

УДК 616-006.66:616-08-039.34  
DOI 10.23648/UMBJ.2018.31.17218

## ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ПАРАМЕТРОВ РЕДОКС-СИСТЕМЫ АСЦИТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ У БОЛЬНЫХ РАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ ЯИЧНИКОВ\*

Т.В. Абакумова, Д.Р. Долгова, С.О. Генинг, Т.П. Генинг, И.И. Антонеева

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г.Ульяновск, Россия

e-mail: naum-53@yandex.ru

*Рак яичников (РЯ) – злокачественное новообразование, чувствительное к химиотерапии (ХТ). Одной из наиболее эффективных на сегодняшний день признана система AP. Однако у каждой четвертой больной развивается лекарственная устойчивость при проведении ХТ. Наличие прогностических маркеров, способных оценить эффективность лечения до его начала, позволит выбрать оптимальную схему ХТ.*

*Цель исследования – оценка прогностической роли параметров редокс-системы асцитической жидкости у больных распространенным РЯ.*

*Материалы и методы. В исследование включены женщины с верифицированным асцитным РЯ. Все пациентки получали неоадъювантную ХТ (НАХТ) по схеме AP. До начала лечения у больных производили забор асцита, во внеклеточной фракции которого определяли активность ферментов: глутатион-S<sup>-</sup>-трансферазы (ГТ), глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР), а также уровень глутатиона (GSH). Морфологические изменения в опухоли, вызванные НАХТ, оценивали по системе CRS<sup>+</sup>.*

*Результаты. В ходе проведенных исследований установлено значимое возрастание активности ГПО в асцитической жидкости пациенток с полным ответом опухоли на ХТ (CRS3) по сравнению с пациентками с частичным ответом (CRS2) и без ответа (CRS1). Также в асцитической жидкости пациенток группы CRS3 имело место резкое и достоверное снижение активности ГТ*

*и уровня GSH по сравнению с этими показателями у пациенток групп CRS1 и CRS2.*

*Выводы. На основании полученных данных можно предполагать, что повышение активности ГПО в бесклеточной асцитической жидкости больных РЯ в случае химиочувствительной опухоли может служить маркером для оценки прогноза ответа опухоли на ХТ по схеме AP.*

**Ключевые слова:** рак яичников, асцит, химиотерапия, система глутатиона.

**Введение.** Рак яичников (РЯ) – наиболее частая форма злокачественных новообразований женских половых органов. Он занимает первое место в России среди причин смерти от рака гениталий [1]. Заболевание длительно протекает бессимптомно, и примерно у 80 % больных болезнь диагностируется на распространенной стадии [2]. РЯ расценивается как чувствительный к противоопухолевой лекарственной терапии (ХТ). При этом наиболее эффективными признаны системы, включающие препараты

платины, в частности САР, AP [3]. Однако при проведении индукционной ХТ у каждой четвертой больной развивается лекарственная устойчивость. Наличие прогностических маркеров, способных оценить эффективность лечения до его начала, позволило бы выбрать оптимальную схему ХТ и избавить пациентку от получения бесполезных для нее высокотоксичных цитостатиков.

По современным представлениям опухолевый асцит возникает за счет повышенной проницаемости сосудов и лимфатической обструкции. При этом образуется и накапливается перитонеальная жидкость, содержащая различные клетки, провоспалительные, проангиогенные

\* Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации (МК-3196.2018.7).

факторы, цитокины, матриксные металлопротеиназы [4, 5], а также ряд сигнальных молекул [6]. Для ряда этих соединений, в частности для провоспалительных цитокинов, показана прогностическая значимость [7]. На поздних стадиях РЯ опухолевые клетки проникают в брюшную полость; они, как правило, устойчивы к терапии и являются основным источником рецидива [8]. Глутатион – тиолсодержащий трипептид, функционирующий в качестве антиоксиданта. Он участвует в разрушении  $H_2O_2$  и пероксидов липидов. Ранее нами было показано истощение системы глутатиона и возникновение оксидантного стресса (ОС) в опухолевой ткани при асцитной форме РЯ [9]. Существует мнение, что состояние ОС может инициировать развитие адаптивного антиоксидантного ответа как фактора формирования лекарственной устойчивости [10].

