

НЕКОМЕРЧЕСКОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО  
«МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ КАРАГАНДЫ»

УДК 618.146-006-08:577.12

На правах рукописи

**ФОМЕНКО ЮРИЙ МИХАЙЛОВИЧ**

**Внеклеточные нуклеиновые кислоты и катаболиты пуринов при  
комбинированной терапии местно-распространенного  
рака шейки матки**

6D110100 – Медицина

Диссертация на соискание степени  
доктора философии (PhD)

Научные руководители:  
Доктор медицинский наук, профессор  
Сирота Валентина Брониславовна  
Доктор биологических наук, профессор  
Муравлёва Лариса Евгеньевна

Научный консультант  
MD, PhD, профессор  
Циалковская-Рыж Александра Дорота (Польша)

Республика Казахстан  
Караганда, 2019

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ</b>	4
<b>ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ</b>	5
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	6
<b>1 КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ И ПОКАЗАТЕЛИ ГОМЕОСТАЗА КРОВИ БОЛЬНЫХ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ</b>	11
1.1 Современная терапия местно-распространенного рака шейки матки	11
1.2 Внеклеточные нуклеиновые кислоты крови при онкологической патологии	14
1.3 Роль интермедиатов пуринового обмена при злокачественных новообразованиях	16
1.4 Современные представления о роли внеклеточных нейтрофильных ловушек при онкологической патологии	20
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	25
2.1 Характеристика клинического материала	25
2.2 Клинические методы исследования больных раком шейки матки	27
2.3 Методы лечения больных раком шейки матки	27
2.4 Определение биохимических показателей крови больных раком шейки матки	28
2.5 Оценка эффективности применяемых методов лечения больных раком шейки матки	29
2.6 Методы статистического анализа	30
<b>3 ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ШЕЙКИ МАТКИ</b>	32
3.1 Непосредственные результаты комбинированной терапии рака шейки матки	32
3.2 Гематологическая токсичность различных режимов терапии больных раком шейки матки	33
3.3 Негематологическая токсичность различных режимов больных раком шейки матки	41
3.4 Отдаленные результаты комбинированной терапии рака шейки матки	42
<b>4 ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ И КАТАБОЛИТЫ ПУРИНОВ КРОВИ БОЛЬНЫХ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ</b>	48
4.1 Внеклеточные нуклеиновые кислоты крови больных местно-распространенным раком шейки матки	48
4.2 Катаболиты пуринов крови больных местно-распространенным раком шейки матки	49
4.3 Нейтрофильные внеклеточные ловушки крови больных раком шейки матки	54

<b>5</b>	<b>ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ И КАТАБОЛИТЫ ПУРИНОВ КРОВИ БОЛЬНЫХ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ НА ФОНЕ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ</b>	<b>58</b>
5.1	Внеклеточные нуклеиновые кислоты крови больных местно-распространенным раком шейки матки на фоне комбинированной терапии	58
5.2	Катаболиты пуринов крови больных местно-распространенным раком шейки матки на фоне комбинированной терапии	67
	<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b>	<b>70</b>
	<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ</b>	<b>81</b>
	<b>ПРИЛОЖЕНИЯ</b>	<b>94</b>

## НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие нормативные документы:

Решение комитета по биоэтике КГМУ (протокол № 47 от 18.06.2018).

ГОСТ 7.32-2001 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

ГОСТ 7.1-2003. Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления.

Инструкция по оформлению диссертации и автореферата, Алматы, 2004, утверждена приказом Председателя ВАК МОН РК от 28 сентября 2004 г. №377-3ж.

ГОСО РК 5.04.034-2011: Государственный общеобязательный стандарт образования Республики Казахстан. Послевузовское образование. Докторантура. Основные положения (изменения от 23 августа 2012 г. № 1080).

## ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

В настоящей диссертации использованы следующие термины с соответствующими определениями, обозначениями и сокращениями:

КГМУ	–	Карагандинский государственный медицинский университет
ООД	–	Областной онкологический диспансер
МОН РК	–	Министерство образования и науки Республики Казахстан
ЛТ	–	Лучевая терапия
РОД	–	Разовая очаговая доза
Гр	–	Грей
КГП	–	Коммунальное Государственное Предприятие
РШМ	–	Рак шейки матки
МР РШМ	–	Местно-распространенный рак шейки матки
ВНЛ	–	Внеклеточные нейтрофильные ловушки
АФК	–	Активные формы кислорода
ИПО	–	Индекс пуринового обмена
ПТГ	–	Показатель тяжести гипоксии
А	–	Аденин
Г	–	гуанин
ГКс	–	Гипоксантин
Кс	–	Ксантин
МК	–	Мочевая кислота
вкДНК	–	Внеклеточная дезоксирибонуклеиновая кислота
вк РНК	–	Внеклеточная рибонуклеиновая кислота
КРФ	–	Кислоторастворимые предшественники

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** Ведущим методом лечения больных раком шейки матки в современных условиях является сочетанная лучевая терапия, как в самостоятельных радикальных программах, так и в качестве важного звена комбинированного лечения более чем 80% больных данной локализации. Несмотря на относительно удовлетворительную 5-летнюю выживаемость больных раком шейки матки III стадии (37,8-58%), тем не менее, 40-45% женщин погибают от прогрессирования распространенных форм заболевания, рецидивов и метастазов опухоли [1, 2]. Возможности стандартных методов лучевой терапии ограничены в связи с невозможностью подведения к опухоли больших доз, необходимых для радикального лечения. В условиях стандартной лучевой терапии всякая попытка повышения суммарных доз связана с высоким риском возникновения тяжелых постлучевых повреждений. Все это побуждает к поиску новых путей повышения эффективности лучевой терапии [3].

Одним из таких путей является повышение эффективности лучевой терапии путем ее комбинации с химиопрепаратами. Анализ данных литературы показал, что наиболее часто используется комбинация лучевой терапии с цисплатином. Цисплатин проникает через клеточную мембрану и реагирует с нуклеофильными участками в ДНК, что ведет к ее разнообразным повреждениям, нарушению синтеза и, в конечном итоге, к клеточной гибели. Свободные радикалы, возникающие в результате воздействия ионизирующей радиации, усиливают формирование токсичных дериватов цисплатина, что приводило к нарушению репарации ДНК [4, 5]. В настоящее время комбинация лучевой терапии с цисплатином является основным видом лечения рака шейки матки согласно республиканским и международным протоколам лечения.

При оценке эффективности программ лечения онкопатологии следует учитывать их влияние на метаболический статус организма больных. Исследования в этом направлении являются актуальными и перспективными, поскольку определение вида и направленности метаболических нарушений позволит разработать комплекс мероприятий по метаболической защите организма больных от токсических эффектов химиотерапии.

В последнее время перспективным направлением исследования в онкологии является изучение внеклеточных пуринов и нуклеиновых кислот.

Свободные пуриновые основания (аденин, гуанин) и интермедиаты катаболизма пуринов (гипоксантин, ксантин, мочева кислота) присутствуют как внутриклеточно, так и вне клеток. Высказано предположение, что ксантин и гипоксантин могут включаться в составе пуриновых нуклеотидов, что резко повышает риск развития рака [6]. Имеются достаточно противоречивые данные о взаимосвязи гиперурикемии с риском развития онкопатологии. Так, предложено рассматривать подагру как фактор риска развития рака мочевыводящей системы, пищеварительной системы и рака легких [7]. С другой стороны, опубликованы данные, не подтверждающие увеличение риска развития рака легких, печени и желудка у больных подагрой [8].

Следует отметить, что исследования внеклеточных пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов при онкопатологии носят единичный характер [9, 10]. Практически не изучена направленность и характер изменения свободных пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов при различных видах рака, включая больных раком шейки матки, в том числе в зависимости от программ лечения, что и послужило одной из задач нашего исследования.

Внеклеточные нуклеиновые кислоты (вк ДНК и РНК) циркулируют в кровотоке, как в свободном виде, так и ассоциированные с клетками крови, главным образом, с эритроцитами, а также с везикулами или в комплексе с белками. вкНК рассматриваются как своего рода стресс-сигналы и/или внеклеточные коммуникаторы. Увеличение содержания внеклеточных нуклеиновых кислот в крови индуцирует комплекс неблагоприятных эффектов, включая прокоагулянтное действие, цитотоксический эффект, индукцию провоспалительных цитокинов, вызывая стерильное воспаление. Сформулирована гипотеза активной метаболической секреции, согласно которой вкНК секретируются опухолевыми клетками и участвуют в процессах метастазирования [11, 12].

Доказано, что больные, у которых после лечения сохранялся высокий уровень вкДНК, имели более плохой прогноз [4, р. 2377; 6, р. 2323; 7]. У больных, у которых заболевание прогрессировало, уровень вкДНК оставался высоким [8, р. 378].

Различные виды рака и его локализация сопровождаются разнонаправленными изменениями по стороны внеклеточных нуклеиновых кислот. Нет единого мнения по поводу зависимости между стадией, размером опухоли ее локализацией и направленностью изменения вк НК в крови больных, в том числе раком шейки матки. Исследование вкНК в крови больных РШМ и на фоне различных режимов лечения послужило одной из задач нашего исследования.

Дискутируется вопрос о происхождении вкНК в крови онкологических больных. Высвобождение вкНК связывают с различными формами клеточной гибели (апоптоз, некроз). Определенный вклад в общий пул вкНК могут вносить и нейтрофильные внеклеточные ловушки, при образовании во внеклеточное пространство которых секретируется ДНК в комплексе с гистонами и ферментами, высвобождаемыми из гранул нейтрофилов [11, р. 3]. Не проводилось исследование внеклеточных нейтрофильных ловушек в крови больных РШМ и на фоне различных режимов его лечения, что и послужило одной из задач нашего исследования.

Таким образом, на основании анализа данных литературы в качестве основного направления исследования обосновано изучение содержания свободных пуриновых оснований, интермедиатов катаболизма пуринов и внеклеточных нуклеиновых кислот в плазме крови и эритроцитах у больных раком шейки матки до и после сочетанно-лучевой и комбинированной терапии. Представляется также перспективным оценить образование спонтанных

внуклеточных нейтрофильных ловушек в крови больных, как возможных источников внуклеточных нуклеиновых кислот.

**Цель** исследования - изучить состояние внуклеточных нуклеиновых кислот и пуринов у больных местно-распространенным раком шейки матки в оценке эффективности проведенного лечения.

#### **Задачи исследования**

1. Провести сравнительный анализ эффективности лечения местно-распространенного рака шейки матки при лучевой терапии и лучевой терапии в комбинации с химиотерапией.

2. Определить токсичность различного вида проводимой терапии у больных местно-распространенным раком шейки матки.

3. Определить уровень внуклеточных нуклеиновых кислот и интермедиатов катаболизма пуринов в эритроцитах и плазме крови больных раком шейки матки для оценки эффективности проводимой терапии.

4. Провести расчет корреляционной взаимосвязи между внуклеточными нуклеиновыми кислотами и интермедиатами катаболизма пуринов в крови больных раком шейки матки и на фоне сочетанно-лучевой и комбинированной терапии.

5. Определить способность к генерации внуклеточных нейтрофильных ловушек в крови больных раком шейки матки в процессе лечения.

6. Определить патогенетическую значимость изменений внуклеточных нуклеиновых кислот, интермедиатов катаболизма пуринов и способности образовывать ВНЛ в крови больных раком шейки матки.

#### **Научная новизна**

Впервые было установлено, что снижение вк РНК в плазме крови больных коррелировало с размером опухоли, определение его уровня в плазме крови можно использовать как потенциальный маркер прогрессирования рака (свидетельство о государственной регистрации прав на объект авторского права, выданные комитетом Министерства юстиции РК № 2797 от 27 августа 2018 г.).

Впервые было установлено достоверное увеличение ксантина и мочевой кислоты в плазме крови больных МР РШМ, тогда как в эритроцитах больных этой группы достоверно возросло содержание гуанина, гипоксантина и аденина на фоне разнонаправленного изменения индексов пуринового обмена и активности ксантиноксидазы. Катаболиты пуринов крови могут быть дополнительными биохимическими индикаторами степени распространенности опухолевого процесса и эффективности проводимой терапии (свидетельство о государственной регистрации прав на объект авторского права, выданные комитетом Министерства юстиции РК № 2800 от 27 августа 2018 г.).

Впервые определена направленность изменения внуклеточных нуклеиновых кислот и интермедиатов катаболизма пуринов в крови больных раком шейки матки до и после комбинированной терапии в оценке ее эффективности.

Впервые на основании расчетов коррелятивных зависимостей была показана взаимосвязь между внеклеточными нуклеиновыми кислотами и интермедиатами обмена пуринов в плазме и эритроцитах крови больных МР РШМ.

Впервые была установлена способность к генерации внеклеточных ловушек нейтрофилами крови у больных РШМ.

Впервые показано, что комбинированная терапия с фторафуром и цисплатином не влияла на способность нейтрофилов крови больных РШМ к образованию внеклеточных ловушек, но стимулировала их образование базофилами.

**Теоретическая значимость исследования.** Полученные результаты позволили сформулировать выводы о механизмах изменения содержания внеклеточных нуклеиновых кислот и интермедиатов катаболизма пуринов.

**Практическая ценность.** Определен вид комбинированной терапии рака шейки матки, имеющий наибольшую эффективность. Комбинация СЛТ с цисплатином повышает частоту полных и частичных ответов опухоли на 28,3% и 3-летнюю выживаемость у больных МР РШМ по сравнению с пациентками, получавшими только СЛТ.

Определение уровня вкРНК в плазме крови может рассматриваться как потенциальный маркер прогрессирования РШМ.

Определение содержания гуанина, гипоксантина и аденина в эритроцитах крови и ксантина в плазме крови у больных раком шейки матки для уточнения степени распространенности рака, для III стадии рака размах показателей: в эритроцитах гуанина 485-733, гипоксантина 570-780, аденина 625-823, в плазме ксантина 144-227.

Определение содержания гуанина, гипоксантина и аденина в эритроцитах и плазме крови у больных раком шейки матки на фоне лучевой терапии, как наиболее чувствительных к эффективности проводимой терапии. Выявлены статистически значимые линейные тренды роста показателей гуанина и гипоксантина в эритроцитах и плазме, аденина в плазме крови больных раком шейки матки на фоне лучевой терапии с цисплатином.

#### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Проведение сочетанной лучевой терапии в комбинации с цисплатином является наиболее эффективным методом лечения МР РШМ.

2. В крови больных РШМ степень снижения вк РНК зависит от стадии опухоли.

3. Эритроциты и плазма крови больных РШМ различаются по виду аккумулирующихся интермедиатов катаболизма пуринов, по направленности изменения индекса пуринового обмена и активности ксантиноксидазы.

4. Изменения вк НК и интермедиатов обмена пуринов в крови больных РШМ взаимосвязаны между собой.

5. Нейтрофилы и базофилы крови больных РШМ обнаруживают способность к генерации внеклеточных ловушек.

б. Определение внеклеточных нуклеиновых кислот и катаболитов пуринов у больных с распространенным раком шейки матки является оценкой эффективности проводимой терапии.

**Апробация работы.** Основные результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на международной конференции молодых ученых «Мир науки и молодежь: эра стремительных изменений» 28 апреля 2018 (Караганда); на международной научной конференции «Modern problems of clinical medicine» 10-16 мая 2018 (Czech Republic, Prague); IASGO World Congress, September 9-12, 2018 (Moscow); международной научно-практической конференции «Персонафицированный подход в диагностике и лечении злокачественных новообразований» 11-12 октября 2018 (Астана); Sino-French-Kazakh Workshop on Innovative Therapeutic Solutions for Cancer and Ageing diseases 18-19 October 2018 (Nazarbayev University, Astana); на заседании кафедры онкологии и лучевой диагностики КГМУ 23.01.2019; на заседании НЭК 20.02.2019 №1.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ: в материалах международных конференций - 5, в научных изданиях, рекомендуемых Комитетом – 3 (журнал «Медицина и экология» - 2, Современные проблемы науки и образования -1), в международном научном издании (“Georgian Medical News”) – 1, в международном научном издании, входящем в базу данных компании Scopus (журнал «Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences») – 1. Получено 2 свидетельства о государственной регистрации прав на объект авторского права, выданные комитетом Министерства юстиции РК № 2797 от 27 августа 2018 г. («Внеклеточные нуклеиновые кислоты крови больных местно-распространенным раком шейки матки и на фоне комбинированной терапии»), № 2800 от 27 августа 2018 г. («Катаболиты пуринов крови больных местно-распространенным раком шейки матки»).

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 97 страницах, состоит из перечня обозначений и сокращений, введения, обзора литературы, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, приложений. Библиографический указатель содержит 167 источников, из них на русском языке - 46, на иностранных языках - 121. Диссертационная работа иллюстрирована 34 таблицами, 14 рисунками.

**Реализация работы.** Результаты исследования внедрены в КГП «Областной онкологический диспансер» г. Караганды, в учебный процесс кафедры онкологии и биохимии Карагандинского государственного медицинского университета. Диссертационная работа написана в инициативном порядке.

# **1 КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ И ПОКАЗАТЕЛИ ГОМЕОСТАЗА КРОВИ БОЛЬНЫХ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ**

## **1.1 Современная терапия местно-распространенного рака шейки матки**

Рак шейки матки (РШМ) – это социально-значимая проблема развивающихся стран, лидирующая причина смертности женщин трудоспособного возраста. РШМ по данным Globocan 2012 занимает четвертое место среди онкологических заболеваний у женщин и седьмое место среди всех злокачественных новообразований. На сегодняшний день, существующие методы первичной профилактики заметно снизили уровень заболеваемости РШМ в развитых странах. Но в ряде стран сохраняется тенденция к росту заболеваемости злокачественными новообразованиями шейки матки [13, 14].

В Республике Казахстан показатели заболеваемости колеблются от 17‰ до 20‰ женского населения. Показатели смертности от рака шейки матки также имеют существенные отличия по странам, как и показатели отношения смертности к заболеваемости. Данный показатель очень высок в Казахстане (41,3‰), что в полтора-два раза выше, чем в Дании (17,9‰), Германии (20,7‰), Финляндии (23,3‰), но ниже чем в Кыргызстане (47,3‰) и Индии (56,8‰). В Казахстане злокачественные новообразования шейки матки среди злокачественных опухолей занимают 5 ранговую позицию и десятое место по смертности в общей популяции. В 2015 году доля злокачественных новообразований шейки матки в общей заболеваемости онкологической патологией составила 5,01% [15-17].

При анализе РШМ в разрезе стадий отмечается увеличение частоты выявления данного заболевания в первой стадии за период с 2004 по 2014 годы. В 2004 году было выявлено 735 женщин со злокачественными новообразованиями шейки матки в первой стадии, а в 2014 году 1467 женщин, что составляет двукратное увеличение выявления рака шейки матки. Данная тенденция связана с успешным внедрением национальной скрининговой программы раннего выявления рака шейки матки. Также можно заметить снижение обнаружения рака шейки матки в третьей стадии, что нельзя сказать об обнаружении данной патологии в запущенной форме [17, с. 3; 18].

Основными видами лечения больных раком шейки матки являются хирургическое вмешательство и лучевая терапия. Хирургическое лечение применяется на ранних стадиях заболевания, а при местно-распространенном РШМ используются сочетанно-лучевая терапия. 5-летняя выживаемость при использовании лучевой терапии достигает 65% и варьирует от 15% до 80% [19].

Проведение лучевой терапии с использованием повышенных доз облучения ведет к уменьшению частоты местного прогрессирования, лучевое повреждение тканей и органов малого таза лимитируют возможности дальнейшего увеличения дозы. Кроме этого, лучевая терапия недостаточно эффективно контролирует метастазы в парааортальные забрюшинные

лимфоузлы, которые наблюдаются у 30% больных с местно-распространенным процессом, и не влияет на рост отдаленных метастазов [3].

При комбинации лучевой терапии с химиотерапией противоопухолевые препараты усиливают лучевое повреждение опухолевых клеток и оказывают воздействие на отдаленные метастазы. Таким образом, совместное применение лучевой терапии и химиотерапии может повысить противоопухолевый эффект лечения больных РШМ [20-23].

Возникает главный вопрос, в какой последовательности применять эти методы лечения. Сначала химиотерапия, затем лучевая или назначение одновременно обоих методов.

Если проводить на первом этапе химиотерапию (неoadьювантную), а затем - лучевую терапию, то можно ожидать уменьшение первичной опухоли, метастазов в регионарные лимфоузлы и устранение канцеромии. Было проведено ряд таких исследований, где при местно-распространенном РШМ на первом этапе проводилась химиотерапия, на втором – лучевая терапия. Но не было получено улучшения, как непосредственных, так и отдаленных результатов лечения [4, p. 2377; 5, p. 296; 24; 25].

Souhami L. et al и Tattersall M. et al. показали даже статистически значимое уменьшение продолжительности жизни больных после последовательного применения сначала химиотерапии, затем лучевой терапии по сравнению только с лучевым лечением. Это можно объяснить предположением, что проведение химиотерапии на первом этапе приводит к элиминации чувствительных клеточных клонов и появлению резистентных клеток к химиотерапии и лучевой терапии. Поэтому сегодня проведение неoadьювантной химиотерапии с последующей лучевой терапией представляется нецелесообразным [26, 27].

В дальнейшем начали проводить исследования по одновременному применению химиотерапии и лучевой терапии, до [28] или после [29] оперативного лечения. Beneditti-Panici P. et al. показали преимущество неoadьювантной химиотерапии при хирургическом лечении, так как проведение химиотерапии вызывало регресс первичной опухоли и отдаленных микрометастазов и повышало процент выполнения радикальных операций [30]. Так в исследовании Keys H.M., Bundy B.N., Stehman F.B. et al. на первом этапе проводили химиолучевое лечение с цисплатином или только лучевую терапию с последующей операцией. В группе с химиолучевым лечением наблюдали уменьшение частоты местного прогрессирования (9% по сравнению с 21% в группе лучевой терапии) и повышение 3-летней выживаемости на 9% (83% и 74%, соответственно,  $p=0.008$ ).

В исследовании Peters W.A. et al. (2000) на первом этапе больным выполнялась радикальная гистерэктомия с лимфодиссекцией, на втором этапе стандартная лучевая или химиолучевая терапия (цисплатин в дозе  $70 \text{ мг/м}^2$  1 день и 5-фторурацил в суточной дозе  $1000 \text{ мг/м}^2$  в течение 4 суток каждые 3 недели, 4 курса, причем 1 и 2 курсы проводились на фоне лучевой терапии). Проведение химиотерапии статистически значимо улучшило отдаленные

результаты лучевой терапии (4-летняя безрецидивная выживаемость составила 80% для химиолучевой терапии и 63% для лучевой, 4-летняя общая выживаемость 81% и 71%, соответственно) [31].

