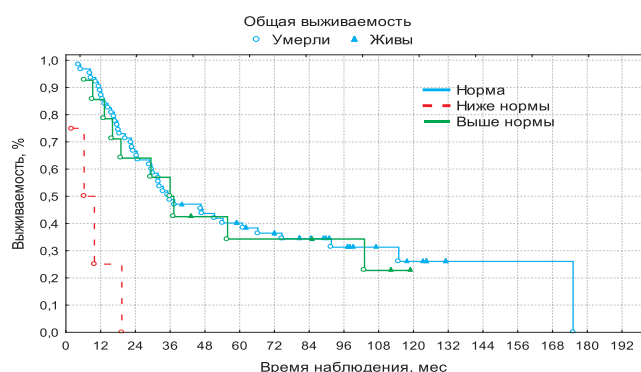


Рис. 1. Кривые общей выживаемости больных раком яичников в зависимости от исходного относительного уровня CD95⁺-клеток

3. У больных с продолжительностью жизни < 1 года (3-я группа) еще до ХТ наблюдались относительная лимфопения и снижение относительного и абсолютного уровней CD95⁺-клеток. На фоне ХТ у этих пациенток выявлено уменьшение количества лимфоцитов, а относительное и абсолютное число CD95⁺-Т-лимфоцитов оставались низкими по сравнению с показателями практически здоровых женщин.

Клиническая значимость уровня CD95⁺-клеток у больных раком яичников

Несмотря на полученные различия в уровне CD95⁺-клеток у больных раком яичников, описанные ранее, большинство значений были в пределах общепринятой нормы, диапазон которой широк (23–60 %). Для того чтобы определить клиническую значимость, всех больных раком яичников разделили на группы по относительному уровню CD95⁺-клеток – норма, ниже и выше нормы. Из 117 первичных больных раком яичников только у 4 исходный относительный уровень CD95⁺-клеток был ниже нормы и у 9 – выше. Сравнительный анализ кривых выживаемости при сравниваемых уровнях CD95⁺-клеток приведен на рис. 1. Полученные данные свидетельствуют о достоверном ухудшении выживаемости у больных с исходно низким относительным уровнем CD95⁺-клеток. Несмотря на небольшое число таких больных, их общая выживаемость составила 6,5 мес, что было достоверно меньше, чем выживаемость пациенток с нормальными значениями CD95⁺-клеток – 35,4 мес (log-rank тест, $p = 0,03$) и с высоким их уровнем – 35,9 мес (log-rank тест, $p = 0,06$).

Для оценки динамики CD95⁺-клеток в процессе ХТ в анализ включены только больные с полными данными на всех курсах ХТ до клинически значимого эффекта. Таких больных было 107. Из всех показателей взят один, не соответствующий нормальным значениям на любом курсе. В ходе такого отбора нами ни в одном случае не обнаружена ситуация, чтобы у одной больной в процессе всех курсов уровень CD95⁺-клеток

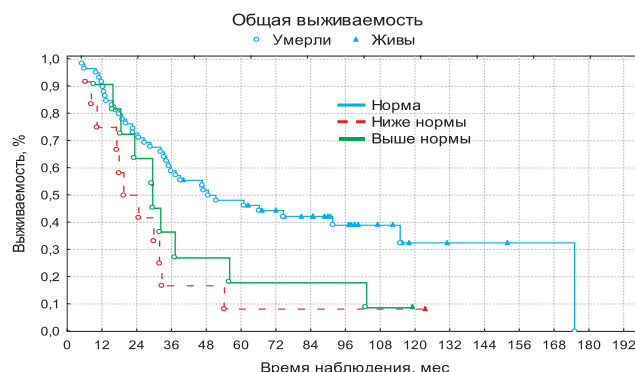


Рис. 2. Кривые общей выживаемости больных раком яичников в зависимости от относительного уровня CD95⁺-клеток на фоне ХТ

одновременно соответствовал значениям и выше, и ниже нормы. Это свидетельствует о том, что обнаруженные изменения иммунологических показателей у больных раком яичников в большей степени определяются исходными значениями.

В процессе ХТ у 11 пациенток выявлено снижение относительного уровня CD95⁺-клеток ниже нормы, причем у 4 из них исходный уровень также был ниже нормы, а у остальных приближался к ее нижней границе. Общая выживаемость этих больных составила 17,9 мес, что было достоверно меньше, чем выживаемость пациенток с нормальными значениями CD95⁺-клеток – 46,7 мес (log-rank тест, $p = 0,017$). Повышение относительного уровня CD95⁺-клеток в процессе ХТ обнаружено у 12 больных, у которых исходные значения были в пределах общепринятой нормы; общая выживаемость этих пациенток составила 29,5 мес (log-rank тест, $p = 0,092$). Сравнительный анализ кривых выживаемости при сравниваемых уровнях CD95⁺-клеток на фоне ХТ приведен на рис. 2.