Исходя из вышеизложенного представляет интерес оценка состояния глутатионовой системы среды, в которой развивается неоплазма, и корреляций параметров этой системы с эффектом ХТ.

**Цель исследования.** Оценка прогностической роли параметров глутатионовой системы асцитической жидкости у больных распространенным РЯ.

**Материалы и методы.** Все пациентки проходили обследование и лечение в гинекологическом отделении Ульяновского областного клинического онкологического диспансера в 2016–2018 гг. Асцитическая жидкость до начала специального лечения была взята у 16 пациенток. Их средний возраст составил  $59,0 \pm 7,6$  года. Критериями включения в исследование были впервые диагностированный и верифицированный асцитный РЯ III–IV стадий по FIGO (наличие BRCA-мутаций не являлось критерием исключения, поскольку это, в отличие от системы глутатиона, сигнальный путь детоксикации цитостатиков); общее состояние больной, оцененное в 0–2 балла по шкале Eastern Cooperative Oncology Group; подписанное информированное согласие и ожидаемая

продолжительность жизни более 6 мес.

Все пациентки получали неоадьювантную стандартную химиотерапию по схеме AP (НАХТ). После 2–3 курсов НАХТ проводилось оперативное вмешательство в объеме субоптимальной редукции. Забор асцита производился в стандартные пробирки объемом 50 мл. Центрифугирование проводилось при 1500 об./мин в течение 7 мин при комнатной температуре. Внеклеточная фракция помещалась в камеру при температуре  $-20^\circ C$ , далее в ней определялась активность ферментов: глутатион-S`-трансферазы (ГТ) (КФ 2.1.5.18), глутатионпероксидазы (ГПО) (1.11.1.9), глутатионредуктазы (ГР) (КФ 1.6.4.2), а также уровень глутатиона (GSH) [11]. Морфологические изменения в опухоли, вызванные НАХТ, оценивались по системе CRS (chemotherapy response score) [12].

Система подсчета баллов CRS:

Оценка CRS 1: отсутствие или минимальная реакция опухоли (в основном жизнеспособная опухоль без каких-либо или с минимальными регрессионными фибровоспалительными изменениями, ограниченная несколькими очагами).

Оценка CRS 2: заметный ответ опухоли с остаточной опухолью (варьирующийся от мультифокальных или диффузных фибровоспалительных регрессивных изменений, с опухолью в тяжах или узлах, до обширных фибровоспалительных изменений, связанных с многофокальной остаточной опухолью, которая равномерно распределяется и легко идентифицируется).

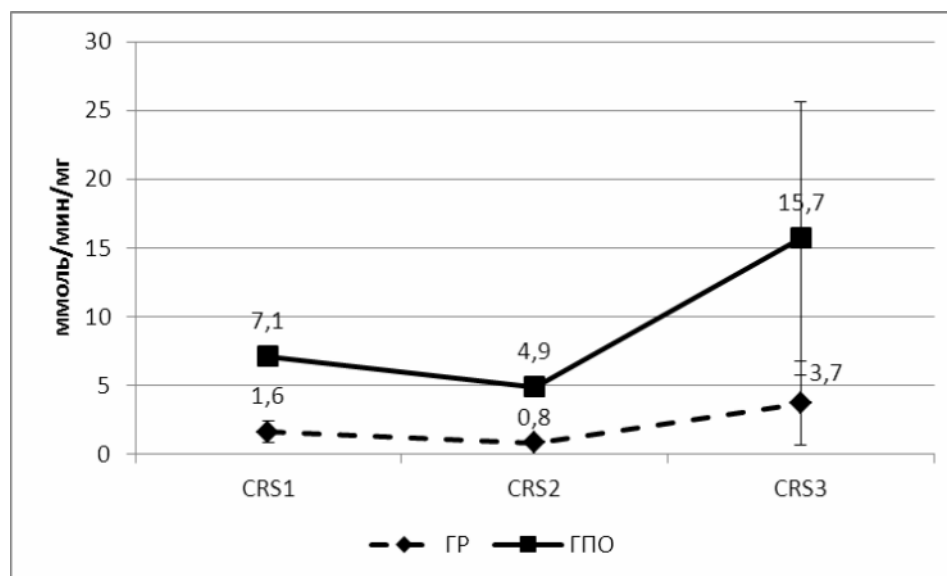
Оценка CRS 3: полный или почти полный ответ (главным образом регрессионные фибровоспалительные изменения с минимальными, т.е. очень малочисленными, нерегулярно рассеянными индивидуальными опухолевыми клетками, клеточными группами, узлами до 2 мм или отсутствие остаточной опухоли).