В настоящее время проводятся исследования, где у больных с местно-распространенным РШМ лучевая или химиолучевая терапия применяются в качестве самостоятельного метода лечения. В исследовании Morris M., Eifel R.J., Lu J. et al. одна группа пациенток РШМ получала только лучевую терапию, другая – комбинацию лучевой с химиотерапией (цисплатин в дозе 75 мг/м<sup>2</sup> 1 день и 5-фторурацил в дозе 4000 г/м<sup>2</sup> с 1 по 5 дни, подобный курс повторяли на 22 день). В группе лучевой и комбинированной терапии 5-летняя безрецидивная выживаемость составила 40% и 67%, соответственно, 5-летняя общая выживаемость 58% и 73% (p.=0.004) [32].

Григоренко С.В. с соавторами (2012) показывает быстрые темпы регрессии распространенных форм рака шейки матки у больных при использовании сочетанной лучевой терапии в условиях модификации препаратом Фторафур. При этом опухоли с преобладанием экзофитных форм имели более быстрые темпы регрессии по сравнению с эндофитными и тем более с инфильтративно-язвенными вариантами роста. Показателем эффективности методик сочетанной лучевой терапии явился анализ ближайших результатов лечения. Предложенная схема модификации является достаточно эффективной, как с точки зрения излечения распространенных опухолевых процессов, так и в отношении минимизации риска лучевых реакций и осложнений [20, с. 81].

Анализ стандартной методики сочетанной лучевой терапии в комбинации с фторафуром в качестве радиомодификатора позволил достичь полной регрессии опухоли в 36,6% случаев. Общая эффективность (частота полных+частичных регрессий) предложенной терапии была высокой и составила 78,9%. Проявления токсичности не повлияли на общее состояние пациенток и не превышали I – II степени токсичности по шкале EORTG [21, p. 63].

В исследовании Rose P.G., Bundy V.N., Watkins E.V. et al. больным местно-распространенным РШМ проводилась лучевая терапия с одновременным назначением гидроксимочевины 3 г/м<sup>2</sup> 2 раза в неделю внутрь 6 недель (1 группа) либо цисплатина в дозе 40 мг/м<sup>2</sup> еженедельно 6 недель (2 группа), либо комбинации цисплатина 50 мг/м<sup>2</sup> 1 и 29 дни, 5-фторурацила в суточной дозе 1000 мг/м<sup>2</sup> в/в инфузия в течение 4 суток 1 и 29 дни и гидроксимочевины 2 г/м<sup>2</sup> внутрь 2 раза в неделю 6 недель (3 группа) [33]. 2-летняя безрецидивная выживаемость была значительно выше в группах больных, получавших цисплатин (67% и 64%), по сравнению с группой, получавшей гидроксимочевину (47%). Комбинация цисплатина, 5-фторурацила и гидроксимочевины имела большую токсичность по сравнению с цисплатином в монорежиме, поэтому назначение цисплатина совместно с облучением более предпочтительно.

Li Z., Yang S., Liu L., Han S. (2014) исследовали при местнораспространенном раке шейки матки эффективность лучевой терапии и лучевой терапии в комбинации с цисплатином 20 мг/м<sup>2</sup> в течение 5 дней. Пятилетняя выживаемость при проведении химиолучевой терапии составила 67%, при лучевой – 53%, безрецидивная выживаемость была 62 и 51 месяца, соответственно (p=0,025). Профиль токсичности обеих методов был сопоставим [34].

Далее еще в ряде исследований было подтверждено снижение риска смерти от РШМ в группе химиолучевой терапии [35-38]. Параллельно ведется поиск оптимального химиопрепарата, например, использование гемцитабина в качестве радиомодификатора [39].

Таким образом, терапия местнораспространенного РШМ остается сложной и нерешенной проблемой клинической онкологии, которая требует постоянного поиска новых методологических подходов. Данные литературы свидетельствуют о целесообразности совместного назначения лучевой терапии и химиотерапии у больных местнораспространенным раком шейки матки. Предстоит еще много сделать, чтобы оптимизировать комбинацию этих двух лечебных подходов как с точки зрения эффективности при различных стадиях заболевания, так и переносимости лечения.

## **1.2 Внеклеточные нуклеиновые кислоты крови при онкологической патологии**

Важным направлением медико-биологических исследований является изучение внеклеточных (или циркулирующих) нуклеиновых кислот (вкНК) при различных патологических состояниях, в том числе при злокачественных новообразованиях.

Рядом исследований установлено повышение концентрации циркулирующей ДНК в плазме крови больных раком различной локализации по сравнению с контролем [40-42]. При этом, содержание циркулирующей ДНК в плазме крови больных с онкопатологией было выше таковой у больных с доброкачественными опухолями [43].

Причинами увеличения вкНК в крови являются активная метаболическая секреция [44], различные формы клеточной гибели [45], а также внеклеточные нейтрофильные ловушки [44, с. 11]. Кроме того, внеклеточные НК могут секретироваться из опухолевых клеток в составе везикул – онкосом. Высказано предположение, что онкосомы могут содержать онкобелки и другие биологически активные молекулы, способные стимулировать прогрессирование опухоли, инвазию, ангиогенез и метастазы [46].

Циркулирующие НК в кровотоке подвергаются воздействию экзонуклеаз с образованием олигомеров, которые затем связываются с эритроцитами и с лейкоцитами, как с помощью ионных взаимодействий, так и с белками клеточной мембраны. Высказано предположение, что сорбция олигомеров на эритроцитах защищает их от дальнейшей деградации до нуклеотидов, нуклеозидов и продуктов их катаболизма, обладающих функцией молекул

тревоги – аларминов [45, с. 42]. В тоже время обнаружено наличие в эритроцитах высокомолекулярных последовательностей L1, которые участвуют в каталитической деградации вкНК опухолевого генеза [47]. Лейкоциты, мигрируя в ткани, способны переносить и опухолевую ДНК. Кроме того, олигомеры внеклеточных ДНК могут связываться не только с клетками, но и с белками плазмы крови, в частности, с альбумином, фибронектином, лактоферрином и др. [45, с. 42].

Следует отметить, что увеличение связывания вкНК с поверхностью клеток наблюдается далеко не при всех видах раков. Так, в крови женщин, больных раком молочной железы, а также у больных раком толстой кишки и раком желудка происходит снижение вкРНК, связанных с клетками крови [48, 49]

Получены интересные данные о характере изменения внеклеточных нуклеиновых кислот после различных режимов лечения. Так, в результате лечения (лучевая терапия, хирургическое лечение) наблюдалось либо снижение вкНК, либо, наоборот, увеличение этого показателя. Снижение вкНК зафиксировано у больных с положительным ответом на проводимое лечение. В тоже время, сохранение повышенной концентрации вкДНК или её прогрессивный рост в плазме крови наблюдался у больных с отсутствием ответа на проводимое лечение [50, 51].

Были получены результаты о взаимосвязи между размером опухоли и увеличением уровня вкДНК в крови больных раком молочной железы [52], но это не было подтверждено исследованиями других авторов [53].

Основываясь на гипотезе Stroun et al. [54] о том, что вкДНК гетерогенна и содержит фракцию вкДНК опухолевого происхождения, проведены исследования генеза циркулирующих нуклеиновых кислот и идентификация их типов в крови больных с онкопатологией. Было показано, что не менее 1% вкНК представлены как циркулирующими ДНК, так и РНК, которые имеют опухолевый генез [55, 56].

На основании этих данных высказана гипотеза генометастазов, согласно которой, опухолевая ДНК проникает в здоровые клетки и способствует их злокачественному перерождению, что и является основой метастазирования [57].

Изучение происхождения внеклеточных РНК показано, что они представлены некодирующими одноцепочечными microRNA. microRNA в плазме крови достаточно стабильны, поскольку циркулируют в комплексе с микровезикулами, липопротеинами. microRNA секретируются в кровь посредством церамид-зависимого секреторного механизма. Эти молекулы выполняют различные биологические функции, участвуя в процессах дифференциации, пролиферации, межклеточной коммуникации, иммунном ответе, регуляции апоптоза, репарации ДНК и т.д. На основании проведенных исследований показано, что внеклеточные microRNA могут быть маркерами предрасположенности к развитию злокачественных новообразований, что

позволило предложить детекцию 79 типов microRNA в качестве опухолевых маркеров [58].

Было высказано предположение, что вкНК могут, как стимулировать, так и ингибировать иммунную систему. Такие диаметрально противоположные свойства детерминированы локализацией вкНК в составе белковых комплексов, нуклеотидной последовательностью и метилированием [47, с. 203].

Следовательно, актуальным направлением исследования вкНК является изучение вкНК как в плазме, и связанных с клетками крови больных с различными видами опухолей и при применении различных режимов лечения. Анализ данных литературы показал, что при РШМ таких исследований не проводилось, что и послужило одной из задач нашего исследования.

### **1.3 Роль интермедиатов пуринового обмена при злокачественных новообразованиях**

Одним из актуальных направлений в медико-биологических исследованиях является изучение роли пуринов в процессах регуляции в норме и при патологических состояниях.

Схема катаболизма пуриновых нуклеотидов и нуклеозидов следующая. Аденозин превращается в инозин. Инозин превращается в гипоксантин. Гипоксантин превращается в ксантин при участии фермента ксантиноксидазы. Наконец, ксантин метаболизируется ксантиноксидазой до мочевой кислоты. Другим источником аденина является гидролиз *S*-аденозилгомоцистеина при участии *S*-аденозилгомоцистеингидролазы. Кроме этого, *S*-аденозилметионин, 5'-метилтиоаденозин, 5'-йодо-5'-дезоксаденозин, 2'-дезоксаденозин также являются источником аденина. Гуанозин при участии нуклеозидфосфорилазы превращается в гуанин, который, в свою очередь, при участии дезаминазы превращается в ксантин, который затем метаболизируется до мочевой кислоты при участии ксантиноксидазы.

Гипоксантин, гуанин и аденин в свободной форме в некоторых типах клеток (нейронах головного мозга, гепатоцитах, полиморфноядерных лейкоцитах, лимфоцитах, эритроцитах) реутилизируются в так называемых путях спасения в промежуточные метаболиты синтеза пуриновых нуклеотидов, таким образом, частично покрывая потребности в промежуточных метаболитах синтеза пуриновых нуклеотидов [59].

Ксантиноксидаза катализирует превращение ксантина и гипоксантина с использованием молекулярного кислорода. При этом ксантиноксидаза превращает  $O_2$  в  $O_2^-$  и  $H_2O_2$ . Помимо этого, ксантиноксидаза также может окислять различные эндогенные метаболиты и ксенобиотики, включая активацию канцерогенов и противоопухолевых препаратов [60]. Роль ксантиноксидазы в генерации активных форм кислорода может быть обусловлена ее способностью повышать уровень свободного железа в плазме крови и усиливать индукцию при наличии в среде металла с переменной валентностью образование  $OH^\bullet$ -радикалов [61].

Аденозин также образуется экстрацеллюлярно при участии ряда ферментных систем из внеклеточных АТФ и АДФ, которые расщепляются под

действием CD39 (эктонуклеозид-трифосфат-дифосфат-гидролазы) до АМФ, затем при участии CD 73 (экто 5'-нуклеотидазы) до аденозина [62].

Аденозин и другие интермедиаты катаболизма пуринов могут высвобождаться из клеток при участии специальных транспортеров. Известны 2 типа (семейства) белков, участвующих в переносе свободных пуринов через плазматическую мембрану: семейство SLC29 белков, которые осуществляют прямой и обратный транспорт нуклеозидов и свободных азотистых оснований по градиенту концентрации. Второе семейство белков SLC28, которое осуществляют активный перенос нуклеозидов в клетку, используя градиент ионов натрия. В нормальных условиях существует механизм быстрого захвата внеклеточного аденозина клетками, например, нуклеозидного транспортера ENT1 [63, 64].

В условиях патологии (воспаление, метаболический дистресс, инфекция и др) большое количество аденозина высвобождается во внеклеточную среду нейтрофилами, эндотелиальными клеткам и активированными макрофагами. Внеклеточный аденозин рассматривается как молекула тревоги, которая посредством паракринного и аутокринного механизма сообщает о повреждении клеток окружающим тканям. Внеклеточный аденозин вызывает каскад тканевых ответов, которые рассматриваются как защитные, направленные на поддержание гемостаза [65].

Известен факт ускорения метаболизма пуриновых нуклеотидов в опухолевых клетках. При онкопатологии описан парадокс Хеллстрема, согласно которому повышенный уровень аденозина в злокачественных клетках является одной из причин аденозинергической иммуносупрессии, что приводит низкой эффективности иммунных клеток [66].

Увеличение концентрации аденозина имеет место не только в опухолевых клетках, но и в микроокружении. По мнению Leone R.D. и Emens L.A. [67], гипоксия, высокая скорость клеточного деления, экспрессия CD39 и CD73 рассматриваются как важнейшие причины повышения концентрации аденозина. Аденозин, связываясь с A2a рецепторами, экспрессированными на поверхности иммунных клеток, снижают иммунный ответ в тканях, вовлеченных в воспалительный процесс. В настоящее время обсуждается вопрос о включении в иммунотерапию ингибиторов пути гипоксия- CD39-CD73-A2aR, что может существенно улучшить результаты лечения онкобольных [68].

В тоже время появились данные о том, что внеклеточный аденозин обладает двойственным эффектом и может, как подавлять иммунный ответ, так и проявлять цитотоксичность по отношению к опухолевым клеткам. Развитие того или иного сценария зависит от типа рецептора с которым взаимодействует аденозин [69].

Помимо аденозина при злокачественных новообразованиях большой интерес представляет изучение ксантиноксидазы. Исследованиями Sakuma S et al. показано, что пероксид водорода, образующаяся при превращении

гипоксантина и ксантина в мочевую кислоту при участии ксантиноксидазы, подавляет пролиферацию клеток колоректального рака линии Сасо-2 [70].

С другой стороны, экспрессия ксантиноксидазы отрицательно коррелировала с высокой степенью малигнизации и худшим прогнозом рака молочной железы, печени, почек, желудочно-кишечного тракта. Следует отметить, что ксантиноксидаза вовлечена в онкогенез как напрямую, так как этот фермент так способен катализировать метаболическую активацию канцерогенных соединений, либо опосредовано через генерацию активных форм кислорода [60, p. 555].

Менее изучена роль интермедиатов катаболизма пуринов. Ксантин, гипоксантин и мочевая кислота накапливаются при уремии и рассматриваются как компоненты уремических токсинов. Ксантин и гипоксантин индуцируют вазоконстрикцию и нарушают эндотелиальные барьеры. Также ксантин и гипоксантин способны модулировать нейротрансмиссию, подавлять аппетит, что приводит к потере веса. Увеличение активности ксантиноксидазы приводит к генерации супероксиданинов, которые, в свою очередь, индуцируют микроваскулярную дисфункцию и прямое повреждение тканей. Гиперурикемия рассматривается как самостоятельный компонент развития и прогрессирования артериальной гипертензии, патологии почек, повреждения сосудов [71].

Исследования изменения свободных пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов при онкопатологии носят единичный характер. Так, работой Франциянц Е.М и соавт. [9] установлено, что снижение уровня пуринов в плазме крови всех женщин и молодых мужчин больных раком почки, тогда как в плазме крови мужчин старшей возрастной группы содержание пуринов превышало значение контроля. В тоже время, у больных раком почки вне зависимости от пола и возраста в плазме крови наблюдается снижение индекса пуринового обмена (ИПО). По мнению авторов, причиной снижения ИПО может быть снижение содержания гипоксантина при увеличении продукции ксантина и мочевой кислоты. Другой причиной снижения гипоксантина и гуанина в плазме крови больных раком почки может быть их использование через ГМФ и ИМФ – пути для синтеза пуриновых нуклеотидов для потребности растущей опухоли. Также в плазме крови у мужчин старшей возрастной группы и у молодых женщин, больных раком почки, возрастал показатель тяжести гипоксии (ПТГ), который рассчитывается как отношение ксантина к гуанину. В эритроцитах крови больных раком почки отмечен высокий уровень мочевой кислоты и ПТГ при снижении ИПО. Выявлено, что у больных молодых мужчин и женщин в эритроцитах снижается уровень гипоксантина, тогда как у лиц старшей возрастной группы содержание свободных пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов превышал значение контроля.

Исследованиями Шатовой О.П. и соавт. показано увеличение концентрации аденозина и дисбаланс интермедиатов его катаболизма –

снижение инозина при росте гипоксантина в клетках опухоли молочной железы [72].

В работе Sirota V. et al [49, p. 173] показано снижение содержания аденина, ксантина, гипоксантина и мочевой кислоты при увеличении гуанина в плазме крови больных раком молочной железы.

Была сформирована гипотеза о том, что ксантин и гипоксантин могут включаться в составе пуриновых нуклеотидов в ДНК или РНК. Следствием этого, по мнению авторов, является усиление токсичности, ассоциированной с нитрозативным стрессом при хроническом воспалении, что повышает риск развития рака [6, p. 2323].

Гиперурикемия в настоящее время привлекает особое внимание. На основании ряда исследований высказана гипотеза о том, что высокий уровень мочевой кислоты связан с повышенным риском развития онкопатологии [73, 74].

Кроме того, массовый лизис опухолевых клеток также ведет к развитию гиперурикемии, что, в свою очередь, повышает риск развития у онкобольных почечной недостаточности, ишемической болезни сердца и подагры [75, 76].

В тоже время далеко не все исследователи согласны с этой гипотезой. Так, показано, что высокий уровень мочевой кислоты в сыворотке крови влияет на развитие рака простаты, но не на развитие рака желудка, рака прямой кишки, рака легких, рака мочевого пузыря или гематоэтической системы [7]. Также имеются данные, отрицающие связь между уровнем мочевой кислоты и смертностью от рака [77, 78].

Рядом исследований показано, что у больных подагрой возрастал риск развития рака ротовой полости, рака печени и билиарного тракта, рака легких, рака поджелудочной железы, рака кожи, рака эндометрия и рака почек и т.д. Не получило подтверждения высказанное ранее предположение о защитной роли мочевой кислоты в сыворотке крови при онкопатологии [79, 80]. В тоже время в работе С. Кюо et al. не подтвержден риск развития рака печени, легких, желудка и молочных желез у больных подагрой [8, p. 377].

Мета-анализ ранее проведенных исследований показал, что подагра является фактором риска канцерогенеза, особенно рака мочевыводящей системы, пищеварительной системы и рака легких [7].

Таким образом, анализируя данные литературы, можно сделать следующее заключение. Свободные пуриновые основания и интермедиаты катаболизма пуринов присутствуют как внутриклеточно, так и в экстрацеллюлярно. Описаны ферментные системы эвакуации из клеток и обратного захвата нуклеотидов, нуклеозидов и продуктов катаболизма пуринов в клетки, но биологическая роль этих процессов до сих пор не ясна. Аденозин является наиболее изученным нуклеозидом; в условиях патологии он работает как алармин (молекула тревоги), индуцирующей каскад тканевых ответов, которые рассматриваются как защитные. При злокачественных новообразованиях описан двойственный эффект аденозина: иммуносупрессивный и цитотоксический. Практически не изучен характер

изменения свободных пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов при различных видах рака. Вместе с тем, учитывая те немногие исследования, можно предположить, что продукты катаболизма пуринов могут играть важную роль в развитии и прогрессировании онкопатологии. Как следует из данных литературы, содержание свободных пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов в плазме крови и эритроцитах больных раком шейки матки не изучалось, что и послужило одной из задач нашего исследования.

#### **1.4 Современные представления о роли внеклеточных нейтрофильных ловушек при онкологической патологии**

Образование нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) рассматривается как специфический тип клеточной смерти, отличный от апоптоза и некроза. НВЛ – это программируемый тип клеточной смерти. В литературе принято название *netosis* (от NET - Neutrophil Extracellular Trap). Помимо нейтрофилов внеклеточные ловушки образуют и другие клетки, в том числе эозинофилы, макрофаги, тучные клетки. Стимулами образования НВЛ являются патогены (бактерии, вирусы, простейшие), активированные тромбоциты, химические соединения и т.д. [81].

Образование НВЛ является сложным процессом. В ответ на действие стимула нейтрофилы начинают генерировать большое количество активных форм кислорода (АФК) путем активации *of NADPH oxidase*. Высказано предположение, что АФК инициируют каскад внутриклеточных превращений, ведущих к образованию НВЛ. Происходит хроматина и образуется смесь эухроматина и гетерохроматина. В этом процессе участвуют ферменты нейтрофильная эластаза и миелопероксидаза. Эти ферменты содержатся в азурофильных гранулах, механизм их транспорта в ядро пока неизвестен. Деконденсация хроматина начинается с деградации линкерного гистона H1. В процессе деконденсации гистон H3 подвергается цитруллинации, т.е. превращению остатков аргинина в составе гистона в цитруллин. После деконденсации хроматина происходит разрушение ядерной оболочки, затем плазматической мембраны, причем в этом процессе участвуют белки цитоскелета нейтрофилов. Декодированная молекула ДНК, к нитям которой прикреплены протеолитические белки гранул, гистоны, выбрасывается в межклеточное пространство или кровь, образуя трехмерную сеть. В этой сети застревают патогены, которые затем уничтожаются антимикробными белками [82-87].

Этот путь – медленный, ведет к лизису и последующей клеточной смерти. В последнее время описаны еще два витальных пути образования НВЛ. Быстрый путь (в течение несколько минут) результируется выбросом ядерного материала, но без лизиса мембраны. Также описан механизм образования НВЛ, связанный с высвобождением митохондриальной ДНК. В этом случае клетка не погибает [88, 89].

Витальный быстрый путь формирования ВНЛ связывают с отпочкованием пузырьков ядерной мембраны, содержащих нуклеиновые кислоты, с последующим экзоцитозом из клетки, что и позволяет сохранить нейтрофил [90].

Образование митохондриальной НВЛ связывают с активацией NADPH оксидазы, но этот процесс изучен слабо [91].

НВЛ играют защитную роль, уничтожая различные патогены. Вместе с тем, появились данные о том, что ряде патологических состояний (асептические воспалительные заболевания, патология легких, аутоиммунные заболевания) НВЛ могут усиливать воспалительный процесс, вовлекая интактные клетки. Помимо этого, обсуждается роль НВЛ в развитии тромбоза [87, p. 7425].