Заключение

Наше исследование подтверждает, что низкий уровень CD95⁺-Т-лимфоцитов редко встречается у первичных больных раком яичников. Низкий относительный уровень CD95⁺-клеток обнаружен только у 4 из 117 таких пациенток; медиана общей выживаемости этих больных составила 6,5 мес. У 9 больных раком яичников с исходно высоким относительным уровнем CD95 медиана общей выживаемости не отличалась от таковой у пациенток, у которых пропорция CD95⁺-клеток не выходила за пределы нормальных значений, составляя 35,9 и 35,4 мес соответственно.

Особенностью нашего исследования была оценка динамики изменения уровня CD95⁺-клеток в процессе комбинированного лечения больных раком яичников. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что у больных ранним раком яичников, а также у пациенток с диссеминированным опухолевым процессом и высокой продолжительностью жизни изменений в относительном уровне CD95⁺-клеток как до, так

и в процессе комбинированного лечения не происходит. Уменьшение абсолютного числа CD95⁺-клеток у этих больных было связано со снижением общего количества лимфоцитов, которое восстанавливалось в течение 3 мес после окончания ХТ.

Повышение относительного уровня CD95⁺-клеток в процессе ХТ обнаружено у 12 больных, у которых исходные значения были в пределах общепринятой нормы; общая выживаемость этих пациенток составила 29,5 мес. Это были больные из группы с продолжительностью жизни от 1 до 5 лет, у которых на фоне ХТ наблюдался рост доли клеток, экспрессирующих молекулу CD95.

В процессе ХТ у 11 пациенток выявлено снижение относительного уровня CD95⁺-клеток ниже нормы, причем у 4 из них — за счет низкого исходного уровня, а у остальных исходный уровень приближался к низким значениям. Общая выживаемость этих пациенток составила 17,9 мес. Преимущественно это были больные из группы с продолжительностью жизни < 1 года,

у которых наблюдались самые низкие значения CD95 как до, так и в процессе лечения.

Полученные нами данные не позволяют ответить на вопрос, является ли изменение уровня CD95 защитной реакцией организма на опухолевый процесс или способствует развитию опухоли. Однако эти данные свидетельствуют о важности реакции организма на опухолевую прогрессию — низкий относительный уровень CD95⁺-клеток как до лечения, так и в процессе ХТ ассоциирован с низкой выживаемостью. Исходное повышение относительного уровня CD95⁺-клеток не оказывает влияния на выживаемость; повышение относительного уровня CD95⁺-клеток в процессе ХТ ассоциировано с низкой выживаемостью. Таким образом, CD95 не может быть фактором прогноза, но реакция организма по поддержанию его уровня в пределах физиологической нормы в процессе лечения больных раком яичников позволяет достичь достоверно лучших отдаленных результатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2007 г. Вестн РОНЦ 2009;20(3 прил 1):1–158.
2. http://seer.cancer.gov/csr/1975_2006/browse_csr.php?section=21&page=sect_21_table.08.html.
3. Strasser A., Jost P.J., Nagata S. The many roles of FAS receptor signaling in the immune system. Immunity 2009;30(2):180–92.
4. Reed J., Hakam A., Nicosia S.V., Coppola D. Significance of Fas receptor protein expression in epithelial ovarian cancer. Hum Pathol 2005;36(9):971–6.
5. Seki N., Brooks A.D., Carter C.R. et al. Tumor-specific CTL kill murine renal cancer cells using both perforin and Fas ligand-mediated lysis in vitro, but cause tumor regression *in vivo* in the absence of perforin. J Immunol 2002;168(7):3484–92.
6. Minas V., Rolaki A., Kalantaridou S.N. et al. Intratumoral CRH modulates immuno-escape of ovarian cancer cells through FasL regulation. Br J Cancer 2007;97(5):637–45.
7. Duiker E.W., van der Zee A.G., de Graeff P. et al. The extrinsic apoptosis pathway and its prognostic impact in ovarian cancer. Gynecol Oncol 2010;116(3):549–55.
8. Антонеева И.И. Обоснование и совершенствование диагностики прогрессирующего рака яичников. Дис. ... д-ра мед. наук. Уфа, 2009.
9. Peter M.E., Budd R.C., Desbarats J. et al. The CD95 receptor: apoptosis revisited. Cell 2007;129(3):447–50.
10. Chen L., Park S.M., Tumanov A.V. et al. CD95 promotes tumour growth. Nature 2010;465(7297):492–6.