- Ответ опухоли отсутствует или минимальный – 1 балл.
- Выраженный ответ опухоли – 2 балла.
- Полный или почти полный ответ опухоли – 3 балла.

При статистическом анализе вычислялись среднее значение определяемых показателей, ошибка среднего. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ . При выборе статистических процедур учитывались методологические требования международного конгресса по гармонизации GGP «Статистические принципы для клинических исследований». Обработка результатов проводилась с использованием пакета программ Statistica for Windows.

**Результаты и обсуждение.** Значительный интерес представляет изучение взаимодействия опухоли и окружающей среды. Опухолевое микроокружение и, в частности, асцит – это активная зона, компоненты которой влияют на образующуюся неоплазму, активируя в ней ангиогенез, пролиферацию, провоцируя геномную нестабильность. С другой стороны, неоплазма, воздействуя на окружающие

фибробласты, клетки местной иммунной системы, сигнальные молекулы, активирует окислительные процессы, в частности образование активных форм кислорода [13–15]. Ферменты глутатионовой системы играют существенную роль в формировании прооксидантного статуса. Так, представители семейства ГПО выполняют антиоксидантную функцию [16] и, регулируя концентрацию органических гидропероксидов, участвуют в регуляции путей пролиферации и апоптоза [17]. Существует мнение, что гиперэкспрессия ферментов этого семейства защищает неоплазму от действия активных радикалов, образующихся при метаболизме цитостатиков [18]. В результате проведенных исследований нами было установлено снижение активности ГПО в асците больных группы CRS2 по сравнению с пациентками группы CRS1 и резкое возрастание активности ГПО в асците пациенток группы CRS3 ( $p = 0,0317$ ) (рис. 1).



**Рис. 1.** Активность ГПО и ГП в асците больных РЯ с различной чувствительностью к НАХТ по схеме AP

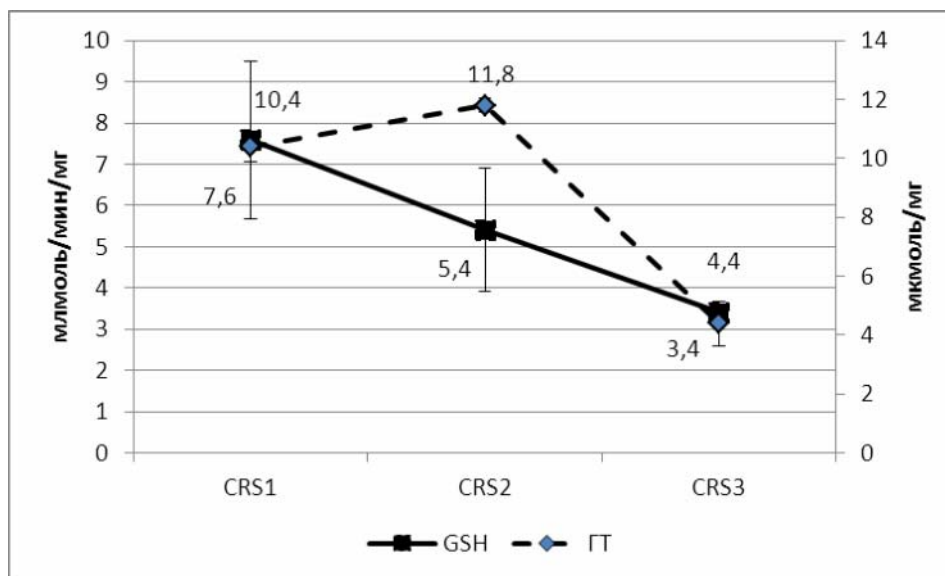
Ранее нами также был установлен повышенный уровень активности ГПО в опухолевой ткани яичника по сравнению с внешне неизменной у больных асцитной формой РЯ [9]. В то же время нами выявлено, что повышение чувствительности опухоли к ХТ по схеме AP коррелировало со снижением в асците активности ГТ