В последнее время появились исследования роли НВЛ при онкопатологии. Показано, что нейтрофилы, найденные в большом количестве в плазме крови больных некоторыми солидными видами рака, обладают как про-так и противоопухолевой активностью [92]. С другой стороны, установлено, что нейтрофилы благоприятствуют миграции опухолевых клеток, способствуют опухолевому росту путем секреции металлопротеиназ, а также созданию микроокружения для метастазирующих раковых клеток [93, 94]. Но с другой стороны, активированные нейтрофилы оказывают цитотоксический эффект на опухолевые клетки путем генерации активных форм кислорода и дефензинов [95]. По мнению других авторов, миелопероксидаза, протеиназы и гистоны обладают противоопухолевыми эффектами путем непосредственного уничтожения опухолевых клеток, ингибирования их роста и активации иммунной системы, предотвращая тем самым их распространение. Через гистоны ВНЛ могут уничтожать активированные эндотелиальные клетки, повреждая тем самым сосуды, питающие опухоль [96-98].

Следует отметить, что на сегодняшний день, вопрос о роли ВНЛ при онкопатологии остается открытым. Вполне вероятно, это связано с недостаточностью фактических данных об образовании ВНЛ при различных видах рака, стадии, локализации и режимов лечения.

И.И. Долгушин и соавт. показали диффузные скопления внеклеточной ДНК рядом с опухолевыми клетками карциномы молочной железы, что, по мнению авторов, свидетельствует о появлении ВНЛ во внеклеточном микроокружении опухоли [99].

Проведено исследование *in vitro* образования ВНЛ после стимуляции нейтрофилов, полученных от пациентов с колоректальным раком и здоровых доноров такой же возрастной группы. Было установлено, что нейтрофилы крови больных образовывали спонтанные НВЛ. Существенный рост числа НВЛ в ответ на стимул зафиксирован у больных с послеоперационными осложнениями. Также обнаружена тенденция к увеличению образования ВНЛ у умерших больных с колоректальным раком. Не выявлено зависимости между количеством ВНЛ, стадией и локализацией опухоли. По мнению авторов исследования, результаты лечения пациентов были ассоциированы с

увеличением образования ВНЛ у больных в предоперационный период, что позволяет рассматривать ВНЛ как потенциальную мишень для терапии [100].

В тоже время, нейтрофилы, выделенные из крови больных раком тела матки (стадия Ia), обладали сниженной способностью образовывать ловушки в ответ на стимуляцию дрожжевыми клетками относительно таковых контроля [101].

Было высказано предположение, что образование ВНЛ может быть одним из механизмов развития опухоли. Основанием для этого предположения были данные о том, что гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, который продуцируется многими опухолями и определяется в крови онкобольных, не только влияет на активацию и мобилизацию нейтрофилов, но также запускает образование ВНЛ [102].

Garley M te al. показано, что опухоль (tumor)- ассоциированные нейтрофилы могут образовывать и высвобождать ВНЛ. Исследований, раскрывающих роль ВНЛ для развития опухолевого процесса, явно недостаточно. Все мнения о функции ВНЛ основываются на их двойственном характере. С одной стороны, есть данные об антиканцерогенных свойствах ВНЛ, связанных с прямым разрушением опухолевых клеток и стимуляцией иммунной системы. С другой стороны, сетевидные структуры ловушек могут способствовать миграции и иммунному избеганию опухолевых клеток или созданию физического барьера между опухолевыми клетками и иммунокомпетентными клетками. Появились предположения о возможной роли ВНЛ как прогностического биомаркера течения неопластического процесса [103].

Одним из факторов, облегчающих прогрессирование опухоли и увеличивающей риск развития тромбоза является гиперкоагуляция [104]. Есть данные о том, что ВНЛ участвуют в патогенезе опухолевого процесса через механизм опухоль-ассоциированного тромбоза [105]. Так, Chunfa Yang et al. показали, что нейтрофилы, изолированные от больных с раком желудка, демонстрировали усиление образования ВНЛ. При этом плазма крови больных раком желудка индуцировала образование ловушек нейтрофилами, выделенных от здоровых доноров. В дополнение к этому, внеклеточные ловушки, которые образовывали нейтрофилы, полученные от больных с раком желудка, повышали способность плазмы крови здоровых доноров образовывать тромбин. Кроме того, этими авторами показано, что количество спонтанных ВНЛ было выше у больных раком желудка по сравнению с контролем и положительно коррелировало с уровнем тромбин-антитромбин и D- димеров. По мнению авторов, при раке желудка создается такое системное микроокружение, которое праймирует нейтрофилы высвобождать прокоагулянтные внеклеточные ловушки. Предотвращение образования ВНЛ, по всей вероятности, может снизить риск коагулопатии у больных раком желудка [106].

В модельном исследовании показано, что инкубация нейтрофилов с метастатическими (metastatic) клетками опухоли поджелудочной железы линии line AsPC-1 в течение 3-х часов приводило высвобождению ВНЛ. В условиях ex

vivo ВНЛ способствовали образованию тромба, что позволило авторам исследования прийти к заключению о том, что клетки опухоли поджелудочной железы индуцируют образование ВНЛ, что повышает риск венозной тромбоэмболии у пациентов и позволяет рассматривать ВНЛ как потенциальную мишень для лечения [107].

Предложены несколько моделей запуска тромбоза с участием ВНЛ. Так, показано, что нейтрофилы могут продуцировать тканевой фактор (tissue factor, TF), который высвобождается в кровоток в процессе образования ловушки. Тканевой фактор образует комплекс с фактором VII. Комплекс TF-FVIIa способен активировать коагуляционный каскад, ведущий к образованию тромба. Согласно другой модели, с ДНК и гистонами в составе ВНЛ может связываться фактор XII, стимулирующий образование фибрина во внутреннем пути [108, 109].

Другим путем участия ВНЛ в механизме тромбоза является захват и активация тромбоцитов. Нити ВНЛ связывают тромбоциты и способствуют их агрегации [110, 111]. Связывание тромбоцитов происходит со вовлечением Toll-подобных рецепторов, либо за счет электростатического взаимодействия между гистонами в составе ловушки и фосфолипидами или углеводными компонентами мембран тромбоцитов [112].

Также высказано мнение, что в процесс взаимодействия между ВНЛ и тромбоцитами вовлечены адгезионные молекулы, в том числе фактор фон Виллебранда, фибронектин или фибриноген [113, 114]. Тромбоциты, связанные с ВНЛ, могут быть активированы компонентами сети, особенно гистонами, или нейтрофильными протеазами, которые протеолитически активируют тромбоцитарные рецепторы. Этот процесс ускоряется тем, что активированные тромбоциты индуцируют дальнейшее образование внеклеточных ловушек, что приводит к повышению проницаемости эндотелия [113, р. 15884; 115].

По мнению Demers M. и Wagner DD. [105, р. 283; 116], использование ВНЛ-специфичных биомаркеров, таких как цитруллинированный гистон H3, а также ингибиторов ВНЛ является очень перспективными объектами изучения для предвидения и борьбы с опухоль-ассоциированным тромбозом.

По мнению ряда авторов, ВНЛ играют важную роль в механизмах развития рака и процессов метастазирования, что позволяет их рассматривать как потенциально новую мишень для лечения рака [117].

В тоже время высказывают и противоположную точку зрения на роль ВНЛ при онкопатологии. Миелопероксидаза, протеиназы и гистоны могут быть цитотоксичны по отношению к опухолевым клеткам. Более того, сами ВНЛ рассматриваются как своего рода каркас (scaffold) для захвата опухолевых клеток, что препятствует их дальнейшему распространению [118].

В последнее время стали исследовать внеклеточные ловушки, которые образуют базофилы и эозинофилы. Исследования подобного рода немногочисленны, но удалось установить, что базофилы выбрасывают не ядерную ДНК, а митохондриальную ДНК по механизму, зависящему от активных форм кислорода. Нити ДНК декорированы белками.

высвобождающимися из гранул. Базофилы обладают достаточно низкой активностью NADPH оксидазы, поэтому было высказано предположение, что генерация активных форм кислорода происходит в митохондриальной электрон-транспортной цепи. Однако механизм этого процесса требует изучения. Предполагается также, что базофильные ловушки играют определенную роль в процессах воспаления [119], а также в уничтожении бактерий [120].

Другой механизм образование внеклеточных ловушек описан для эозинофилов. Под влиянием различных стимулов (иммуноглобулины G и A, цитокины с тромбоцит-активирующим фактором и т.д.). Первоначально происходит ядерный хроматолиз, с первоначальным высвобождением из клетки части гранул, покрытых плазматической мембраной. Затем после лизиса плазматической мембраны высвобождается сеть ДНК и свободные гранулы [121]. Роль эозинофильных внеклеточных ловушек находится в стадии изучения.

Таким образом, анализ данных литературы показал перспективность исследования внеклеточных ловушек при онкопатологии. Анализ данных литературы показал, что отсутствуют данные по изучению внеклеточных ловушек, которые образуют гранулоциты при РШМ, что и послужило одной из задач нашего исследования.

## 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Характеристика клинического материала

На первом этапе исследования выполнен ретроспективный анализ историй болезни 177 больных раком шейки матки II и III стадий с гистологической верификацией, пролеченных на базе КГП «Областной онкологический диспансер» г. Караганды в период с 2012 по 2016 гг.

Все больные были разделены на три исследуемые группы:

Исследуемая группа 1 - 55 больных, которые получали сочетано-лучевую терапию.

Исследуемая группа 2 - 77 больных, которым проведена сочетано-лучевая терапия в комбинации с фторафуrom.

Исследуемая группа 3 - 45 больных, которым проведена сочетано-лучевая терапия в комбинации с цисплатиной.

В группу контроля для биохимических исследований взяты 15 практически здоровых женщин среднего возраста.

Для распределения общего контингента больных раком шейки матки по возрасту использовали частотный анализ (таблица 1). По возрастному составу группы однородны. Средний возраст больных составил  $48,0 \pm 1,9$  лет.

Таблица 1 – Распределение по возрасту больных раком шейки матки по медианному уровню

Группы больных по методу лечения	Количество больных	ДИ н	ДИв	Среднее значение $M \pm m$
Исследуемая 1 (ЛТ)	55	41	58	$48,0 \pm 1,9$
Исследуемая 2 (ЛТ+Ф)	77	40	57	$47,8 \pm 1,3$
Исследуемая 3 (ЛТ+С)	45	38	59	$48,3 \pm 2,0$

По стадии опухолевого процесса пациенты распределились следующим образом (таблица 2). При определении стадии пользовались международной классификацией по системе FIGO. Превалировали пациенты с местнораспространенной стадией рака. В исследуемой группе 1 больные со IIb и III стадиями рака шейки матки составили  $(70,9 \pm 4,9)\%$ , в исследуемой группе 2 -  $(68,9 \pm 5,3)\%$  и в исследуемой группе 3 -  $(64,4 \pm 7,1)\%$ .

Таблица 2 – Распределение больных раком шейки матки по степени распространенности опухолевого процесса

Группа больных по методу лечения	Стадия опухолевого процесса							
	IIa стадия		IIb стадия		IIIa стадия		IIIb стадия	
	абс	$\% \pm m$	абс	$\% \pm m$	абс	$\% \pm m$	абс	$\% \pm m$
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Исследуемая 1 (ЛТ)	16	$29,1 \pm 6,1$	17	$30,9 \pm 6,2$	18	$32,7 \pm 6,3$	4	$7,3 \pm 3,5$

Исследуемая (ЛТ+Ф)	2	24	31,2±5,3	36	46,8±5,7	16	20,8±4,6	1	1,3±1,3
--------------------	---	----	----------	----	----------	----	----------	---	---------

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Исследуемая (ЛТ+С)	3	16	35,6±7,1	14	31,1±6,9	14	31,1±6,9	1	2,2±2,2
Всего		56	31,6±6,2	67	37,9±5,9	48	27,1±6,4	6	3,4±7,4

В таблице 3 представлена сопутствующая патология у больных раком РШМ, перенесших лучевую терапию. Патология сердечно-сосудистой системы имеет место у (72,9±3,3)% больных, дыхательной системы - у (17,5±2,9)%, пищеварительной - у (13,6±2,6)% и мочеполовой - у (16,4±2,8)%.

Таблица 3 – Наличие сопутствующей патологии по системам органов у больных раком шейки матки

Группа Больных по методу лечения	Сопутствующая патология							
	Сердечно-сосуд системы		Дыхательной системы		Пищеварительной системы		Мочеполовой	
	абс	%±m	абс	%±m	абс	%±m	абс	%±m
Исследуемая 1 (ЛТ)	44	80,0±5,4	11	20,0±5,4	8	14,5±4,7	10	18,2±5,2
Исследуемая 2 (ЛТ+Ф)	55	71,4±5,2	12	15,6±4,1	9	11,7±3,7	11	14,3±4,0
Исследуемая 3 (ЛТ+С)	30	66,7±7,0	8	17,8±5,7	7	15,6±5,4	8	17,8±5,7
Всего	129	72,9±3,3	31	17,5±2,9	24	13,6±2,6	29	16,4±2,8

Второй этап исследования – проспективный, у 36 больных местно-распространенным раком шейки матки проводилось исследование биохимических показателей плазмы и эритроцитов крови. Из них 22 пациентки имели IIb стадию, 14 – III стадию рака. Сочетано-лучевую терапию получили 5 пациенток, сочетано-лучевую терапию в комбинации с фторафуром – 7 больных и сочетано-лучевую терапию в комбинации с цисплатиной – 24 пациентки.

Все пациенты подписывали информированное согласие. Проведение исследования было одобрено Комитетом по этике клинических исследований Карагандинского государственного медицинского университета.

Критерии исключения из исследования:

1) некомпенсированные сердечные заболевания, некорректируемый сахарный диабет, острые воспалительные процессы, стойкая некорректируемая анемия, гранулоцитопения, тромбоцитопения, почечная недостаточность и другие заболевания, препятствующие проведению химиотерапии и лучевой терапии;

2) одновременное наличие других злокачественных опухолей.

## **2.2 Клинические методы исследования больных раком шейки матки**

Все исследуемые больные прошли общеклиническое обследование на амбулаторном этапе. Оно включало рентгенологическое исследование органов грудной клетки; ультразвуковое обследование органов брюшной полости и малого таза, КТ малого таза; осмотр шейки матки с цитоморфологической верификацией диагноза.

Определение состояния больных согласно шкале Карновского не проводилось, так как все больных до начала лечения имели относительно удовлетворительное состояние.

Морфологическая верификация опухолей проводилась в цитологической и морфологической лабораториях КГП «Областной онкологический диспансер» г. Караганды. Цитологическая верификация была у  $(64,6 \pm 5,4)\%$  больных. Но гистологическая верификация имела у всех пациенток.

Практически у всех пациенток наблюдался морфологически плоскоклеточный рак: плоскоклеточный рак без ороговения -  $(62,0 \pm 5,5)\%$ . Это вариант низкодифференцированной опухоли, определяющий неблагоприятный прогноз заболевания. Плоскоклеточный рак с ороговением наблюдали в  $(36,7 \pm 4,2)\%$  случаев и железистоплоскоклеточный рак в  $(1,3 \pm 1,3)\%$  случаев.

## **2.3 Методы лечения больных раком шейки матки**

Всем пациенткам проведена сочетано-лучевая терапия (СЛТ). СЛТ традиционно выполнена в виде сочетания дистанционного облучения регионарных лимфатических узлов и первичного опухолевого очага и внутриполостного лучевого воздействия, направленного непосредственно на первичный опухолевый очаг. Дистанционный компонент облучения реализован в двух вариантах. 120 пациенткам проведена конвенциональная (2D) дистанционная гамма-терапия (ДГТ) на аппаратах «Рокус АМ», 57 пациенткам проведена конформная лучевая терапия (3D CRT) на ЛУ «Clinac 600 C». Внутриполостной компонент СЛТ реализован всем пациенткам на аппарате «Агат ВУ».

Предлучевая подготовка включала компьютерно-томографическую топометрию на томографе SOMATOM DEFINITION AS 64 СРЕЗА фирмы Siemens (Германия). Индивидуальное дозиметрическое планирование пациенткам, получившим ДГТ проведено на СПО (система планирования облучения) «Гамма-план 1», пациенткам, получавших облучение 3D CRT, индивидуальное дозиметрическое планирование проведено на СПО «Eclipse 11.0», Varian.

Дистанционная терапия проведена всем пациенткам классическим фракционированием, разовой дозой 2 Гр, 1 раз в сутки, 5 дней в неделю. При внутриполостной гамма-терапии применялась разовая доза 5 Гр. При СЛТ с проведением ДГТ расчет суммарной дозы осуществлялся по «манчестерской системе» с определением дозы: в точках А ( парацервикальный треугольник) и в точках В (латеральные отделы параметриев на уровне внутреннего зева

матки), а также в прямой кишке и мочевом пузыре. В случаях проведения СЛТ с дистанционной 3D CRT, расчет суммарной дозы проводился на клинические объемы (мишени) согласно рекомендациям 50, 62 МКРЕ (Международной комиссии по радиационным единицам).

В обоих случаях на область зон регионарного метастазирования подведена доза 64 Гр.

Все больные раком шейки матки разделены на 3 исследуемые группы. Больные исследуемой группы 1 (55 человек) получали только сочетанную лучевую терапию (СЛТ).

Исследуемая группа 2 из 77 пациенток получала СЛТ в комбинации с фторафуром per os в дозе 1200 мг в дни дистанционной гамма терапии (800 мг утром и 400 мг вечером) № 23, суммарная доза 27600 мг. Использовали фторафур производства АО «Гриндекс», Латвия».

В исследуемую группу 3 вошли 45 пациенток, у которых СЛТ проводилась в комбинации с цисплатином (из расчета 40 мг/м<sup>2</sup> каждые 7 дней в течение всего курса лучевой терапии. Эффективность комбинированного лечения оценивалась по стандартным критериям ВОЗ (1978) с использованием клинического, ультразвукового и КТ методов обследования. Использовали цисплатин производства ТОО Келун-Казфарм, Алматы, Казахстан.

Химиолучевое лечение (СЛТ+цисплатин) является основным видом терапии рака шейки матки согласно республиканским (Клинический протокол диагностики и лечения 2015г) и международным (NCCN, США, 2017) протоколам диагностики и лечения рака шейки матки.

#### **2.4 Определение биохимических показателей крови больных раком шейки матки**

Биохимические исследования проводили на базе научной биохимической лаборатории кафедры биологической химии Карагандинского государственного медицинского университета.

Определение свободных пуриновых оснований и интермедиатов пуринового обмена в плазме и эритроцитах крови.

Забор крови осуществлялся в утренние часы с помощью венепункции. Для биохимических исследований кровь стабилизировали гепарином.

Плазму крови отделяли от эритроцитов центрифугированием. Эритроциты трижды отмывали охлажденным физиологическим раствором с последующим центрифугированием в течение 10 минут при 3000 об/мин. Лизаты эритроцитов готовили путем замораживания-оттаивания (1 мл лизата содержал  $1 \times 10^9$  клеток). Уровень гуанина (Г), аденина (А), гипоксантина (ГКс), ксантина (Кс) и мочевой кислоты (МК) определяли спектрофотометрически по методу Е.В. Орешникова и соавт [122] и выражали в единицах экстинкции.

Используя индексы соотношения содержания разных интермедиатов обмена пуринов, оценивали активность ксантинооксидазы. Об общей активности фермента судили по индексу МК/ГКс; индекс Кс/ГКс позволяет оценить активность ксантинооксидазы на первом этапе (превращение гипоксантина в

ксантин), индекс МК/Кс характеризует активность фермента на втором этапе (превращение ксантина в мочевую кислоту) [122, с. 79]. В качестве индикатора интенсивности пуринового обмена (ИПО) рассчитывали  $[ГКс]/ [Кс]+[МК]$  (отношение концентрации гипоксантина к количеству образующихся из него продуктов (ксантина и мочевой кислоты) и определяющую уровень необратимого катаболизма пуринов. Также вычисляли отношение концентраций  $[Кс]$  к  $[ГКс]$ , характеризующее показатель тяжести гипоксии (ПТГ) [9].

В плазме крови и эритроцитах также регистрировали содержание вкДНК, вкРНК и кислоторастворимую фракцию (КРФ) предшественников нуклеиновых кислот по методу Л.И Маркушевой и соавторов [123]. Регистрацию проводили спектрофотометре Аре1 303UV, единицы измерения - мкг/мл.

Для определения количества спонтанных внеклеточных нейтрофильных ловушек (ВНЛ) в крови обследованных лиц использовали методический прием И.И. Долгушина и Ю.С. Андреевой [124]. Окраску проводили гематоксилин-эозином, образцы микроскопировали при увеличении 1400. Результаты выражали в % ВНЛ от числа нейтрофилов в поле зрения. Фотографии ВНЛ получали с использованием программы TopView 3,7.

## **2.5 Оценка эффективности применяемых методов лечения больных раком шейки матки**

Оценка непосредственных результатов проводилась сразу после проведения сочетано-лучевой терапии и через 1 месяц после. Эффективность комбинированного лечения оценивалась по стандартным критериям ВОЗ (1978) с использованием клинического, ультразвукового и КТ методов:

– полный регресс – исчезновение всех опухолевых образований, что устанавливается двумя обследованиями с интервалом не менее 4 недель;

– частичный регресс – уменьшение всех измеряемых опухолей на 50% и более, определяемых дважды в срок не менее, чем 4 недели. При этом не должны появляться новые опухолевые очаги или прогрессия любых из имевшихся;

– стабилизация процесса – менее 50% уменьшения общего размера опухоли и/или метастазов, но не более 25% увеличения размера одного или нескольких измеряемых опухолевых очагов;

– прогрессия заболевания – 25% или большее увеличение размера очагов, или появление новых.

Степень регрессии опухоли шейки матки оценивали путем сравнения объема шейки матки до и после лечения по данным УЗИ исследования органов малого таза. Расчёт объёма опухоли проводили с использованием специального алгоритма по формуле:

$$V = \frac{\pi}{6} \cdot l \cdot d^2, \quad (1)$$

где  $l$  – протяженность поражения шейки матки;

$d$  – размер опухоли по ширине.

В динамике оценивали скорость регрессии опухоли (CPO) по формуле:

$$CPO = \frac{V_t}{V_o} \cdot 100\%, \quad (2)$$

Где:  $V_o$  - объём опухоли до лечения,  $V_t$  - объём опухоли после лечения.

Общий регресс опухоли рассчитывали по формуле:  $100\% - CPO$ .

Токсичность химиотерапии оценивали по стандартным критериям ВОЗ.

Оценка гематологической токсичности проводилась согласно рекомендациям ВОЗ (Geneva, 1979, 1985), представленной в таблице 4.

Таблица 4 – Оценка гематологической токсичности по ВОЗ при проведении химиотерапии при злокачественных новообразованиях

Гематологическая токсичность	0 степень	1 степень	2 степень	3 степень	4 степень
Гемоглобин г/100 мл	$\geq 11,0$	9,5 – 10,0	8,0 – 9,4	$< 6,5 - 7,9$	$< 6,5$
моль/л	$\geq 6,8$	5,6 – 6,7	4,95 – 5,5	$< 4,0 - 4,9$	$< 4,0$
Лейкоциты (1000/мм <sup>3</sup> )	$\geq 4,0$	3,0 – 3,9	2,0 – 2,9	1,0 – 1,9	$< 1,0$
Гранулоциты (1000/мм <sup>3</sup> )	$\geq 2,0$	1,5 – 1,9	1,0 – 1,4	0,5 – 0,9	$< 0,5$

Выживаемость пациентов раком шейки матки определяли по безинтервальному методу Е. Kaplan - Р. Meier «с учетом факторов дожития». Количество больных на начало наблюдения принимается за 100%. Каждая «ступень» на кривой выживаемости отражает смерть пациента, и после каждой смерти процент выживших больных на графике уменьшается. Преимущество метода Каплана -Мейера (по сравнению с методом таблиц жизни) состоит в том, что оценки не зависят от разбивки времен жизни на интервалы. Величина интервала составляла 1 месяц.

Изучали зависимости показателей выживаемости от вида комбинированной терапии. Достоверность различий в группах определяли с помощью коэффициентов Gehan's Wilcoxon, Cox's Mentel-Test, Gehan's Wilcoxon, Лог-Рангов (при сравнении пар) [125, 126].

## 2.6 Методы статистического анализа

Для статистической обработки полученных результатов были использованы процедуры математической статистики, реализованные в прикладных программах «STATISTICA 10.0» и EXCEL [127-131].

Статистическая обработка включала:

1) оценка непосредственных и отдаленных результатов лечения пациентов раком шейки матки в Карагандинской области за период 2012-2016 гг.;

2) для доказательства статистических различий выживаемости при сравнении пар использованы методы Cox's F-Test, Gehan's Wilcoxon Test,  $\chi^2$ ;

3) для оценки гематологической токсичности различных режимов комбинированной терапии рака шейки матки был проведен вариационный анализ. Значимость различий в показателях между 3 группами в динамике лечения принималась из расчета поправки Банферрони ( $p \leq 0,017$ );

4) оценка нормальности распределения изучаемых показателей осуществлялась с использованием критерия Шапиро–Уилка, применяемого для объема выборки менее 50. Для описательной статистики использовали медиану, верхний и нижний квартили при распределении отличном от нормального, либо средние и доверительные интервалы для показателей, имеющих нормальное распределение;

5) для сравнения изучаемых показателей в плазме крови и эритроцитах больных РШМ до, в середине и после окончания лечения различными видами терапии использовался дисперсионный анализ повторных измерений, применяемый для связанных выборок. Основной задачей дисперсионного анализа являлась оценка влияния изучаемого вида терапии на различных ее этапах на анализируемые показатели. Кроме того, данный анализ призван ответить на вопрос, являются ли изменения изучаемых показателей результатом действия применяемой терапии. В нашем случае мы использовали дисперсионный анализ повторных измерений (RM-ANOVA), обладающий достаточной статистической мощностью при малых выборках и соблюдении условия сферичности. В случае несоблюдения условия сферичности (по критерию Моучли,  $p < 0,05$ ) использовался непараметрический аналог дисперсионного анализа - критерий Фридмана. Различия считали достоверными при уровне статистической значимости  $p < 0,05$ . Для сравнения показателей на середине или по окончании терапии с показателями до терапии или контрольной группой применялся критерий Манна-Уитни. Различия считали достоверными при уровне статистической значимости  $p < 0,01$  (с поправкой Банферрони);

6) сравнение изучаемых показателей больных раком шейки матки стадии IIb и III с контрольной группой, а также между группами больных РШМ получающих различные виды терапии на момент середины и окончания лечения осуществлялось критерием Краскела-Уоллиса, применяемый для сравнения более двух независимых выборок одинаковой или разной численности. Различия считали достоверными при уровне статистической значимости  $p < 0,05$ ;

7) для оценки степени взаимосвязи изучаемых показателей проводился непараметрический корреляционный анализ Спирмена. Все выявленные коэффициенты корреляции статистически значимы ( $p < 0,05$ ) [129, p. 518; 130, p. 472; 131, p. 305].

### 3 ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

#### 3.1 Непосредственные результаты комбинированной терапии рака шейки матки

Всего в исследование вошли 177 больных РШМ, 55 пациенток получали только сочетано-лучевую терапию, 77 - комбинацию сочетано-лучевую терапию в комбинации с фторафуром и 45 пациенток получали лучевую терапию в комбинации с цисплатином.

В таблице 5 представлены непосредственные результаты лечения больных раком шейки матки. Выявлено, что при проведении только СЛТ полный ответ опухоли выявлен у  $(14,5 \pm 4,8)\%$ , частичный ответ – у  $(30,9 \pm 6,2)\%$  больных. При СЛТ в комбинации с фторафуром –  $(7,8 \pm 2,6)\%$  и  $(41,6 \pm 4,7)\%$ , соответственно, при комбинации СЛТ с цисплатином полный ответ опухоли выявили у  $(20 \pm 5,9)\%$  и частичный у  $(53,3 \pm 7,4)\%$  больных. Частота полных и частичных ответов в исследуемой группе 1 составила 45% больных, в исследуемой группе 2 – 49,4%, в группе 3 – 73,3%. Отсутствие клинического эффекта наблюдали в исследуемой группе 1 у  $(20 \pm 5,4)\%$ , в исследуемой группе 2 – у  $(14,3 \pm 3,4)$ , исследуемой группе 3 – у  $(8,9 \pm 4,2)\%$  больных РШМ.

Таким образом, комбинация сочетанной лучевой терапии с цисплатином позволила повысить частоту полных и клинических ответов опухоли шейки матки на 28,3% по сравнению с проведением только лучевой терапии.

Таблица 5 – Непосредственные результаты комбинированной терапии рака шейки матки (M±m)

Группы больных по методу лечения	К-во б-ных	Клинический эффект			
		полный ответ	частичный ответ	стабилизация	прогрессирование
Исследуемая группа 1 (ЛТ)	55	8 (14,5±3,8)	17 (30,9±6,2)	19 (34,6±6,1)	11 (20,0±5,4)
Исследуемая группа 2 (ЛТ+Ф)	77	6 (7,8±2,6)	32 (41,6±4,7)	28 (36,4±4,6)	11 (14,3±3,4)
Исследуемая группа 3 (ЛТ+С)	45	9 (20,0±5,9)	24 (53,3±7,4)*	8 (17,7±5,7)*	4 (8,9±4,2)

\* – статистически значим частичный ответ и стабилизация опухоли у больных исследуемой группы 1 по отношению к исследуемой группе 3 ( $p \leq 0,05$ )

В таблице 6 представлена характеристика опухолевого процесса больных раком шейки матки по объему опухоли шейки матки по данным УЗИ органов малого таза. Проверка выборки на нормальность распределения выполнена по показателям «Ассиметрия» и «Экссесс» и для анализа был выбран медианный показатель. Степень регрессии опухоли шейки матки наиболее выражена у больных исследуемой группы 3 ( $69,3 \pm 6,9\%$ ), несмотря на то, что у них

наибольший объем опухоли до лечения. Больные исследуемых групп 1 и 2 имели одинаковый объем опухоли (54,4 и 45,6 см<sup>3</sup>, соответственно) и одинаковую степень регрессии (42,6±6,7% и 45,2±5,7%, соответственно). Комбинация цисплатина с сочетано-лучевой терапией статистически значимо увеличивает степень регрессии опухоли шейки матки у пациенток исследуемой группы 3.

Таблица 6 – Динамика объема опухоли шейки матки до и после комбинированного лечения по медианному уровню

Группы больных по методу лечения	К-во больных	Объем опухоли до лечения (см <sup>3</sup> )	Объем опухоли после лечения (см <sup>3</sup> )	Нижняя и верхняя 25-75% центиль до лечения	Нижняя и верхняя 25-75% центиль после лечения	Степень регрессии опухоли в %
Исследуемая 1 группа (ЛТ)	55	54,4	29,8	33,3-140,0	13,0-48,5	42,6±6,7
Исследуемая 2 (ЛТ+F)	77	45,6	27,0	23,5-99,0	7,6-44,6	45,2±5,7
Исследуемая 3 (ЛТ+С)	45	68,4	16,8	41,1-107,8	7,6-32,3	69,3±6,9*

\* – статистически значима степень регрессии опухоли у больных в исследуемой группе 3 по отношению к исследуемым группам 1 и 2 ( $p \leq 0,05$ )

Таким образом, комбинация сочетанной лучевой терапии с цисплатином позволила повысить частоту полных и клинических ответов опухоли шейки матки на 28,3% по сравнению с проведением только лучевой терапии. А также статистически значимо повысить степень регрессии опухоли шейки матки на 26,7% по сравнению с пациентками, получавшими только лучевую терапию, и на 24,1% по сравнению с больными, получавшими сочетано-лучевую терапию с фторафуром.

### 3.2 Гематологическая токсичность различных режимов терапии больных раком шейки матки

Для оценки гематологической токсичности различных режимов комбинированной терапии рака шейки матки сначала был проведен вариационный анализ. Значимость различий в показателях между 3 группами в динамике лечения принималась из расчета поправки Банферрони ( $p \leq 0,017$ ).

Показатели крови у пациентов определяли перед курсом лучевой терапии, после и через один месяц после окончания лучевого лечения. Сначала определили показатели гемоглобина у больных всех трех групп (таблицы 7, 8, 9), затем провели их сравнение.

Таблица 7 – Показатели гемоглобина у пациенток раком шейки матки, получавших только лучевую терапию, г/л

Время забора	Число наблюдений	М среднее	Ошибка среднего m	Диапазон колебания		Достоверность по Стьюденту
				95% ДИ в	95% ДИ н	
До ЛТ	55	114,84	3,27	121,39	108,28	$p_{1-2} \geq 0,017$
После ЛТ	55	117,67	2,01	121,70	113,64	
Через 1 месяц	55	120,35	1,79	123,93	116,76	$p_{1,2-3} \geq 0,017$

У пациенток РШМ, получавших только лучевую терапию, не отмечается снижение гемоглобина на фоне лечения, даже наблюдается тенденция к его восстановлению через месяц после лечения. Аналогичная картина наблюдается у пациенток, получавших лучевую терапию с фторафуром (таблица 8) и цисплатином (таблица 9).

Таблица 8 – Показатели гемоглобина у пациенток раком шейки матки, получавших лучевую терапию с фторафуром, г/л

Время забора	Число наблюдений	М среднее	Ошибка среднего m	Диапазон колебания		Достоверность по Стьюденту
				95% ДИ в	95% ДИ н	
До ЛТ	77	120,35	1,84	124,02	116,68	$p_{1-2} \geq 0,017$
После ЛТ	77	121,31	1,21	123,71	118,91	
Через 1 месяц	77	122,61	1,64	125,88	119,34	$p_{1,2-3} \geq 0,017$

Таблица 9 – Показатели гемоглобина у пациенток раком шейки матки, получавших лучевую терапию с цисплатином, г/л

Время забора	Число наблюдений	М среднее	Ошибка среднего m	Диапазон колебания		Достоверность по Стьюденту
				95% ДИ в	95% ДИ н	
До ЛТ	45	119,33	2,41	129,0	110,0	$p_{1-2} \geq 0,017$
После ЛТ	45	117,0	2,08	124,0	109,0	
Через 1 месяц	45	115,22	1,53	120,0	107,0	$p_{1,2-3} \geq 0,017$

Показатели лейкоцитов у больных РШМ после курса ЛТ статистически значимо снизились и оставались на этом уровне в течение месяца после окончания лечения (таблица 10).

Таблица 10 – Показатели лейкоцитов у пациенток раком шейки матки, получавших только лучевую терапию,  $M \times 10^9/l$

Время забора	Число наблюдений	M среднее	Ошибка среднего m	Диапазон колебания		Достоверность по Стьюденту
				95% ДИ в	95% ДИ н	
До ЛТ	55	7,25	0,43	8,11	6,0	$p_{1-2} \leq 0,017$
После ЛТ	55	5,45	0,29	6,04	4,87	
Через 1 месяц	55	5,48	0,27	6,02	4,94	$(p_{1-3} \leq 0,017)$

В группе больных, получавших лучевую терапию с фторафуром, отмечается снижение лейкоцитов после лечения, но эти показатели спустя месяц так и не восстанавливаются, остаются на уровне окончания лечения (таблица 11).

Таблица 11 – Показатели лейкоцитов у пациенток раком шейки матки, получавших лучевую терапию с фторафуром,  $M \times 10^9/l$

Время забора	Число наблюдений	M среднее	Ошибка среднего m	Диапазон колебания		Достоверность по Стьюденту
				95% ДИ в	95% ДИ н	
До ЛТ	77	7,10	0,36	7,82	6,38	$p_{1-2} \leq 0,017$
После ЛТ	77	4,63	0,15	4,94	4,33	
Через 1 месяц	77	5,28	0,26	5,80	4,76	$(p_{1-3} \leq 0,017)$

В группе больных, получавших лучевую терапию с цисплатином, отмечается снижение лейкоцитов после лечения, эти показатели спустя месяц имеют тенденцию к восстановлению, но остаются также на уровне окончания лечения (таблица 12).

Таблица 12 – Показатели лейкоцитов у пациенток раком шейки матки, получавших лучевую терапию с цисплатином,  $M \times 10^9/l$

Время забора	Число наблюдений	M среднее	Ошибка среднего m	Диапазон колебания		Достоверность по Стьюденту
				95% ДИ в	95% ДИ н	
До ЛТ	45	7,13	0,37	9,3	5,0	$p_{1-2} \leq 0,017$
После ЛТ	45	4,80	0,34	5,1	3,6	
Через 1 месяц	45	5,25	0,48	6,0	3,5	$(p_{1-3} \geq 0,017)$

Показатели тромбоцитов крови на протяжении всего курса лучевой терапии и после оставались без изменения (таблица 13).

Таблица 13 – Показатели тромбоцитов у пациенток раком шейки матки, получавших только лучевую терапию, М x10<sup>9</sup>/л

Время забора	Число наблюдений	М среднее	Ошибка среднего m	Диапазон колебания		Достоверность по Стьюденту
				95% ДИ в	95% ДИ н	
До ЛТ	55	277,49	14,69	306,95	248,03	$p_{1-2} \geq 0,017$
После ЛТ	55	244,49	11,05	266,65	222,33	
Через 1 месяц	55	261,15	14,26	289,74	232,56	$p_{1-2,3} \geq 0,017$

В группе больных, получавших лучевую терапию с фторафуром, отмечается снижение показателей тромбоцитов после лечения и восстановление спустя месяц после лучевой терапии (таблица 14).

Таблица 14 – Показатели тромбоцитов у пациенток раком шейки матки, получавших лучевую терапию с фторафуром, М x10<sup>9</sup>/л

Время забора	Число наблюдений	М среднее	Ошибка среднего m	Диапазон колебания		Достоверность по Стьюденту
				95% ДИ в	95% ДИ н	
До ЛТ	77	271,95	8,78	289,43	254,47	$p_{1-2} \leq 0,017$
После ЛТ	77	217,69	6,55	230,72	204,65	$P_{2-3} \geq 0,017$
Через 1 месяц	77	250,95	7,70	266,28	235,62	$p_{1-3} \geq 0,017$

В группе больных, получавших лучевую терапию с цисплатином, отмечается тенденция снижения показателей тромбоцитов после лечения и продолжение снижения их спустя месяц после лучевой терапии, но эти показатели статистически не значимы (таблица 15).

Таблица 15 – Показатели тромбоцитов у пациенток раком шейки матки, получавших лучевую терапию с цисплатином, М x10<sup>9</sup>/л

Время забора	Число наблюдений	М среднее	Ошибка среднего m	Диапазон колебания		Достоверность по Стьюденту
				95% ДИ в	95% ДИ н	
До ЛТ	45	288,13	14,67	336,0	220,0	$p_{1-2} \geq 0,017$
После ЛТ	45	224,42	9,09	252,0	199,0	
Через 1 месяц	45	211,82	9,26	233,0	180,0	$p_{1-2,3} \geq 0,017$

После проведения лучевой терапии гранулоциты статистически значимо снижаются, но спустя месяц после лечения восстанавливаются (таблица 16).

Таблица 16 – Показатели гранулоцитов у пациенток раком шейки матки, получавших только лучевую терапию

Время забора	Число наблюдений	М среднее	Ошибка среднего m	Диапазон колебания		Достоверность по Стьюденту
				95% ДИ в	95% ДИ н	
До ЛТ	55	5,26	0,36	5,99	4,53	$p_{1-2} \leq 0,017$
После ЛТ	55	4,11	0,28	4,67	3,55	
Через 1 месяц	55	3,82	0,22	4,25	3,39	$p_{1-3} \geq 0,017$

В группе больных, получавших лучевую терапию с фторафуром, показатели гранулоцитов значительно снизились после лечения и не восстановились спустя месяц (таблица 17).

Таблица 17 – Показатели гранулоцитов у пациенток раком шейки матки, получавших лучевую терапию с фторафуром

Время забора	Число наблюдений	М среднее	Ошибка среднего m	Диапазон колебания		Достоверность по Стьюденту
				95% ДИ в	95% ДИ н	
До ЛТ	77	4,82	0,28	5,37	4,27	$p_{1-2} \leq 0,017$
После ЛТ	77	3,62	0,14	3,91	3,34	$p_{2-3} \geq 0,017$
Через 1 месяц	77	3,53	0,19	3,91	3,14	$p_{1-3} \leq 0,017$

В группе больных, получавших лучевую терапию с цисплатином, показатели гранулоцитов незначительно снизились после лечения и не восстановились спустя месяц, несмотря на тенденцию их повышения (таблица 18).

Таблица 18 – Показатели гранулоцитов у пациенток раком шейки матки, получавших лучевую терапию с цисплатином

Время забора	Число наблюдений	М среднее	Ошибка среднего m	Диапазон колебания		Достоверность по Стьюденту
				95% ДИ в	95% ДИ н	
До ЛТ	45	3,86	0,38	5,82	2,49	$p_{1-2} \geq 0,017$
После ЛТ	45	3,23	0,26	3,55	2,34	
Через 1 месяц	45	4,17	0,41	4,52	2,55	$p_{1-3} \geq 0,017$

Таким образом, у пациенток РШМ, получавших лучевую терапию, лучевую терапию с фторафуром и цисплатином, не отмечается снижение гемоглобина на фоне лечения.

Показатели лейкоцитов у больных РШМ всех трех групп после лечения статистически значимо снизились и оставались на этом уровне в течение месяца после окончания лечения.

Показатели тромбоцитов крови больных, получавших только СЛТ и СЛТ с цисплатином, на протяжении всего курса лечения и после оставались без изменения. В группе больных, получавших лучевую терапию с фторафуром, отмечается снижение показателей тромбоцитов после лечения и восстановление их спустя месяц после лучевой терапии.

Гранулоциты у больных, получавших только лучевое лечение, после терапии статистически значимо снижаются, но спустя месяц после лечения восстанавливаются. В группе больных, получавших лучевую терапию с фторафуром, показатели гранулоцитов значительно снизились после лечения и не восстановились спустя месяц. В группе больных, получавших лучевую терапию с цисплатином, показатели гранулоцитов незначительно снизились после лечения и не восстановились спустя месяц, несмотря на тенденцию их повышения.

Далее проведена оценка гематологической токсичности согласно рекомендациям ВОЗ, используя частотный анализ.

Таблица 19 – Гематологическая токсичность комбинированной терапии у больных раком шейки матки (M±m) после лечения

Степень гематолог-ой токсичности	Число больных абс	Число больных в %	Диапазон колебания признака	Достоверность по Стьюденту
1	2	3	4	5
<b>1 Исследуемая группа 1 (ЛТ)</b>				
<b>Анемия</b>				
0	42	77,78±5,6	79,27-76,25	p <sub>1-2</sub> ≤0,05
1	9	16,67±5,03	18,04-15,33	p <sub>1-3</sub> ≤0,05
2	3	5,56±3,09	6,42-4,75	P <sub>2-3</sub> ≤0,05
<b>Лейкопения</b>				
0	42	76,36±5,73	77,89-74,80	p <sub>1-2</sub> ≤0,05
1	12	21,82±5,57	23,34-20,34	p <sub>1-3</sub> ≤0,05
2	1	1,82±1,80	2,34-1,36	P <sub>2-3</sub> ≤0,05
<b>Гранулоцитопения</b>				
0	63	96,36±2,52	97,01-95,65	p <sub>1-2</sub> ≤0,05
1	1	1,82±1,80	2,34-1,36	p <sub>1-3</sub> ≤0,05
4	1	1,82±1,80	2,34-1,36	
<b>2 Исследуемая группа 2 (ЛТ+Ф)</b>				
<b>Анемия</b>				
0	67	87,01±3,83	87,87-86,13	p <sub>1-2</sub> ≤0,05
1	9	11,69±3,66	12,54-10,87	p <sub>1-3</sub> ≤0,05
2	1	1,30±1,29	1,61-1,02	P <sub>2-3</sub> ≤0,05

Продолжение таблицы 19

1	2	3	4	5
Лейкопения				
0	51	66,23±5,39	77,01-55,46	$p_{1-2} \leq 0,05$
1	22	28,57±5,15	38,87-18,28	$p_{1-3} \leq 0,05$
2	4	5,19±2,53	5,79-4,63	$P_{2-3} \leq 0,05$
Гранулоцитопения				
0	72	93,51±2,81	94,13-92,85	$p_{1-2} \leq 0,05$
1	5	6,49±2,81	7,15-5,87	
3 Исследуемая группа 3 (ЛТ+Ц)				
Анемия				
0	29	64,44±7,14	78,72-50,17	$p_{1-2} \leq 0,05$
1	15	33,33±7,03	47,39-19,28	$p_{1-3} \leq 0,05$
2	1	2,22±2,20	2,92-1,61	$P_{2-3} \leq 0,05$
Лейкопения				
0	27	60,0±7,30	74,61-45,39	$p_{1-2} \leq 0,05$
1	14	31,11±6,90	44,91-17,31	$p_{1-3} \leq 0,05$
2	4	8,89±4,24	10,19-7,67	$P_{2-3} \leq 0,05$
Гранулоцитопения				
0	37	82,22±5,70	83,90-80,49	$p_{1-2} \leq 0,05$
1	5	11,11±4,69	12,55-9,75	$p_{1-3} \leq 0,05$
2	3	6,67±3,72	7,82-5,60	$P_{2-3} \leq 0,05$

После окончания комбинированного лечения наиболее высокий показатель анемии наблюдали в группе больных РШМ, получавших СЛТ с цисплатином (35,55±7,14%), который статистически значим по отношению такому же пациенткам, принимавшим СЛТ с фторафуром (12,99±3,83%).