( $p = 0,9413$ ) и уровня GSH ( $p = 0,1161$ ) (рис. 2).

Также ранее установлено снижение уровня GSH в опухолевой ткани больных РЯ с полным ответом на ХТ по схеме AP (CRS3) как по сравнению с контролем, так и по сравнению с пациентами с CRS1 или CRS2 [9].

ГР, как и ГТ, является вторичным антиоксидантным ферментом. Данные, представленные на рис. 1, свидетельствуют о повышении активности ГР у пациенток с

полным ответом опухоли на ХТ по сравнению с больными с отсутствующим или частичным ответом.



**Рис. 2.** Активность ГТ и уровень GSH в асците больных РЯ с различной чувствительностью к НАХТ по схеме AP

**Заключение.** Таким образом, на основании полученных данных можно предполагать, что повышение активности ГПО в бесклеточной асцитической жидкости

больных РЯ в случае химиочувствительной опухоли может служить маркером для оценки прогноза ответа опухоли на ХТ по схеме AP.

## Литература

1. Эмануэль Н.М., Коновалова Н.П., Дьячковская Р.Ф. Чувствительность гетеротрансплантантов опухолей человека к спинмеченным производным рубомицина. Экспериментальная онкология. 1988; 10 (4): 54–59.
2. Van der Blik A.M., Borst P. Multidrug resistance. Adv. Cancer Res. 1989; 52: 165–203.
3. Drees M., Dengler W.M., Hendriks H.R., Kelland L.R., Fiebig H.H. Cycloplatum: a novel platinum compound exhibiting a different spectrum of anti-tumour activity to cisplatin. Eur. J. Cancer. 1995; 31A (3): 356–561.
4. Lupia M., Cavallaro U. Ovarian cancer stem cells: still an elusive entity? Mol. Cancer. 2017; 16 (1): 64. DOI: 10.1186/s12943-017-0638-3.
5. Worzfeld T., Finkernagel F., Reinartz S., Konzer A., Adhikary T., Nist A., Stiewe T., Wagner U., Looso M., Graumann J., Müller R. Proteotranscriptomics Reveal Signaling Networks in the Ovarian Cancer Microenvironment. Mol. Cell Proteomics. 2018; 17 (2): 270–289. DOI: 10.1074/mcp.RA117.000400.
6. Feldman J.M., Kutner H., Matte L., Lupkin M., Steinberg D., Sidora-Arcoleo K., Serebrisky D., Warman K. Prediction of peak flow values followed by feedback improves perception of lung function and adherence to inhaled corticosteroids in children with asthma. Thorax. 2012; 67 (12): 1040–1045. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2012-201789.
7. Lacroix J., Hébert P.C., Fergusson D.A., Tinmouth A., Cook D.J., Marshall J.C., Clayton L., McIntyre L., Callum J., Turgeon A.F., Blajchman M.A., Walsh T.S., Stanworth S.J., Campbell H., Capellier G., Tiberghien P., Bardiaux L., van de Watering L., van der Meer N.J., Sabri E., Vo D. Age of transfused blood in critically ill adults. N. Engl. J. Med. 2015; 372 (15): 1410–1418. DOI: 10.1056/NEJMoa1500704.