Наиболее высокие показатели лейкопении также наблюдали в группе пациенток, получавших СЛТ с цисплатином (40,0±7,3%), затем в группе больных, принимавших СЛТ с фторафуром (33,77±5,39%), самые низкие показатели лейкопении были у пациенток, принимавших только лучевую терапию (23,64±5,73%). Но эти показатели статистически не значимы (таблица 20).

Аналогичная картина наблюдалась с показателями гранулоцитов, самые высокие показатели гранулоцитопении были в группе пациенток, получавших СЛТ с цисплатином (17,78±5,70%), далее у больных, получавших СЛТ с фторафуром (6,49±2,81%) и самые низкие показатели гранулоцитопении наблюдали у больных, получавших только лучевую терапию (3,64±2,53%). Показатели статистически значимы у больных, получавших СЛТ с цисплатином, по отношению к пациенткам, получавшим только лучевую терапию.

Таблица 20 – Оценка гематологической токсичности разных способов комбинированной терапии больных раком шейки матки после лечения ( $M \pm m$ )

Гематологическая токсичность	Группы больных по способу комбинированной терапии		
	ЛТ (исслед-ая 1) (пациенток -55) абс (%)	ЛТ+Ф (исследуемая 2) (пациенток -77) абс (%)	ЛТ+Ц (исслед-ая 3) (пациенток -45) абс (%)
Анемия всего	12 (22,23±5,61)	10 (12,99±3,83)	16 (35,55±7,14)*
1 степень	9 (16,67±5,03)	9 (11,69±3,66)	15 (33,33±7,03)
2 степень	3 (5,56±3,09)	1 (1,30±1,29)	1 (2,22±2,20)
Лейкопения всего	13 (23,64±5,73)	26 (33,77±5,39)	18 (40,0±7,3)
1 степень	12 (21,82±5,57)	22 (28,57±5,15)	14 (31,11±6,90)
2 степень	1 (1,82±1,80)	4 (5,19±2,53)	4 (8,89±4,24)
Гранулоцитопения	2 (3,64±2,53)	5 (6,49±2,81)	8 (17,78±5,70)**
1 степень	1 (1,82±1,80)	5 (6,49±2,81)	5 (11,11±4,69)
2 степень	-	-	3 (6,67±3,72)
4 степень	1 (1,82±1,80)	-	-
* – статистически значима выше анемия у больных в исследуемой группе 3 по отношению к исследуемой группе 2 ( $p \leq 0,05$ );			
** – статистически значима выше гранулоцитопения у больных в исследуемой группе 3 по отношению к пациенткам исследуемой группы 1 ( $p \leq 0,05$ )			

Таким образом, наиболее выраженная гематологическая токсичность наблюдалась у больных РШМ, получавших СЛТ с цисплатином, самые низкие показатели гематологической токсичности были у пациенток, получавших только лучевую терапию.

Спустя месяц после окончания комбинированной терапии у больных РШМ сохранялась прежняя картина, но с тенденцией к выравниванию показателей гемоглобина, лейкоцитов и гранулоцитов. Статистически значимой разницы между показателями крови у больных всех трех групп уже не наблюдалось (таблица 21).

Таблица 21 – Оценка гематологической токсичности разных способов комбинированной терапии больных раком шейки матки через месяц после лечения ( $M \pm m$ )

Гематологическая токсичность	Группы больных по способу комбинированной терапии		
	ЛТ (исслед-ая 1) (пациенток -55) абс (%)	ЛТ+Ф (исследуемая 2) (пациенток -77) абс (%)	ЛТ+Ц (исслед-ая 3) (пациенток -45) абс (%)
1	2	3	4
Анемия всего	11 (20,0±5,39)	12 (15,58±4,13)	12 (26,66±6,59)
1 степень	11 (20,0±5,39)	8 (10,39±3,48)	10 (22,22±6,20)
2 степень	-	4 (5,19±2,53)	2 (4,44±3,07)

Продолжение таблицы 21

1	2	3	4
Лейкопения всего	12 (21,82±5,57)	22 (28,57±5,15)	15 (33,33±7,03)
1 степень	11 (20,0±5,39)	17 (22,08±4,73)	9 (20,0±5,96)
2 степень	1 (1,82±1,80)	5 (6,49±2,81)	6 (13,33±5,07)
Гранулоцитопения	4 (7,28±3,50)	9 (11,69±3,66)	9 (20,0±5,96)
1 степень	2 (3,64±2,52)	8 (10,39±3,48)	5 (11,11±4,69)
2 степень	1 (1,82±1,80)	1 (1,30±1,30)	3 (6,67±3,72)
3 степень	1 (1,82±1,80)	-	1 (2,22±2,20)
* – статистически значима выше анемия у больных в исследуемой группе 2 по отношению к исследуемой группе 1 ( $p \leq 0,05$ );			
** – статистически значима выше гранулоцитопения у больных в исследуемой группе 2 по отношению к пациенткам контрольной группы ( $p \leq 0,05$ )			

Таким образом, наиболее выраженная гематологическая токсичность наблюдалась у больных РШМ, получавших СЛТ с цисплатином, самые низкие показатели гематологической токсичности были у пациенток, получавших только лучевую терапию.

Наиболее высокий показатель анемии наблюдали в группе больных РШМ, получавших СЛТ с цисплатином (35,55±7,14%), который статистически значим по отношению таковому пациентам, принимавших СЛТ с фторафуром (12,99±3,83%).

Наиболее высокие показатели лейкопении также наблюдали в группе пациенток, получавших СЛТ с цисплатином (40,0±7,3%), затем в группе больных, принимавших СЛТ с фторафуром (33,77±5,39%), самые низкие показатели лейкопении были у пациенток, принимавших только лучевую терапию (23,64±5,73%). Но эти показатели статистически не значимы.

Самые высокие показатели гранулоцитопении были в группе пациенток, получавших СЛТ с цисплатином (17,78±5,70%), далее у больных, получавших СЛТ с фторафуром (6,49±2,81%) и самые низкие показатели гранулоцитопении наблюдали у больных, получавших только лучевую терапию (3,64±2,53%). Показатели статистически значимы у больных, получавших СЛТ с цисплатином, по отношению к пациенткам, получавших только лучевую терапию.

Через месяц после окончания комбинированной терапии у больных РШМ наблюдается выравнивание показателей крови.

### 3.3 Негематологическая токсичность различных режимов больных раком шейки матки

Негематологическая токсичность представлена в таблице 22.

Таблица 22 – Негематологическая токсичность неоадьювантной химиотерапии у больных раком шейки матки ( $M \pm m$ )

Негематологическая токсичность	Группы больных по способу комбинированной терапии		
	ЛТ (исслед-ая 1) (пациенток -55) абс (%)	ЛТ+Ф (исследуемая 2) (пациенток -77) абс (%)	ЛТ+Ц (исслед-ая 3) (пациенток -45) абс (%)
Тошнота, рвота всего	2 (3,6±2,5)	5 (6,5±2,8)	6 (13,3±5,1)
1-2 степени	2 (3,6±2,5)	5 (6,5±2,8)	6 (13,3±3,1)
3-4 степени	-	-	-
Мукозиты всего	1 (1,8±1,8)	5 (6,5±2,8)	6 (13,3±5,1)*
1-2 степени	1 (1,8±1,8)	5 (6,5±2,8)	6 (13,3±5,1)
3-4 степени	-	-	-
Гепатотоксичность всего	4 (7,3±3,5)	12 (15,6±4,1)	10 (22,2±6,2)*
1-2 степени	3 (5,5±3,1)	7 (9,1±3,3)	8 (17,8±5,7)
3-4 степени	1 (1,8±1,8)	5 (6,5±2,8)	2 (4,4±3,1)
* – статистически значимо выше мукозиты и гепатотоксичность у больных исследуемой группы 1 по отношению к больным исследуемой группы 1 ( $p \leq 0,05$ )			

Негематологическая токсичность включает тошноту, рвоту, мукозиты, гепатотоксичность, нефротоксичность.

Тошнота и рвота одинаково часто встречалась у пациенток исследуемых групп 1 и 2 – в (3,6±2,5)% и (6,5±2,8)% случаев, соответственно. У больных исследуемой группы 3 тошнота и рвота встречалась в два раза чаще (13,3±5,1%), чем у пациенток исследуемой группы 2, но показатели статистически не значимы.

Мукозиты наблюдались у пациенток исследуемой группы 3 (13,3±5,1%) в два раза чаще, чем у больных исследуемой группы 2 (6,5±2,8%), но статистически данные не значимы.

Наибольшей гепатотоксичностью обладает способ комбинированной терапии, включающий СЛТ с цисплатином, где она наблюдалась в (22,2±6,2)% случаев, уменьшается в 1,5 раза у больных исследуемой группы 2 (15,6±4,1%) и в три раза у пациенток группы 1 (7,3±3,5%).

Нефротоксичность не наблюдали у больных РШМ, получавших разные виды комбинированной терапии.

Таким образом, добавление к СЛТ цисплатина статистически значимо повышает частоту появления мукозитов и гепатотоксичности.

### 3.4 Отдаленные результаты комбинированной терапии рака шейки матки

Годичная и 3-летняя выживаемость у больных, получавших только СЛТ, составила 84% и 47%, соответственно (рисунок 1).

Выживаемость больных, получавших только СЛТ, 25 перцентиль – 12,00; 50 перцентиль (медиана) – 24,88.

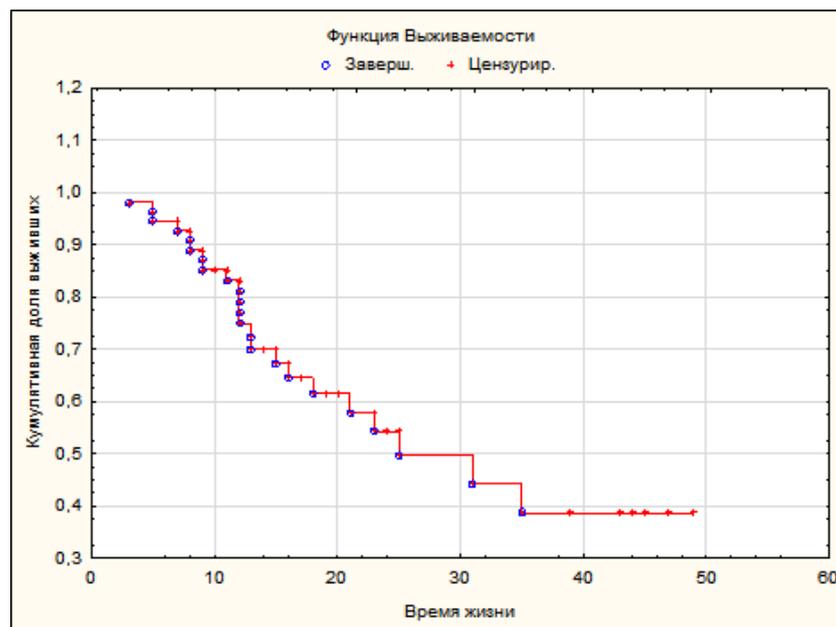


Рисунок 1 – Кумулятивная выживаемость по Е. Карлан – Р. Меер у больных местно-распространенным раком шейки матки, получавших только сочетанно-лучевую терапию

У больных, получавших СЛТ в комбинации с фторафуром, годовичная и 3-летняя выживаемость составила 92% и 64% (рисунок 2).

Выживаемость больных, получавших СЛТ с фторафуром, 25 процентиль – 22,44.

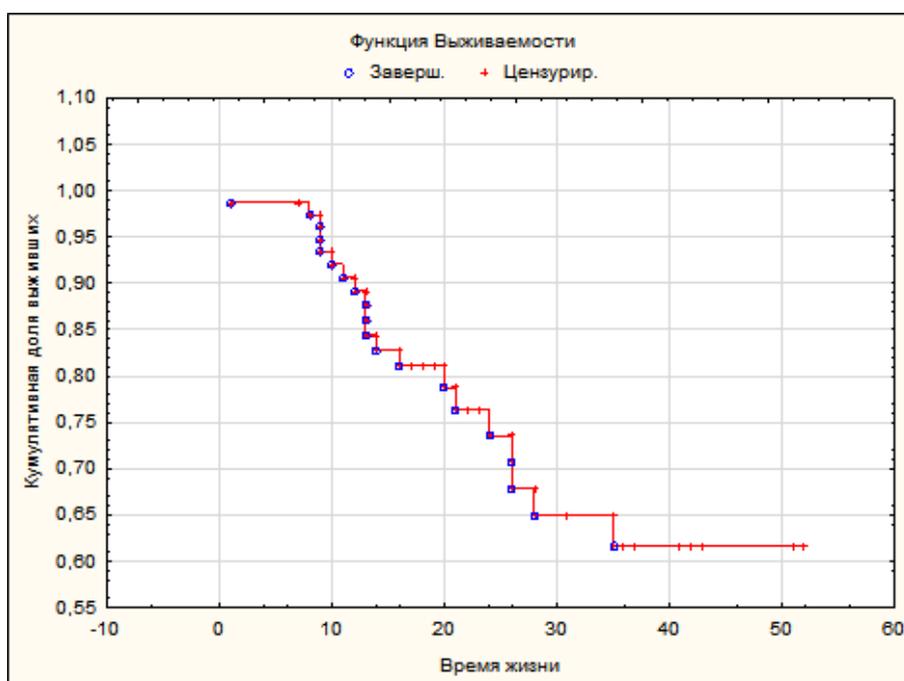


Рисунок 2 – Кумулятивная выживаемость по Е. Карлан – Р. Меер у больных местно-распространенным раком шейки матки, получавших сочетанно-лучевую терапию с фторафуром

У больных, получавших СЛТ в комбинации с цисплатином, годовая и 3-летняя выживаемость составила, соответственно, 100% и 65% (рисунок 3).

Выживаемость больных, получавших СЛТ с цисплатином, 25 процентиль составила 16,62.

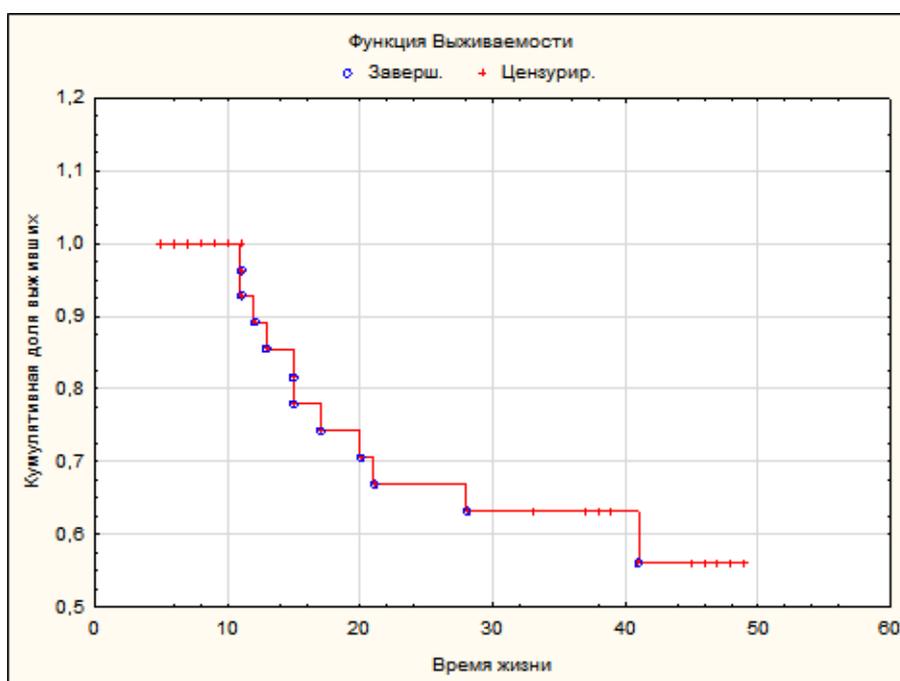
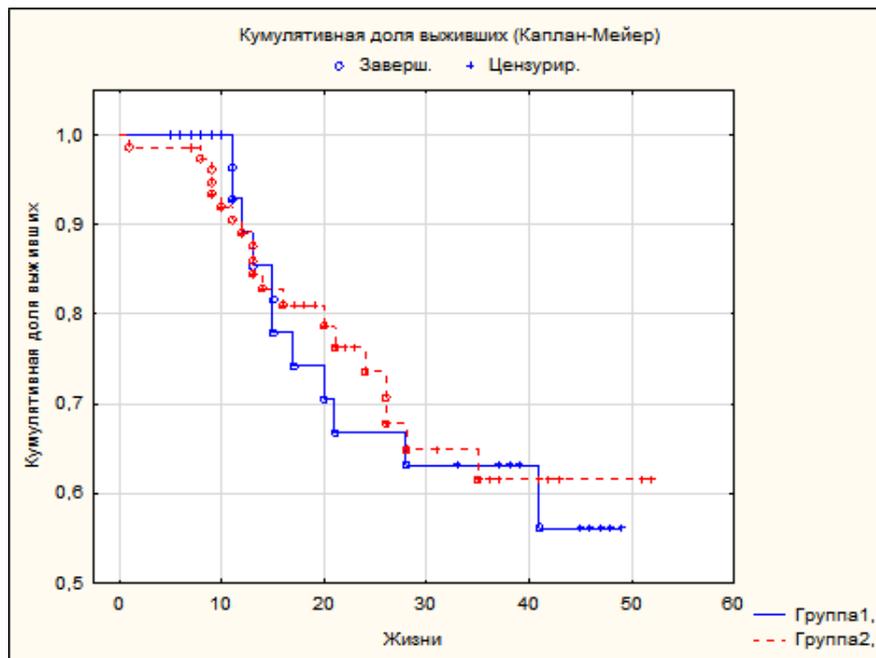


Рисунок 3 – Кумулятивная выживаемость по E. Kaplan – P. Meier у больных местно-распространенным раком шейки матки, получавших сочетанно-лучевую терапию с цисплатином

При сравнительном анализе не выявлено статистически значимых различий 3-летней выживаемости у больных, получавших СЛТ с фторафуром и СЛТ с цисплатином (рисунок 4) (Gehan's Wilcoxon ( $p=0,93214$ ), Cox's Mentel-Test ( $p=0,87834$ ), Лог-Рангов ( $p=0,88052$ )). В этих группах 3-летняя выживаемость одинаковая.

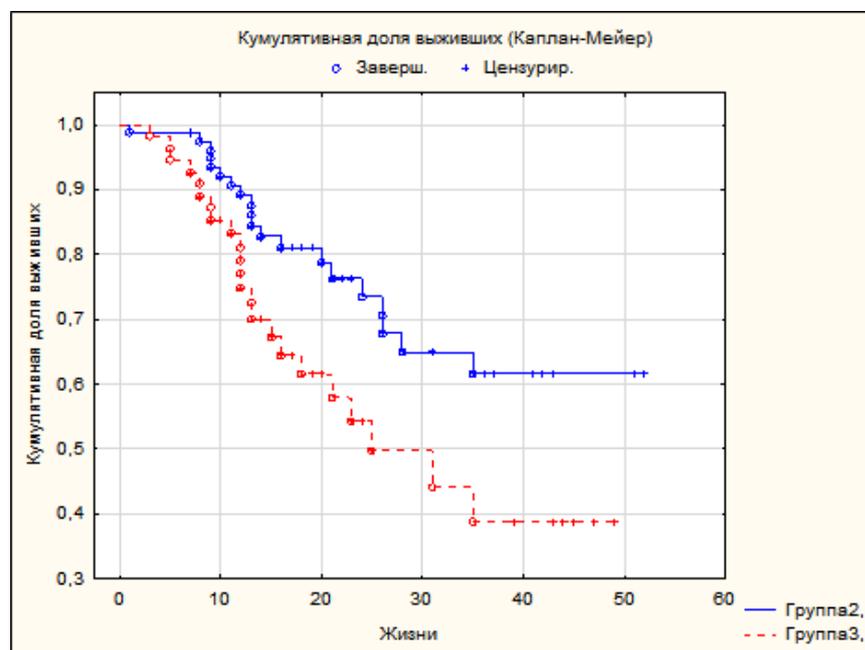
Но комбинация СЛТ с фторафуром статистически значимо повышают 3-летнюю выживаемость у больных МР РШМ по сравнению с пациентками, получавшими только СЛТ (Gehan's Wilcoxon ( $p=0,02050$ ), F-Cox ( $p=0,02274$ ), Cox's Mentel-Test ( $p=0,01636$ ), Лог-Рангов ( $p=0,01935$ )) (рисунок 5).

Комбинация СЛТ с цисплатином также статистически значимо повышают 3-летнюю выживаемость у больных МР РШМ по сравнению с пациентками, получавшими только СЛТ (Gehan's Wilcoxon ( $p=0,04137$ ), F-Cox ( $p=0,02131$ ), Cox's Mentel-Test ( $p=0,01231$ )) (рисунок 6).



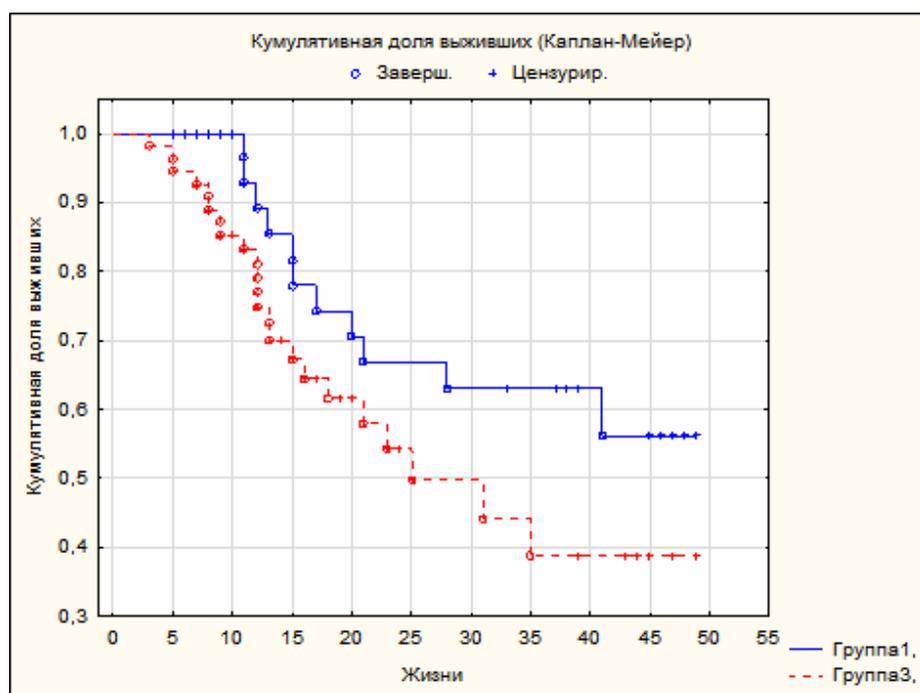
2 – группа, получавшая СЛТ с фторафуром; 1 – группа, получавшая СЛТ с цисплатином

Рисунок 4 – Кумулятивная выживаемость по Е. Карлан – Р. Меер у больных местно-распространенным раком шейки матки, получавших сочетанно-лучевую терапию с фторафуром и цисплатином



2 – группа, получавшая СЛТ с фторафуром; 3 – группа, получавшая только СЛТ)

Рисунок 5 – Кумулятивная выживаемость по Е. Карлан – Р. Меер у больных местно-распространенным раком шейки матки, получавших только сочетанно-лучевую терапию и в комбинации с фторафуром



1 – группа, получавшая СЛТ с цисплатином; 3 – группа, получавшая только СЛТ

Рисунок 6 – Кумулятивная выживаемость по Е. Карпан – Р. Меьер у больных местно-распространенным раком шейки матки, получавших только сочетанно-лучевую терапию и в комбинации с цисплатином

Таким образом, комбинация СЛТ с фторафуром и цисплатином статистически значимо повышают 3-летнюю выживаемость у больных МР РШМ по сравнению с пациентками, получавшими только СЛТ.

Комбинация сочетанной лучевой терапии с цисплатином позволила повысить частоту полных и клинических регрессий опухоли шейки матки на 28,3% по сравнению с проведением только лучевой терапии.

Наиболее выраженная гематологическая токсичность наблюдалась у больных РШМ, получавших СЛТ с цисплатином, самые низкие показатели гематологической токсичности были у пациенток, получавших только лучевую терапию.

Наиболее высокий показатель анемии наблюдали в группе больных РШМ, получавших СЛТ с цисплатином ( $35,55 \pm 7,14\%$ ), который статистически значим по отношению таковому пациентов, принимавших СЛТ с фторафуром ( $12,99 \pm 3,83\%$ ).

Наиболее высокие показатели лейкопении также наблюдали в группе пациенток, получавших СЛТ с цисплатином ( $40,0 \pm 7,3\%$ ), затем в группе больных, принимавших СЛТ с фторафуром ( $33,77 \pm 5,39\%$ ), самые низкие показатели лейкопении были у пациенток, принимавших только лучевую терапию ( $23,64 \pm 5,73\%$ ). Но эти показатели статистически не значимы.

Самые высокие показатели гранулоцитопении были в группе пациенток, получавших СЛТ с цисплатином ( $17,78 \pm 5,70\%$ ), далее у больных, получавших СЛТ с фторафуром ( $6,49 \pm 2,81\%$ ) и самые низкие показатели гранулоцитопении наблюдали у больных, получавших только лучевую терапию ( $3,64 \pm 2,53\%$ ). Показатели статистически значимы у больных, получавших СЛТ с цисплатином, по отношению к пациенткам, получавшим только лучевую терапию.

Комбинация СЛТ с цисплатином статистически значимо повышает частоту появления мукозитов и гепатотоксичности.

Комбинация СЛТ с фторафуром и цисплатином статистически значимо повышают 3-летнюю выживаемость у больных МР РШМ по сравнению с пациентками, получавшими только СЛТ.

## 4 ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ И КАТАБОЛИТЫ ПУРИНОВ КРОВИ БОЛЬНЫХ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ

### 4.1 Внеклеточные нуклеиновые кислоты крови больных местно-распространенным раком шейки матки

Проведено исследование содержания внеклеточных нуклеиновых кислот (вк НК) и кислоторастворимых фракций предшественников нуклеиновых кислот (КРФ) в плазме крови и эритроцитах больных местно-распространенным РШМ. Из данных таблицы 23 следует, что в плазме крови больных РШМ стадии IIb и III стадии не наблюдалось статистически значимых изменений КРФ и вк НК по сравнению с контролем.

Таблица 23 – Содержание внеклеточных нуклеиновых кислот и КРФ в плазме и эритроцитах крови больных РШМ

Группы	Статистическая величина	вк НК в эритроцитах			вк НК в плазме		
		КРФ	РНК	ДНК	КРФ	РНК	ДНК
Контроль n=15	медиана	0,003	0,030	0,033	0,015	0,003	0,004
	нижний квартиль	0,001	0,024	0,031	0,004	0,001	0,004
	верхний квартиль	0,028	0,047	0,041	0,021	0,004	0,005
Больные РШМ n=36	медиана	0,003	0,026	0,028	0,013	0,003	0,003
	нижний квартиль	0,001	0,014	0,022	0,008	0,001	0,002
	верхний квартиль	0,006	0,034	0,036	0,017	0,006	0,006
Больные РШМ St IIb, n=22	медиана	0,003	0,024	0,030	0,013	0,003	0,003
	нижний квартиль	0,001	0,013	0,022	0,007	0,001	0,002
	верхний квартиль	0,006	0,031	0,037	0,016	0,005	0,005
Больные РШМ, St III, n=14	медиана	0,005	0,033	0,024*	0,013	0,005	0,005
	нижний квартиль	0,002	0,030	0,019	0,011	0,002	0,002
	верхний квартиль	0,009	0,049	0,028	0,018	0,013	0,008

\* - достоверность отличий с контролем, p=0,005

В эритроцитах крови больных РШМ наблюдалась тенденция к снижению вк НК, но статистически значимые отличия от контроля зафиксированы для вк ДНК, сорбированной на эритроцитах крови больных РШМ III стадии.

Анализ полученных данных показал, что местно-распространенный РШМ стадии IIb не сопровождался достоверными изменениями со стороны вк НК и КРФ, тогда как на III стадии выявлено достоверное снижение вк ДНК, сорбированной на эритроцитах.

Следовательно, при РШМ рост вк НК зависел от стадии болезни, причем особенностью является увеличение фракции, связанных с клетками вк НК.

#### 4.2 Катаболиты пуринов крови больных местно-распространенным раком шейки матки

Было проведено исследование содержания свободных пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов в эритроцитах и плазме крови больных раком шейки матки стадии St IIb и St III. Результаты приведены в таблицах 24-27.

Из данных таблицы 24 следует, что у больных РШМ вне зависимости от стадии болезни в плазме крови достоверно возросло содержание ксантина и мочевой кислоты по сравнению с таковыми контроля.

Таблица 24 – Содержание пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов в плазме крови больных РШМ в зависимости от стадии

Группы	Статистическая величина	Пурины в плазме				
		Гуанин	Гипоксантин	Аденин	Ксантин	Мочевая кислота
Контроль n=15	медиана	153	135	124	123	130
	нижний квартиль	119,5	96,5	78,5	112,5	113,5
	верхний квартиль	182,5	170,5	148,5	138	143,5
Больные РШМ n=36	медиана	151,5	127,5	103	156*	172*
	нижний квартиль	128	107	87,75	144,25	159,5
	верхний квартиль	180,75	157	129,25	175,5	211
Больные РШМ St IIb, n=22	медиана	144	124,5	104,5	156*	167,5*
	нижний квартиль	128,5	107	88,25	145,75	158,5
	верхний квартиль	178,75	157	126,75	169,75	207,75
Больные РШМ, St III, n=14	медиана	165,5	132,5	96	168,5*	201*
	нижний квартиль	137	108,5	84	143,5	164,5
	верхний квартиль	217,25	146	162	227,25	242,75

\* - достоверность отличий с контролем, p=0,005

В плазме крови больных раком шейки матки St III выявлена тенденция к увеличению ксантина и мочевой кислоты по сравнению с таковыми больных РШМ St IIb.

В эритроцитах крови больных РШМ St IIb зафиксирована тенденция к увеличению показателей, как свободных пуриновых оснований, так и интермедиатов катаболизма пуринов по сравнению с контролем, но эти изменения не носили достоверного характера (таблица 25).

Таблица 25 – Содержание пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов в эритроцитах крови больных в зависимости от стадии РШМ

Группы	Статистическая величина	Пурины в эритроцитах				
		Гуанин	Гипоксантин	Аденин	Ксантин	Мочевая кислота
Контроль n=15	медиана	420	450	451	213	80
	нижний квартиль	353	395	414	180,5	68
	верхний квартиль	470,5	529,5	585,5	254	93,5
Больные РШМ n=36	медиана	489,5	547	599	251	97
	нижний квартиль	427,25	478,25	534,25	229	74,75
	верхний квартиль	563	623,25	644,75	289,25	113,25
Больные РШМ St IIb, n=22	медиана	480	539,5	593	248	95,5
	нижний квартиль	425,75	470,75	532,75	230,5	75,25
	верхний квартиль	538,25	575	621,25	276,5	110,75
Больные РШМ, St III, n=14	медиана	572*	655,5*	726*	311,5	107
	нижний квартиль	485	569,75	624,5	249	73
	верхний квартиль	733,25	780,25	823,75	380	146,25
* - достоверность отличий с контролем, p=0,005						

В тоже время в эритроцитах крови больных РШМ St III выявлено статистически значимое увеличение содержания гуанина, гипоксантина и аденина по сравнению с таковыми контроля.

В таблицах 26 и 27 приведены показатели, характеризующие интенсивность пуринового обмена (ИПО), показатель тяжести гипоксии (ПТГ) и активность ксантинооксидазы (КО) на разных этапах её работы путем расчета индексов К/ГК, МК/К, и МК/ГК в плазме крови и эритроцитах. Из данных таблицы 26 следует, что в плазме крови больных РШМ St IIb наблюдалась тенденция к снижению интенсивности пуринового обмена при увеличении

показателя ПТГ, свидетельствующего о развитии гипоксического состояния. Достоверное увеличение по сравнению с контролем наблюдалось только для индекса МК/ГК.

В тоже время в плазме крови больных РШМ St III наблюдалось статистически значимое снижение интенсивности пуринового обмена при достоверном росте индекса ПТГ по сравнению с контролем. Также выявлена тенденция к увеличению активности ксантиноксидазы (таблица 26, индекс МК/К) относительно контроля. Кроме того, зафиксировано достоверное отличие индекса К/ГК в плазме крови больных РШМ St III относительно такового у больных РШМ St IIb.

Таблица 26 – Индекс интенсивности пуринового обмена, показатель тяжести гипоксии и активность ксантиноксидазы в плазме крови больных РШМ в зависимости от стадии

Группы	Статистическая величина	Плазма				
		ИПО	ПТГ	К/ГК	МК/ГК	МК/К
Контроль n=15	медиана	0,518	0,852	0,945	1,010	0,982
	нижний квартиль	0,413	0,733	0,765	0,973	0,744
	верхний квартиль	0,661	0,945	1,142	1,167	1,285
Больные РШМ n=36	медиана	0,406	1,026	1,199	1,318*	1,151
	нижний квартиль	0,350	0,936	1,101	1,182	1,052
	верхний квартиль	0,442	1,154	1,346	1,557	1,257
Больные РШМ St IIb, n=22	медиана	0,414	1,003	1,164	1,286*	1,156
	нижний квартиль	0,374	0,931	1,089	1,168	1,061
	верхний квартиль	0,447	1,074	1,258	1,504	1,258
Больные РШМ, St III, n=14	медиана	0,332*	1,111*	1,403*^	1,604*	1,143
	нижний квартиль	0,309	1,036	1,324	1,345	1,058
	верхний квартиль	0,404	1,206	1,473	1,663	1,175
* - достоверность отличий с контролем, p=0,005;						
^ - достоверность отличий между группами сравнения, p=0,01						

Из данных таблицы 27 следует, что в эритроцитах крови больных РШМ как St IIb, так и St III зафиксировано статистически значимое изменение активности ксантиноксидазы по сравнению с контролем. Так, наблюдалось статистически значимое снижение общей активности фермента (по индексу

МК/ГК) при достоверном увеличении индекса МК/К, характеризующего активность ксантиноксидазы на 2 этапе. Анализируя полученные данные, можно сделать следующее заключение. В крови больных РШМ меняется концентрация интермедиатов пуринового катаболизма. Выявлены преобладающие типы интермедиатов катаболизма пуринов в плазме и эритроцитах в зависимости от стадии болезни. Так, в плазме крови больных РШМ St IIb и St III аккумуляровался ксантин и мочевая кислота.

Таблица 27 – Индекс интенсивности пуринового обмена, показатель тяжести гипоксии и активность ксантиноксидазы в эритроцитах крови больных РШМ в зависимости от стадии

Группы	Статистическая величина	Пурины в эритроцитах				
		ИПО	ПТГ	К/ГК	МК/ГК	МК/К
Контроль n=15	медиана	1,555	0,516	0,454	0,372	0,177
	нижний квартиль	1,479	0,475	0,439	0,330	0,155
	верхний квартиль	1,665	0,557	0,481	0,432	0,191
Больные РШМ n=36	медиана	1,549	0,521	0,468	0,183*	0,367*
	нижний квартиль	1,426	0,490	0,444	0,159	0,325
	верхний квартиль	1,615	0,568	0,508	0,199	0,431
Больные РШМ St IIb, n=22	медиана	1,549	0,525	0,468	0,188*	0,388*
	нижний квартиль	1,425	0,480	0,440	0,158	0,328
	верхний квартиль	1,617	0,564	0,508	0,199	0,440
Больные РШМ, St III, n=14	медиана	1,545	0,516	0,475	0,172*	0,367*
	нижний квартиль	1,465	0,511	0,454	0,162	0,333
	верхний квартиль	1,604	0,564	0,497	0,188	0,386
* - достоверность отличий с контролем, p=0,005						

В тоже время в эритроцитах крови больных РШМ St III статистически значимо возросло содержание гуанина, гипоксантина и аденина. Выявлены также особенности изменения индексов пуринового обмена и активности ксантиноксидазы. Выраженное изменение этих параметров наблюдалось в плазме крови больных РШМ St III. В эритроцитах крови больных РШМ, вне зависимости от стадии болезни, зафиксировано только изменение активности ксантиноксидазы.

Обобщая полученные данные, можно сделать следующее заключение. На ранней стадии развития РШМ в плазме крови больных отмечен высокий

уровень ксантина и мочевой кислоты. Эти изменения сопровождались достоверным ростом общей активности ксантиноксидазы (о чем свидетельствовало увеличение индекса МК/ГК). В эритроцитах крови больных на ранней стадии развития РШМ значимых изменений со стороны интермедиатов катаболизма пуринов отмечено не было. Но в тоже время наблюдался дисбаланс ксантиноксидазы: снижение общей активности фермента при увеличении его активности на втором этапе (превращение ксантина в мочевую кислоту).

Переход РШМ в 3 стадию (St III) сопровождается ростом содержания ксантина и мочевой кислоты в плазме крови больных. Также на этой стадии в плазме крови больных наблюдалось достоверное снижение интенсивности пуринового обмена при достоверном росте индекса ПТГ, что свидетельствовало о развитии гипоксического состояния. Эти изменения сопровождались увеличением активности КО, как на первом, так и на втором этапах ее работы. Более выраженные изменения наблюдались в эритроцитах крови больных РШМ 3 стадии, что документировалось достоверным увеличением содержания гуанина, гипоксантина и аденина. В эритроцитах крови больных сохранялся выявленный ранее дисбаланс активности КО: снижение общей активности фермента при увеличении активности КО на втором этапе (превращение ксантина в мочевую кислоту). Также выявлено достоверное отличие индекса К/ГК в плазме крови больных РШМ 3 стадии относительно такового на стадии IIb.

Таким образом, полученные нами данные выявили зависимость между степенью аккумуляции интермедиатов пуринового катаболизма в плазме крови и эритроцитах больных РШМ в зависимости от стадии заболевания.

Проведен расчет корреляционных зависимостей между показателями, характеризующими размер опухоли, содержание внеклеточных нуклеиновых кислот и КРФ, а также распределение свободных пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов в плазме и эритроцитах крови больных РШМ до лучевой терапии. Согласно результатам проведенного анализа выявлена единственная достоверная, но отрицательная корреляция между размером опухоли и уровнем вк РНК в плазме крови больных РШМ до лечения ( $r=-0,66$ ). Также обнаружена положительная корреляция между уровнем КРФ и вк РНК ( $r=0,78$ ) в плазме крови больных РШМ до лечения. Уровень вк РНК, сорбированной на эритроцитах, достоверно коррелировал с содержанием гуанина ( $r=0,64$ ), гипоксантина ( $r=0,66$ ), аденина ( $r=0,67$ ) и мочевой кислоты ( $r=0,66$ ) в эритроцитах, а также с содержанием ксантина ( $r=0,7$ ) в плазме крови. Эти данные позволяют предположить, что катаболизм внеклеточных нуклеиновых кислот является одними из возможных источников пуринов в плазме и в эритроцитах.

Также нами установлены высокие и средние достоверные корреляционные зависимости между свободными пуриновыми основаниями и интермедиатами их катаболизма в плазме крови и эритроцитах больных РШМ до лечения. Обнаружены достоверные высокие положительные корреляции

между гуанином и гипоксантином ( $r=0,99$ ), гуанином и аденином ( $r=0,98$ ), гуанином и ксантином ( $r=0,87$ ), а также ксантином и мочевой кислотой ( $r=0,63$ ) в эритроцитах крови больных РШМ до лечения.

Также наблюдались достоверные положительные корреляционные зависимости между гипоксантином и аденином ( $r=0,99$ ), гипоксантином и ксантином ( $r=0,88$ ) в эритроцитах крови больных этой группы, а также между гуанином в эритроцитах и мочевой кислотой плазмы ( $r=0,58$ ). Выявлены положительные корреляционные связи между аденином и ксантином ( $r=0,86$ ) в эритроцитах, аденином в эритроцитах и мочевой кислотой плазмы ( $r=0,58$ ), а также между аденином и ксантином ( $r=0,79$ ), аденином и гипоксантином ( $r=0,72$ ) в плазме крови больных РШМ до лечения. Уровень мочевой кислоты в эритроцитах крови больных этой группы коррелировал с уровнем мочевой кислоты в плазме ( $r=0,86$ ). В плазме крови больных также обнаружены положительные корреляции между гуанином и гипоксантином ( $r=0,91$ ), гуанином и ксантином ( $r=0,75$ ), между ксантином и мочевой кислотой ( $r=0,71$ ), а также ксантином и гипоксантином ( $r=0,69$ ).

Наши данные хорошо согласуются с результатами других авторов, показавших аккумуляцию свободных пуриновых оснований в эритроцитах крови крыс с гепатомой 22 [132]. По нашему мнению, аккумуляцию интермедиатов катаболизма пуринов в эритроцитах крови больных РШМ следует рассматривать как негативный фактор. Эритроциты являются системой транспорта и доставки их к различным тканям, в том числе к опухолевым. При этом в клетках растущих опухолей возрастает активность «путей спасения», т.е. использование для синтеза нуклеотидов свободных пуриновых оснований. В этой связи логично предположить усиленную доставку пуриновых оснований в опухолевые клетки. Другим детримальным фактором следует рассматривать гипоксантин, катаболизм которого сопровождается образованием пероксида водорода, что может индуцировать внутриклеточный окислительный стресс. Наконец, аккумуляция интермедиатов обмена пуринов в эритроцитах также отрицательно влияет на метаболизм красных клеток.

### **4.3 Нейтрофильные внеклеточные ловушки крови больных раком шейки матки**

Одной из причин изменения концентрации внеклеточных нуклеиновых кислот и пуринов в крови больных может быть образование внеклеточных ловушек клетками крови. В связи с этим, нами было проведено исследование образования спонтанных внеклеточных ловушек в крови больных РШМ до и после лечения.

Как показали полученные данные, нейтрофилы периферической крови у 53,57% (33,87; 72,49) больных РШМ до лечения показали способность к генерации ВНЛ. Количество ВНЛ колебалось от 1 до 23 в мазке (рисунок 7).

Не было найдено зависимости образования ВНЛ от стадии рака (Iб или II). У 46,43 % (27,51; 63,13) больных ВНЛ в крови не наблюдались.

У 3,57 % (0,09; 18,35) больных РШМ было обнаружено образование внеклеточных ловушек не только нейтрофилами, но и базофилами (рисунок 8).