8. Sarkar S., Malekshah O.M., Nomani A., Patel N., Hatefi A. A novel chemotherapeutic protocol for peritoneal metastasis and inhibition of relapse in drug resistant ovarian cancer. *Cancer Med.* 2018; 7 (8): 3630–3641. DOI: 10.1002/cam4.1631.
9. Абакумова Т.В., Генинг С.О., Федотова А.Ю., Мясникова Д.Ф., Антонеева И.И., Долгова Д.Р., Генинг Т.П. Система глутатиона у больных раком яичников на фоне химиотерапии по схеме AP. *Ульяновский медико-биологический журнал.* 2018; 2: 63–69.
10. Калинина Е.В., Березов Т.Т., Чернов Н.Н., Санрин А.Н. Окислительный стресс и глутатионзависимые процессы в развитии лекарственной устойчивости опухолевых клеток. М.: Медпрактика; 2009. 168.
11. Карпищенко А.И., ред. Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике. 3-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013. Т. 2. 792.
12. Böhm S., Faruqi A., Said I., Lockley M., Brockbank E., Jeyarajah A., Fitzpatrick A., Ennis D., Dowe T., Santos J.L., Cook L.S., Tinker A.V., Le N.D., Gilks C.B., Singh N. Chemotherapy Response Score: Development and Validation of a System to Quantify Histopathologic Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Tubo-Ovarian High-Grade Serous carcinoma. *J. Clin. Oncol.* 2015; 33 (22): 2457–2463. DOI: 10.1200/JCO.2014.60.5212.
13. Martinez-Outschoorn U.E., Balliet R.M., Rivadeneira D.B., Chiavarina B., Pavlides S., Wang C., Whitaker-Menezes D., Daumer K.M., Lin Z., Witkiewicz A.K., Flomenberg N., Howell A., Pestell R.G., Knudsen E.S., Sotgia F., Lisanti M.P. Oxidative stress in cancer associated fibroblasts drives tumor-stroma co-evolution: A new paradigm for understanding tumor metabolism, the field effect and genomic instability in cancer cells. *Cell Cycle.* 2010; 9 (16): 3256–3276. DOI: 10.4161/cc.9.16.12553.
14. Catalano V., Turdo A., Di Franco S., Dieli F., Todaro M., Stassi G. Tumor and its microenvironment: a synergistic interplay. *Semin. Cancer Biol.* 2013; 23 (6, Pt B): 522–532. DOI: 10.1016/j.semcancer.2013.08.007.
15. Chen F., Zhuang X., Lin L., Yu P., Wang Y., Shi Y., Hu G., Sun Y. New horizons in tumor microenvironment biology: challenges and opportunities. *BMC Med.* 2015; 13: 45. DOI: 10.1186/s12916-015-0278-7.
16. Brigelius-Flohé R., Maiorino M. Glutathione peroxidases. *Biochim. Biophys. Acta.* 2013; 1830 (5): 3289–3303. DOI: 10.1016/j.bbagen.2012.11.020.
17. Itoh K., Mimura J., Yamamoto M. Discovery of the negative regulator of Nrf2, Keap1: a historical overview. *Antioxid. Redox Signal.* 2010; 13 (11): 1665–1678. DOI: 10.1089/ars.2010.3222.
18. Vibet S., Goupille C., Bougnoux P., Steghens J.P., Goré J., Mahéo K. Sensitization by docosahexaenoic acid (DHA) of breast cancer cells to anthracyclines through loss of glutathione peroxidase (GPx1) response. *Free Radic. Biol. Med.* 2008; 44 (7): 1483–1491. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.01.009.