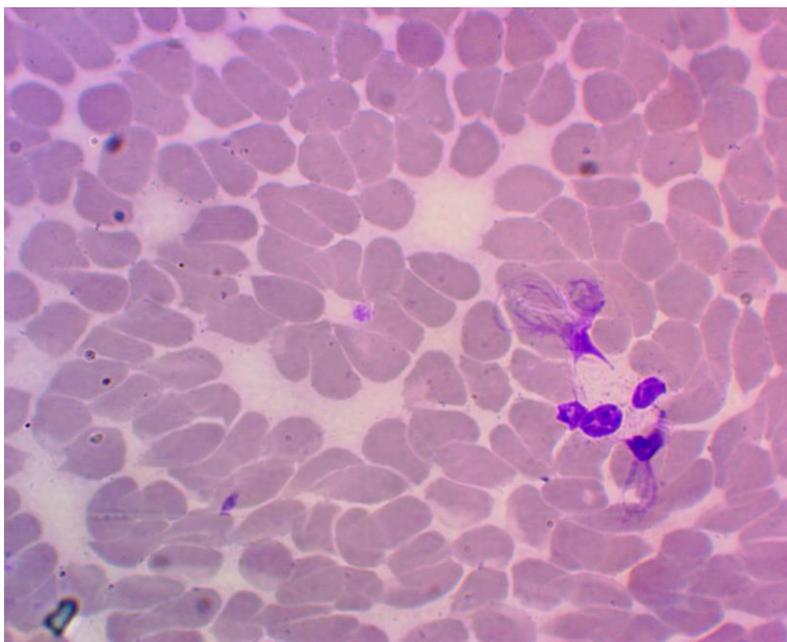


Рисунок 7 – Внеклеточная нейтрофильная ловушка в крови больной раком шейки матки. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. 1400 х

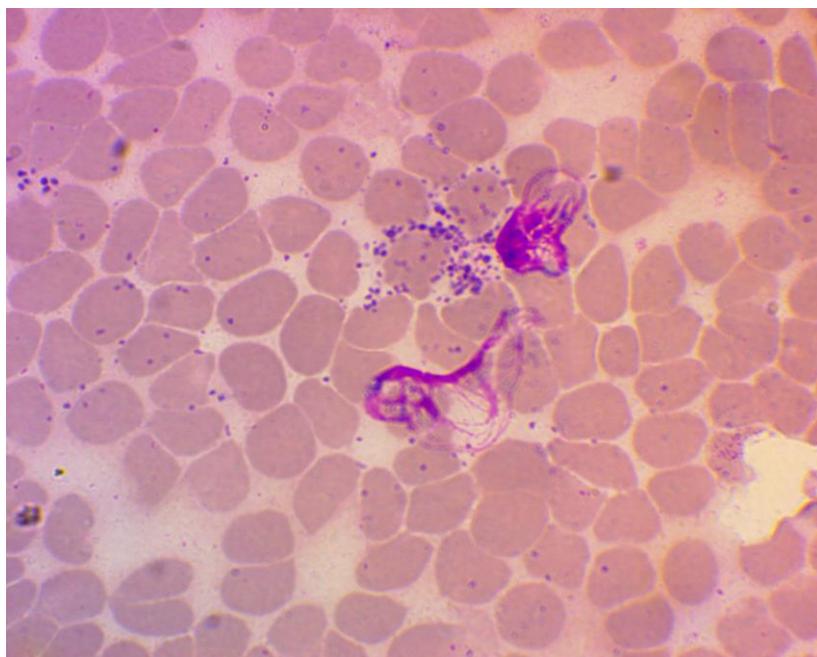


Рисунок 8 – Внеклеточная базофильная ловушка в крови больных раком шейки матки. Окраска: гематоксилином и эозином. Ув. 1400 х

Формирование ВНЛ проходит по литическому механизму с деконденсацией хроматина и выбросом сетеподобной ДНК после разрыва плазматической мембраны, т.е. по классической схеме.

Как следует из полученных данных, нейтрофилы периферической крови больных РШМ отличаются по их способности образовывать ВНЛ. В нормальных условиях в цельной крови нейтрофилы не образуют ВНЛ, даже несмотря на периодическое повышение концентрации активаторов их образования, так как это может привести к нарушению гемостаза.

Обобщая полученные данные, можно сделать следующее заключение. На ранней стадии развития РШМ в плазме крови больных отмечен высокий уровень ксантина и мочевой кислоты. Эти изменения сопровождались статистически значимым ростом общей активности ксантиноксидазы (о чем свидетельствовало увеличение индекса МК/ГК). В эритроцитах крови больных на ранней стадии развития РШМ значимых изменений со стороны интермедиатов катаболизма пуринов отмечено не было. Но в тоже время наблюдался дисбаланс ксантиноксидазы: снижение общей активности фермента при увеличении активности КО на втором этапе (превращение ксантина в мочевую кислоту).

Переход РШМ в III стадию сопровождается ростом содержания ксантина и мочевой кислоты в плазме крови больных. В плазме крови больных РШМ III стадии наблюдалось статистически значимое снижение интенсивности пуринового обмена при достоверном росте индекса ПТГ, что свидетельствовало о развитии гипоксического состояния. Эти изменения сопровождались увеличением активности КО как на первом, так и на втором этапах. Более выраженные изменения наблюдались в эритроцитах крови больных РШМ III стадии, что документировалось статистически значимым увеличением содержания гуанина, гипоксантина и аденина. В эритроцитах крови больных сохранялся выявленный ранее дисбаланс активности КО: снижение общей активности фермента при увеличении активности КО на втором этапе (превращение ксантина в мочевую кислоту). Также выявлено статистически значимое отличие индекса К/ГК в плазме крови больных РШМ III стадии относительно такового на стадии IIb.

Переход РШМ в III стадию сопровождается развитием гипоксического состояния, что документировалось ростом индекса ПТГ, а также высоким уровнем ксантина и мочевой кислоты в плазме крови больных. Более выраженные изменения спектра катаболитов пуринов отмечены в эритроцитах крови больных РШМ. Высокий уровень гуанина, гипоксантина и аденина в эритроцитах крови больных РШМ позволяет высказать предположение о нарушении активности ферментов путей спасения, что свидетельствует о глубоких метаболических нарушениях в красных клетках.

Таким образом, полученные нами данные выявили зависимость между степенью аккумуляции интермедиатов пуринового катаболизма в плазме крови и эритроцитах больных РШМ в зависимости от стадии заболевания.

При проведении корреляционного анализа обнаружена достоверная взаимосвязь между уровнем КРФ и вкРНК в плазме крови больных РШМ до лечения. Уровень вк РНК, сорбированной на эритроцитах, достоверно коррелировал с содержанием гуанина, гипоксантина, аденина и мочевой кислоты в эритроцитах, а также ксантина в плазме крови. Эти корреляционные зависимости позволяют предположить, что катаболизм внеклеточных нуклеиновых кислот является одними из возможных источников пуринов в плазме и в эритроцитах, так и за счет активации систем ферментных обратного транспорта - в эритроцитах. Также установлены высокие и средние достоверные коррелятивные зависимости между свободными пуриновыми основаниями и интермедиатами их катаболизма в плазме крови и эритроцитах больных РШМ до лечения.

Нейтрофилы периферической крови у 53,57% (33,87; 72,49) больных РШМ до лечения показали способность к генерации ВНЛ, такая способность отсутствует у здоровых людей. Не выявлено зависимости образования ВНЛ от степени распространенности рака шейки матки (IIб или III).

## 5 ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ И КАТАБОЛИТЫ ПУРИНОВ КРОВИ БОЛЬНЫХ МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ НА ФОНЕ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ

### 5.1 Внеклеточные нуклеиновые кислоты крови больных местно-распространенным раком шейки матки на фоне комбинированной терапии

Было проведено исследование содержания внеклеточных нуклеиновых кислот (вк НК) и кислоторастворимых фракций предшественников нуклеиновых кислот (КРФ) в плазме крови и эритроцитах больных РШМ на фоне различных режимов лечения.

В таблице 28 приведены результаты определения содержания вк НК и КРФ в плазме крови и эритроцитах больных РШМ в середине и после лучевой терапии. Из данных таблицы следует, что на середине лучевой терапии наблюдалась тенденция к увеличению КРФ и вк РНК в плазме крови больных по сравнению с контролем и таковым до лечения. В эритроцитах крови больных этой группы на середине лучевой терапии зафиксировано статистически значимое снижение вк РНК и вк ДНК по сравнению с контролем. При этом уровень вк РНК был статистически значимо ниже такового до лечения.

Таблица 28 – Содержание внеклеточных нуклеиновых кислот и КРФ в плазме и эритроцитах крови больных РШМ на фоне лучевой терапии

Группа	Статистическая величина	вк НК в эритроцитах			вк НК в плазме		
		КРФ	РНК	ДНК	КРФ	РНК	ДНК
1	2	3	4	5	6	7	8
Контроль, n=15	медиана	0,003	0,030	0,033	0,015	0,003	0,004
	нижний квартиль	0,001	0,024	0,031	0,004	0,001	0,004
	верхний квартиль	0,028	0,047	0,041	0,021	0,004	0,005
До терапии, n=36	медиана	0,003	0,026	0,028	0,013	0,003	0,003
	нижний квартиль	0,001	0,014	0,022	0,008	0,001	0,002
	верхний квартиль	0,006	0,034	0,036	0,017	0,006	0,006
Лучевая терапия, середина, n=5	медиана	0,005	0,012* ^	0,024*	0,024	0,004	0,004
	нижний квартиль	0,003	0,006	0,022	0,006	0,002	0,002
	верхний квартиль	0,006	0,014	0,025	0,031	0,005	0,005

Продолжение таблицы 28

1	2	3	4	5	6	7	8
Лучевая терапия, конец, n=5	медиана	0,001&	0,006*	0,028	0,013	0,003	0,004
	нижний квартиль	0,001	0,004	0,021	0,010	0,003	0,003
	верхний квартиль	0,002	0,023	0,033	0,013	0,004	0,004
* - достоверность отличий с контролем, p=0,005; ^ - достоверность отличий между группами больных до терапии и в период проведения терапии, p<0,01; & - достоверность отличий между группами больных в период проведения терапии и после проведения терапии, p<0,01							

После лучевой терапии уровень вк РНК в эритроцитах крови больных РШМ продолжал снижаться и статистически значимо отличался от такового контроля. Также выявлено статистически значимое отличие по уровню КРФ на середине и в конце лучевой терапии.

В таблице 29 приведены результаты определения содержания вк НК и КРФ в плазме крови и эритроцитах больных РШМ в середине и после лечения фторафуrom на фоне лучевой терапии. Из данных таблицы следует, что на середине лечения наблюдалась тенденция к увеличению КРФ и вк РНК в эритроцитах крови больных по сравнению с контролем и таковым до лечения.

Таблица 29 – Содержание внеклеточных нуклеиновых кислот и КРФ в плазме и эритроцитах крови больных РШМ на фоне лучевой терапии с фторафуrom

Группа	Статистическая величина	вк НК в эритроцитах			вк НК в плазме		
		КРФ	РНК	ДНК	КРФ	РНК	ДНК
1	2	3	4	5	6	7	8
Контроль, n=15	медиана	0,003	0,030	0,033	0,015	0,003	0,004
	нижний квартиль	0,001	0,024	0,031	0,004	0,001	0,004
	верхний квартиль	0,028	0,047	0,041	0,021	0,004	0,005
До терапии, n=36	медиана	0,003	0,026	0,028	0,013	0,003	0,003
	нижний квартиль	0,001	0,014	0,022	0,008	0,001	0,002
	верхний квартиль	0,006	0,034	0,036	0,017	0,006	0,006
Лучевая терапия+ фторафуr, середина, n=7	медиана	0,006	0,041	0,033	0,015	0,004	0,005
	нижний квартиль	0,003	0,024	0,031	0,009	0,002	0,004
	верхний квартиль	0,008	0,061	0,036	0,021	0,006	0,018

Продолжение таблицы 29

1	2	3	4	5	6	7	8
Лучевая терапия+ фторафур, конец, n=7	медиана	0,022 <sup>^</sup> &	0,023	0,030	0,006	0,002	0,005
	нижний квартиль	0,014	0,001	0,016	0,004	0,001	0,004
	верхний квартиль	0,075	0,050	0,049	0,010	0,004	0,008
<sup>^</sup> - достоверность отличий между группами больных до терапии и после проведения терапии, p<0,01; & - достоверность отличий между группами больных в период проведения терапии и после проведения терапии, p<0,01							

По окончанию лечения фторафуром на фоне лучевой терапии было зафиксировано статистически значимое отличие по содержанию КРФ в эритроцитах крови больных РШМ относительно таковых до лечения и на середине лечения.

В таблице 30 приведены результаты определения содержания вк НК и КРФ в плазме крови и эритроцитах больных РШМ в середине и после лучевой терапии с цисплатином.

Таблица 30 – Содержание внеклеточных нуклеиновых кислот и КРФ в плазме и эритроцитах крови больных РШМ на фоне лучевой терапии с цисплатином

Группа	Статистическая величина	вк НК в эритроцитах			вк НК в плазме		
		КРФ	РНК	ДНК	КРФ	РНК	ДНК
1	2	3	4	5	6	7	8
Контроль, n=15	медиана	0,003	0,030	0,033	0,015	0,003	0,004
	нижний квартиль	0,001	0,024	0,031	0,004	0,001	0,004
	верхний квартиль	0,028	0,047	0,041	0,021	0,004	0,005
До терапии, n=36	медиана	0,003	0,026	0,028	0,013	0,003	0,003
	нижний квартиль	0,001	0,014	0,022	0,008	0,001	0,002
	верхний квартиль	0,006	0,034	0,036	0,017	0,006	0,006
Лучевая терапия+ цисплатин, середина, n=24	медиана	0,006	0,018	0,022*	0,010	0,003	0,004
	нижний квартиль	0,003	0,008	0,019	0,006	0,002	0,003
	верхний квартиль	0,011	0,031	0,028	0,023	0,005	0,006

Продолжение таблицы 30

1	2	3	4	5	6	7	8
Лучевая терапия+ цисплатин, конец, n=24	медиана	0,005	0,022	0,028	0,012	0,003	0,004
	нижний квартиль	0,004	0,013	0,012	0,008	0,002	0,003
	верхний квартиль	0,010	0,043	0,036	0,025	0,005	0,004
* - достоверность отличий с контролем, p=0,005							

Из данных таблицы следует, что на середине лечения наблюдалась тенденция к увеличению КРФ при снижении вк РНК и вк ДНК в эритроцитах крови больных по сравнению с контролем и таковым до лечения. При этом снижение вк ДНК было статистически значимым по сравнению с контролем.

По окончании лечения цисплатином на фоне лучевой терапии все изучаемые параметры в плазме крови и эритроцитах больных РШМ не отличались от таковых контроля.

В таблицах 31 и 32 отражено сравнение показателей вк НК и КРФ в плазме и эритроцитах крови больных РШМ на середине и после лечения с применением различных видов терапии. Сравнение показателей между группами больных РШМ получающих различные виды терапии на момент середины и окончания лечения осуществлялось критерием Краскела -Уоллиса. Из данных таблицы 31 следует, что на середине лечения в эритроцитах крови больных, получавших фторафур на фоне лучевой терапии, содержание вк ДНК и вк РНК статистически значимо превышали таковые группы сравнения (лечение лучевой терапией).

Таблица 31 – Содержание внеклеточных нуклеиновых кислот и КРФ в плазме и эритроцитах крови больных РШМ на середине комбинированной терапии

Группа	Статистическая величина	вк НК в эритроцитах			вк НК в плазме		
		КРФ	РНК	ДНК	КРФ	РНК	ДНК
1	2	3	4	5	6	7	8
Лучевая терапия, середина, n=5	медиана	0,005	0,012	0,024	0,024	0,004	0,004
	нижний квартиль	0,003	0,006	0,022	0,006	0,002	0,002
	верхний квартиль	0,006	0,014	0,025	0,031	0,005	0,005
Лучевая терапия+ фторафур, середина, n=7	медиана	0,006	0,041 &	0,033 &	0,015	0,004	0,005
	нижний квартиль	0,003	0,024	0,031	0,009	0,002	0,004
	верхний квартиль	0,008	0,061	0,036	0,021	0,006	0,018

Продолжение таблицы 31

1	2	3	4	5	6	7	8
Лучевая терапия+ цисплатин, середина, n=24	медиана	0,006	0,018	0,022\$	0,010	0,003	0,004
	нижний квартиль	0,003	0,008	0,019	0,006	0,002	0,003
	верхний квартиль	0,011	0,031	0,028	0,023	0,005	0,006
& - достоверность отличий между группами больных в период проведения терапии, принимавших лучевую терапию и лучевую терапию с фторафуром, $p < 0,01$ ; \$ - достоверность отличий между группами больных в период проведения терапии, принимавших лучевую терапию с фторафуром и лучевую терапию с цисплатином, $p < 0,05$							

В эритроцитах крови больных РШМ, получавших цисплатин на фоне лучевой терапии, на середине лечения только уровень вк ДНК в эритроцитах был статистически значимо ниже такового больных, получающих фторафур.

Из данных таблицы 32 следует, что после лечения в эритроцитах крови больных РШМ, получавших фторафур на фоне лучевой терапии, содержание КРФ статистически значимо превышало таковой группы сравнения (лечение лучевой терапией). В плазме крови больных РШМ, получавших фторафур на фоне лучевой терапии, содержание вк ДНК статистически значимо превышало таковой группы сравнения.

Таблица 32 – Содержание внеклеточных нуклеиновых кислот и КРФ в плазме и эритроцитах крови больных РШМ после комбинированной терапии

Группа	Статистическая величина	вк НК в эритроцитах			вк НК в плазме		
		КРФ	РНК	ДНК	КРФ	РНК	ДНК
1	2	3	4	5	6	7	8
Лучевая терапия, после, n=5	медиана	0,001	0,006	0,028	0,013	0,003	0,004
	нижний квартиль	0,001	0,004	0,021	0,010	0,003	0,003
	верхний квартиль	0,002	0,023	0,033	0,013	0,004	0,004
Лучевая терапия+ фторафур, после, n=7	медиана	0,022&	0,023	0,030	0,006	0,002	0,005&
	нижний квартиль	0,014	0,001	0,016	0,004	0,001	0,004
	верхний квартиль	0,075	0,050	0,049	0,010	0,004	0,008

Продолжение таблицы 32

1	2	3	4	5	6	7	8
Лучевая терапия+ цисплатин, после, n=24	медиана	0,005\$#	0,022	0,028	0,012	0,003	0,004
	нижний квартиль	0,004	0,013	0,012	0,008	0,002	0,003
	верхний квартиль	0,010	0,043	0,036	0,025	0,005	0,004
& - достоверность отличий между группами больных после терапии, принимавших лучевую терапию и лучевую терапию с фторафуrom, $p < 0,01$ ; \$ - достоверность отличий между группами больных после терапии, принимавших лучевую терапию и лучевую терапию с цисплатином, $p < 0,05$ ; # - достоверность отличий между группами больных после терапии, принимавших лучевое лечение с фторафуrom и лучевой терапией с цисплатином, $p < 0,01$							

После комбинированной терапии в эритроцитах крови больных РШМ, получавших лучевую терапию с цисплатином содержание КРФ статистически значимо превышало таковой у больных, получавших только лучевую терапию, но было достоверно ниже аналогичного показателя у больных, получавших лучевую терапию с фторафуrom. Следует отметить, что у больных этой группы содержание вк НК и КРФ было сопоставимо с контролем, причем как в плазме, так и в эритроцитах.

Показатели вк НК и КРФ в плазме крови и эритроцитах больных РШМ до, в середине и после окончания лучевой терапии в комбинации с цисплатином были подвергнуты дисперсионному анализу повторных измерений. Основной задачей дисперсионного анализа являлось определение направленности изменения изучаемых параметров, а также оценка эффективности влияния данного вида терапии на различных ее этапах на показатели вк НК и КРФ.

После лучевой терапии отмечено достоверное снижение вк РНК, сорбированной на эритроцитах. После лучевой терапии с фторафуrom выявлено достоверное увеличение КРФ, связанных с эритроцитами, а также рост вк ДНК в плазме крови больных. После лучевой терапии с цисплатином выявлен достоверный рост КРФ, связанных с эритроцитами.

В нашем случае мы использовали дисперсионный анализ повторных измерений (RM-ANOVA), обладающий достаточной статистической мощностью при малых выборках и соблюдении условия сферичности. Результаты анализа представлены графически, с указанием средних значений и доверительных интервалов. В случае несоблюдения условия сферичности (критерий Моучли,  $p < 0,05$ ) использовался непараметрический аналог дисперсионного анализа - критерий Фридмана. Результаты анализа представлены в виде диаграммы размаха. Проверка условия сферичности осуществлялась с помощью критерия Моучли [133].

По результатам проведенного дисперсионного анализа, представленных на рисунках 9 и 10, статистически значимых различий в содержании РНК,

эритроцитов до лечения, в середине и после лучевой терапии в комбинации с цисплатином выявлено не было ( $F_2=0,381$ ,  $p=0,687$ ). Для ДНК эритроцитов до лечения, в середине и после лучевой терапии в комбинации с цисплатином значимых различий также выявлено не было ( $F_2=0,802$ ,  $p=0,461$ ). Иными словами, данный вид терапии не оказывал статистически значимого влияния на содержание РНК и ДНК эритроцитов больных РШМ.

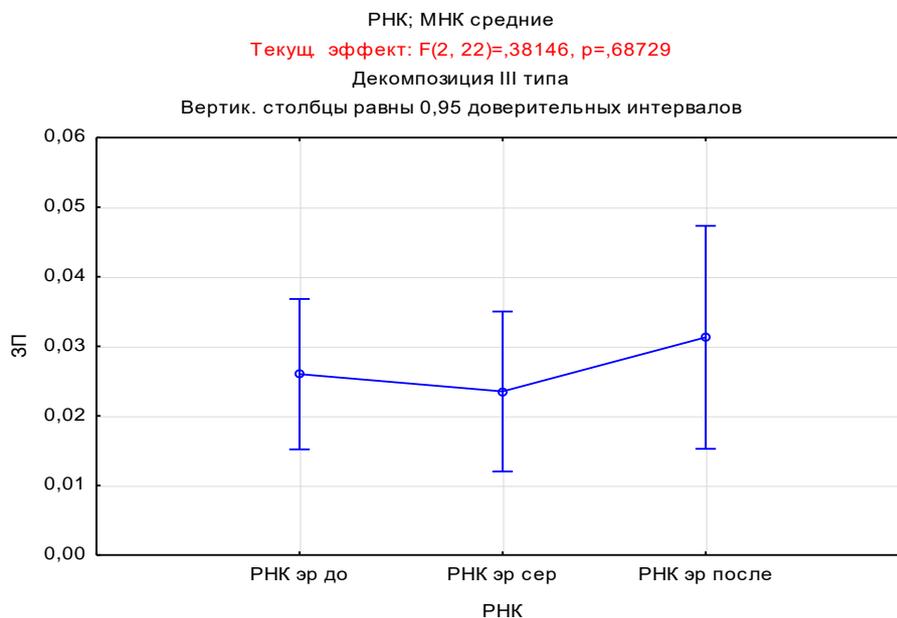


Рисунок 9 – Сравнение средних показателей РНК эритроцитов крови больных РШМ на различных этапах лучевой терапии в комбинации с цисплатином

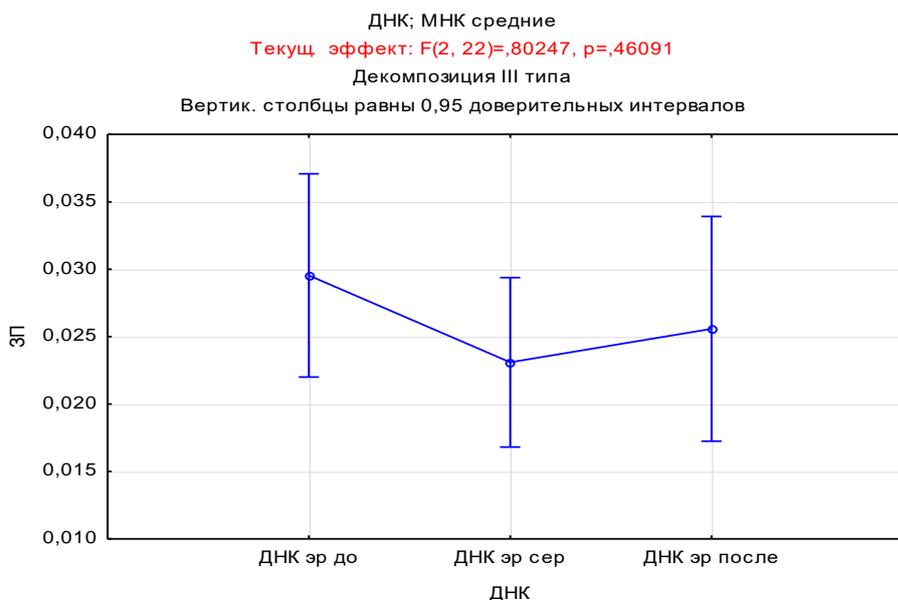


Рисунок 10 – Сравнение средних показателей ДНК эритроцитов крови больных РШМ на различных этапах лучевой терапии в комбинации с цисплатином

Результаты дисперсионного анализа (рисунок 11) показали отсутствие различий в уровне КРФ эритроцитов крови больных РШМ до, в середине и после проведения лучевой терапии в комбинации с цисплатином ( $\chi^2=0,667$ ,  $df=2$ ,  $p=0,717$ ). Иными словами, данный вид терапии не оказывал влияния на уровень КРФ эритроцитов больных РШМ.