## PROGNOSTIC ROLE OF ASCITIC FLUID REDOX SYSTEM PARAMETERS IN PATIENTS WITH OVARIAN CANCER

T.V. Abakumova, D.R. Dolgova, S.O. Gening, T.P. Gening, I.I. Antoneeva

*Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia*

e-mail: naum-53@yandex.ru

*Ovarian cancer (OC) is a malignant neoplasm sensitive to chemotherapy (CT). AP-regimen is considered to be one of the most effective schemes for today. However, every fourth patient develops drug resistance during CT. Prognostic markers, which help to assess the effectiveness of treatment beforehand, will allow physicians to choose the optimal CT scheme.*

*The aim of the paper is to assess the prognostic role of ascitic fluid redox system parameters in patients with advanced ovarian cancer.*

*Materials and Methods. The study enrolled women with verified ascitic OC. All patients received neoadjuvant chemotherapy according to AP-scheme. Before treatment, ascites sampling was taken from the patients in order to determine the enzyme activity in the extracellular fraction: glutathione-S-transferase*

(GT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR), and glutathione (GSH). Morphological changes in the tumor caused by neoadjuvant chemotherapy were assessed according to CRS`.

**Results.** The authors observed a significant increase in GPx activity in the ascites fluid of patients with complete CT response (CRS3) in comparison with patients with partial response (CRS2) and without response (CRS1). Besides, in the ascitic fluid of CRS3 patients there was a sharp and significant decrease in the GT activity and GSH level in comparison with patients of CRS1 and CRS2 groups.

**Conclusions.** On the basis of the data obtained, we can assume that an increase in GPx activity in the acellular ascitic fluid of OC patients in the case of a chemosensitive tumor may serve as a marker to evaluate the prognosis of a tumor response to CT according to AP-scheme.

**Keywords:** ovarian cancer, ascites, chemotherapy, glutathione system.

## References

1. Emanuel' N.M., Konovalova N.P., D'yachkovskaya R.F. Chuvstvitel'nost' geterotransplantantov opukholey cheloveka k spinmechennym proizvodnym rubomitsina [Sensitivity of heterotransplantations in human tumors to spin-labeled derivatives of rubomycin]. *Ekspperimental'naya onkologiya*. 1988; 10 (4): 54–59 (in Russian).
2. Van der Blik A.M., Borst P. Multidrug resistance. *Adv. Cancer Res.* 1989; 52: 165–203.
3. Drees M., Dengler W.M., Hendriks H.R., Kelland L.R., Fiebig H.H. Cycloplatum: a novel platinum compound exhibiting a different spectrum of anti-tumour activity to cisplatin. *Eur. J. Cancer*. 1995; 31A (3): 356–561.
4. Lupia M., Cavallaro U. Ovarian cancer stem cells: still an elusive entity? *Mol. Cancer*. 2017; 16 (1): 64. DOI: 10.1186/s12943-017-0638-3.
5. Worzfeld T., Finkernagel F., Reinartz S., Konzer A., Adhikary T., Nist A., Stiewe T., Wagner U., Loo-so M., Graumann J., Müller R. Proteotranscriptomics Reveal Signaling Networks in the Ovarian Cancer Microenvironment. *Mol. Cell Proteomics*. 2018; 17 (2): 270–289. DOI: 10.1074/mcp.RA117.000400.
6. Feldman J.M., Kutner H., Matte L., Lupkin M., Steinberg D., Sidora-Arcoleo K., Serebrisky D., Warman K. Prediction of peak flow values followed by feedback improves perception of lung function and adherence to inhaled corticosteroids in children with asthma. *Thorax*. 2012; 67 (12): 1040–1045. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2012-201789.
7. Lacroix J., Hébert P.C., Fergusson D.A., Timmouth A., Cook D.J., Marshall J.C., Clayton L., McIntyre L., Callum J., Turgeon A.F., Blajchman M.A., Walsh T.S., Stanworth S.J., Campbell H., Capellier G., Tiberghien P., Bardiaux L., van de Watering L., van der Mee N.J., Sabri E., Vo D. Age of transfused blood in critically ill adults. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372 (15): 1410–1418. DOI: 10.1056/NEJMoa1500704.
8. Sarkar S., Malekshah O.M., Nomani A., Patel N., Hatefi A. A novel chemotherapeutic protocol for peritoneal metastasis and inhibition of relapse in drug resistant ovarian cancer. *Cancer Med.* 2018; 7 (8): 3630–3641. DOI: 10.1002/cam4.1631.
9. Abakumova T.V., Gening S.O., Fedotova A.Yu., Myasnikova D.F., Antoneeva I.I., Dolgova D.R., Gening T.P. Sistema glutationa u bol'nykh rakom yaichnikov na fone khimioterapii po skheme AR [Glutathione treatment in patients with ovarian cancer during AP combination chemotherapy]. *Ulyanovskiy mediko-biologicheskij zhurnal*. 2018; 2: 63–69 (in Russian).
10. Kalinina E.V., Berezov T.T., Chernov N.N., Saprin A.N. Okislitel'nyy stress i glutationzavisimyye protsessy v razvitiy lekarstvennoy ustoychivosti opukholevykh kletok [Oxidative stress and glutathione-dependent processes in drug resistance development of tumor cells]. Moscow: Medpraktika; 2009. 168 (in Russian).
11. Karpishchenko A.I. *Meditinskije laboratornye tekhnologii: rukovodstvo po klinicheskoy laboratornoy diagnostike* [Medical laboratory technologies: Guidelines for clinical laboratory diagnostics]. 3-e izd. Moscow: GEOTAR-Media; 2013. T. 2. 792 (in Russian).
12. Böhm S., Faruqi A., Said I., Lockley M., Brockbank E., Jeyarajah A., Fitzpatrick A., Ennis D., Dowe T., Santos J.L., Cook L.S., Tinker A.V., Le N.D., Gilks C.B., Singh N. Chemotherapy Response Score: Development and Validation of a System to Quantify Histopathologic Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Tubo-Ovarian High-Grade Serous carcinoma. *J. Clin. Oncol.* 2015; 33 (22): 2457–2463. DOI: 10.1200/JCO.2014.60.5212.
13. Martinez-Outschoorn U.E., Balliet R.M., Rivadeneira D.B., Chiavarina B., Pavlides S., Wang C., Whitaker-Menezes D., Daumer K.M., Lin Z., Witkiewicz A.K., Flomenberg N., Howell A., Pestell R.G.,

Knudsen E.S., Sotgia F., Lisanti M.P. Oxidative stress in cancer associated fibroblasts drives tumor-stroma co-evolution: A new paradigm for understanding tumor metabolism, the field effect and genomic instability in cancer cells. *Cell Cycle*. 2010; 9 (16): 3256–3276. DOI: 10.4161/cc.9.16.12553.

14. Catalano V., Turdo A., Di Franco S., Dieli F., Todaro M., Stassi G. Tumor and its microenvironment: a synergistic interplay. *Semin. Cancer Biol.* 2013; 23 (6, Pt B): 522–532. DOI: 10.1016/j.semcancer.2013.08.007.
15. Chen F., Zhuang X., Lin L., Yu P., Wang Y., Shi Y., Hu G., Sun Y. New horizons in tumor microenvironment biology: challenges and opportunities. *BMC Med.* 2015; 13: 45. DOI: 10.1186/s12916-015-0278-7.
16. Brigelius-Flohé R., Maiorino M. Glutathione peroxidases. *Biochim. Biophys. Acta.* 2013; 1830 (5): 3289–3303. DOI: 10.1016/j.bbagen.2012.11.020.
17. Itoh K., Mimura J., Yamamoto M. Discovery of the negative regulator of Nrf2, Keap1: a historical overview. *Antioxid. Redox Signal.* 2010; 13 (11): 1665–1678. DOI: 10.1089/ars.2010.3222.
18. Vibet S., Goupille C., Bougnoux P., Steghens J.P., Goré J., Mahéo K. Sensitization by docosahexaenoic acid (DHA) of breast cancer cells to anthracyclines through loss of glutathione peroxidase (GPx1) response. *Free Radic. Biol. Med.* 2008; 44 (7): 1483–1491. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2008.01.009.