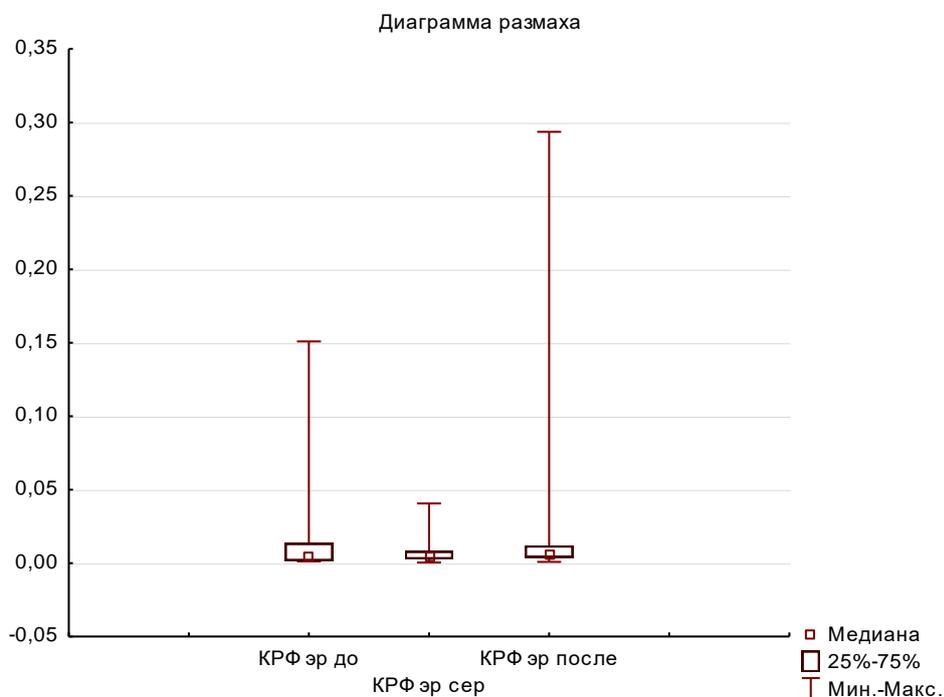


Рисунок 11 – Сравнение показателей КРФ эритроцитов крови больных РШМ на различных этапах лучевой терапии в комбинации с цисплатином

Дисперсионный анализ показателей плазмы крови установил отсутствие различий в содержании КРФ (рисунок 12) до, в середине и после лучевой терапии в комбинации с цисплатином ( $F_2=1,332$ ,  $p=0,284$ ). Значения критерия Фридмана для РНК ( $p=0,472$ ) и ДНК ( $p=0,264$ ) плазмы также свидетельствуют об отсутствии изменений в данных показателях на протяжении лучевой терапии в комбинации с цисплатином ( $\chi^2=1,500$ ,  $df=2$ ,  $p=0,472$ ;  $\chi^2=2,667$ ,  $df=2$ ,  $p=0,264$  соответственно) (рисунки 13, 14).

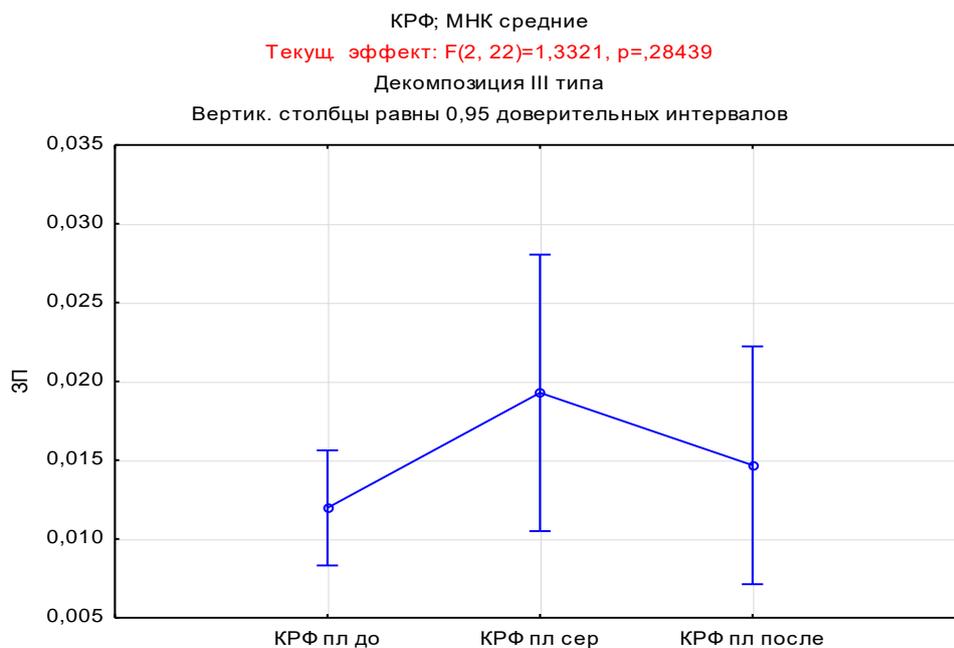


Рисунок 12 – Сравнение средних показателей КРФ плазмы крови больных РШМ на различных этапах лучевой терапии в комбинации с цисплатином

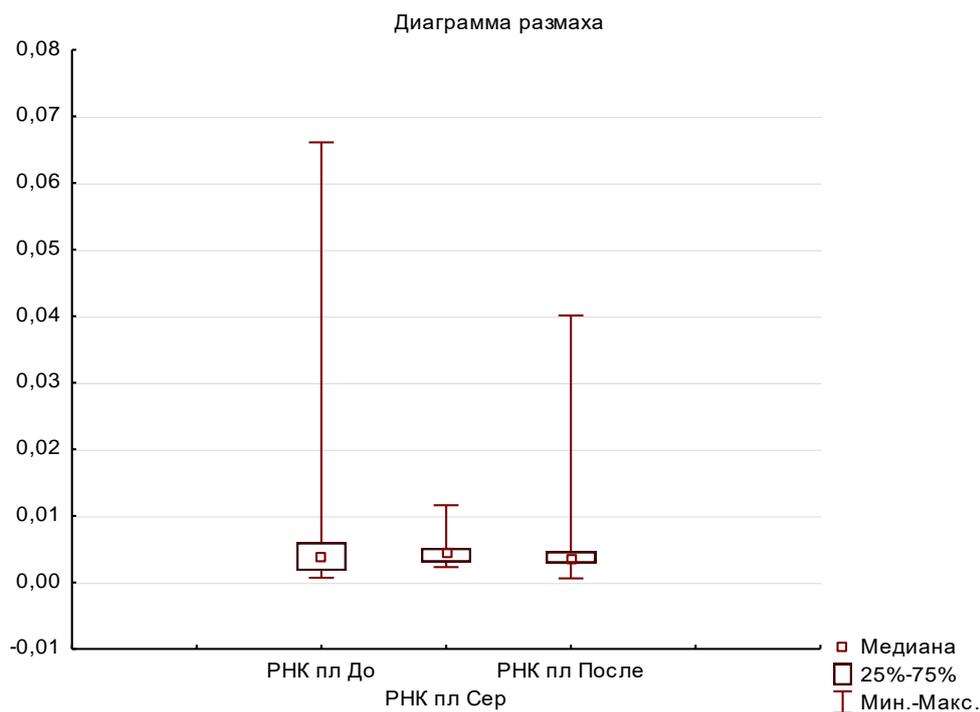


Рисунок 13 – Сравнение показателей РНК плазмы крови больных РШМ на различных этапах лучевой терапии в комбинации с цисплатином

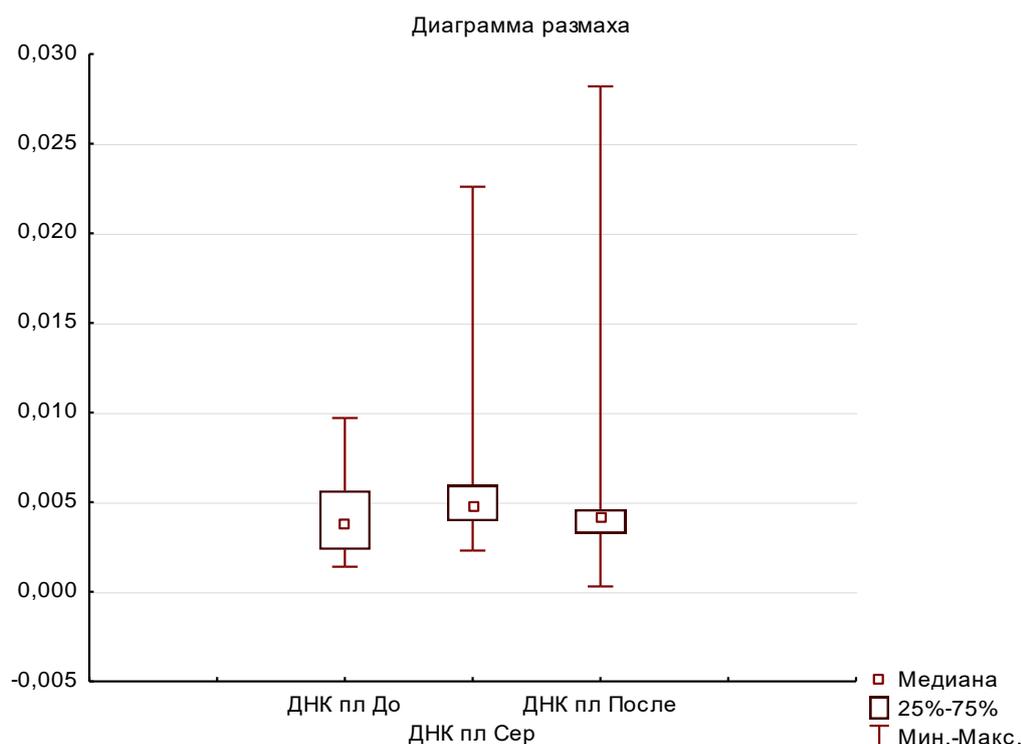


Рисунок 14 – Сравнение показателей ДНК плазмы крови больных РШМ на различных этапах лучевой терапии в комбинации с цисплатином

На основании дисперсионного анализа можно сделать вывод, что лучевая терапии в комбинации с цисплатином, на различных ее этапах, не оказывала влияния на показатели вк НК и КРФ больных РШМ. Также можно отметить, что в нашем случае не наблюдался линейный характер изменения изучаемых показателей, таким образом можно говорить о существенной внутригрупповой вариабельности значений вк НК и КРФ.

## 5.2 Катаболиты пуринов крови больных местно-распространенным раком шейки матки на фоне комбинированной терапии

Было проведено исследование содержания интермедиатов пуринового катаболизма в плазме и эритроцитах крови больных РШМ при различных видах лечения. Определение показателей пуринового обмена проводилось до начала лечения, на середине и после окончания лечения.

Из данных таблицы 33 следует, что на середине лучевой терапии уровень аденина и гуанина, а также интермедиатов катаболизма пуринов в плазме крови больных статистически значимо превышал таковые контроля, кроме этого все показатели, за исключением уровня мочевой кислоты, были значительно выше, чем таковые до начала терапии.

Таблица 33 – Содержание пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов в плазме крови больных РШМ на фоне лучевой терапии

Группа	Статистическая величина	Пурины в плазме				
		Гуанин	Гипоксантин	Аденин	Ксантин	Мочевая кислота
Контроль n=15	медиана	153	135	124	123	130
	нижний квартиль	119,5	96,5	78,5	112,5	113,5
	верхний квартиль	182,5	170,5	148,5	138	143,5
До терапии n=36	медиана	151,5	127,5	103	156	172
	нижний квартиль	128	107	87,75	144,25	159,5
	верхний квартиль	180,75	157	129,25	175,5	211
Лучевая терапия, середина n=5	медиана	244*^	215*^	182*^	193*^	193*
	нижний квартиль	197	192	178	181	169
	верхний квартиль	246	230	201	197	202
Лучевая терапия, после n=5	медиана	203,5	176,5	146,5&	198,5*	206*
	нижний квартиль	170	149,75	126	162,25	150
	верхний квартиль	236,25	195,25	158	230,75	256
* - достоверность отличий с контролем, p=0,005; ^ - достоверность отличий между группами больных до терапии и в период проведения терапии, p<0,01; & - достоверность отличий между группами больных в период проведения терапии и после терапии, p<0,01						

После завершения лучевой терапии содержание гуанина, гипоксантина и аденина в плазме крови больных РШМ имело тенденцию к снижению относительно таковых середины лечения, и было сопоставимо с контролем. При этом снижение уровня аденина после завершения лучевой терапии было статистически значимым. В тоже время уровни ксантина и мочевой кислоты в плазме крови больных РШМ значительно превышали значения контроля.

Из данных таблицы 34 следует, что в плазме крови больных РШМ, получавших фторафур на фоне лучевой терапии (середина лечения), наблюдалась тенденция к увеличению содержания аденина, гуанина и интермедиатов катаболизма пуринов, но статистически значимых отличий от таковых контроля зафиксировано не было.

Таблица 34 – Содержание пуриновых оснований и интермедиатов катаболизма пуринов в плазме крови больных РШМ на фоне лучевой терапии с фторафуром

Группа	Статистическая величина	Пурины в плазме				
		Гуанин	Гипоксантин	Аденин	Ксантин	Мочевая кислота
Контроль, n=15	медиана	153	135	124	123	130
	нижний квартиль	119,5	96,5	78,5	112,5	113,5
	верхний квартиль	182,5	170,5	148,5	138	143,5
До терапии, n=36	медиана	151,5	127,5	103	156	172
	нижний квартиль	128	107	87,75	144,25	159,5
	верхний квартиль	180,75	157	129,25	175,5	211
Лучевая терапия+ фторафур, середина, n=7	медиана	298	205	130	157	188

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На первом этапе исследования выполнен ретроспективный анализ историй болезни 177 больных раком шейки матки II и III стадий с гистологической верификацией, из них 55 пациенток получали только сочетано-лучевую терапию, 77 - комбинацию сочетано-лучевую терапию в комбинации с фторафуром и 45 пациенток получали лучевую терапию в комбинации с цисплатином.

При проведении только СЛТ полный ответ опухоли выявлен у  $(14,5 \pm 4,8)\%$ , частичный ответ – у  $(30,9 \pm 6,2)\%$  больных. При СЛТ в комбинации с фторафуром –  $(7,8 \pm 2,6)\%$  и  $(41,6 \pm 4,7)\%$ , соответственно, при комбинации СЛТ с цисплатином полный ответ опухоли выявили у  $(20 \pm 5,9)\%$  и частичный у  $(53,3 \pm 7,4)\%$  больных. Частота полных и частичных ответов в исследуемой группе 1 составила 45% больных, в исследуемой группе 2 – 49,4%, в группе 3 – 73,3%. Отсутствие клинического эффекта наблюдали в исследуемой группе 1 у  $(20 \pm 5,4)\%$ , в исследуемой группе 2 – у  $(14,3 \pm 3,4)$ , исследуемой группе 3 – у  $(8,9 \pm 4,2)\%$  больных РШМ. Таким образом, комбинация сочетанной лучевой терапии с цисплатином позволила повысить частоту полных и клинических ответов опухоли шейки матки на 28,3% по сравнению с проведением только лучевой терапии.

Наиболее выраженная гематологическая токсичность наблюдалась у больных РШМ, получавших СЛТ с цисплатином, самые низкие показатели гематологической токсичности были у пациенток, получавших только лучевую терапию.

Наиболее высокий показатель анемии наблюдали в группе больных РШМ, получавших СЛТ с цисплатином  $(35,55 \pm 7,14\%)$ , который статистически значим по отношению таковому пациентам, принимавших СЛТ с фторафуром  $(12,99 \pm 3,83\%)$ .

Наиболее высокие показатели лейкопении также наблюдали в группе пациенток, получавших СЛТ с цисплатином  $(40,0 \pm 7,3\%)$ , затем в группе больных, принимавших СЛТ с фторафуром  $(33,77 \pm 5,39\%)$ , самые низкие показатели лейкопении были у пациенток, принимавших только лучевую терапию  $(23,64 \pm 5,73\%)$ . Но эти показатели статистически не значимы.

Самые высокие показатели гранулоцитопении были в группе пациенток, получавших СЛТ с цисплатином  $(17,78 \pm 5,70\%)$ , далее у больных, получавших СЛТ с фторафуром  $(6,49 \pm 2,81\%)$  и самые низкие показатели гранулоцитопении наблюдали у больных, получавших только лучевую терапию  $(3,64 \pm 2,53\%)$ . Показатели статистически значимы у больных, получавших СЛТ с цисплатином, по отношению к пациенткам, получавших только лучевую терапию.

Через месяц после окончания сочетанной терапии у больных РШМ наблюдается выравнивание показателей крови.

Преимущества комбинированной химиолучевой терапии РШМ очевидны. При проведении СЛТ в комбинации с цисплатином частота объективного

эффекта составила 73,3%. При проведении СЛТ с фторафуром частота объективного эффекта составила 49,4%, при проведении только СЛТ - 45%.

Но наряду с высокой эффективностью комбинация СЛТ с цисплатином продемонстрировала выраженную токсичность: анемия у (35,55±7,14)% больных, лейкопения у (40,0±7,3)%, гранулоцитопения в (17,78±5,70)% пациенток. Мукозиты отмечены у (13,3±5,1)% больных, гепатотоксичность наблюдалась в (22,2±6,2)% случаев, которая уменьшается в 1,5 раза у больных, получавших СЛТ с фторафуром (15,6±4,1%) и в три раза у пациенток с СЛТ (7,3±3,5%). Высокая токсичность СЛТ с цисплатином тем не менее не требовала прерывания лучевого лечения и редукции доз химиопрепаратов.

Годичная и 3-летняя выживаемость у больных, получавших только СЛТ, составила 84% и 47%, соответственно. У больных, получавших СЛТ в комбинации с фторафуром, годичная и 3-летняя выживаемость составила 92% и 64%. У больных, получавших СЛТ в комбинации с цисплатином, годичная и 3-летняя выживаемость составила, соответственно, 100% и 65%. При сравнительном анализе не выявлено статистически значимых различий 3-летней выживаемости у больных, получавших СЛТ с фторафуром и СЛТ с цисплатином (Gehan's Wilcoxon ( $p=0,93214$ ), Cox's Mentel-Test ( $p=0,87834$ ), Лог-Рангов ( $p=0,88052$ )). В этих группах 3-летняя выживаемость одинаковая.

Но комбинация СЛТ с фторафуром статистически значимо повышают 3-летнюю выживаемость у больных МР РШМ по сравнению с пациентками, получавшими только СЛТ (Gehan's Wilcoxon ( $p=0,02050$ ), F-Cox ( $p=0,02274$ ), Cox's Mentel-Test ( $p=0,01636$ ), Лог-Рангов ( $p=0,01935$ )).

Комбинация СЛТ с цисплатином также статистически значимо повышают 3-летнюю выживаемость у больных МР РШМ по сравнению с пациентками, получавшими только СЛТ (Gehan's Wilcoxon ( $p=0,04137$ ), F-Cox ( $p=0,02131$ ), Cox's Mentel-Test ( $p=0,01231$ )). Таким образом, комбинация СЛТ с фторафуром или цисплатином статистически значимо повышают 3-летнюю выживаемость у больных МР РШМ по сравнению с пациентками, получавшими только СЛТ.

На втором проспективном этапе на фоне проводимой терапии у больных МР РШМ определяли внеклеточные нуклеиновые кислоты и интермедиаты катаболизма пуринов в крови.

Анализ полученных данных показал, что местно-распространенный РШМ IIb стадии не сопровождался статистически значимыми изменениями со стороны вк НК и КРФ, тогда как на III стадии выявлено статистически значимое снижение вк ДНК, сорбированной на эритроцитах, что можно объяснить активацией эритроцитарной фракции высокомолекулярных последовательностей L1, участвующих в деградации внеклеточных нуклеиновых кислот опухолевого происхождения [47, с. 204]. Степень изменения концентрации вк НК в крови больных зависела от вида рака и его локализации. Так, например, высокий уровень вк ДНК плазмы и сыворотки крови был у пациентов раком кишечника и поджелудочной железы, низкий - у пациентов с опухолями молочной железы и легких [135]. В зависимости от вида

рака степень резкого увеличения вк НК может быть как на ранних, так и на поздних стадиях [136].

Следовательно, при РШМ рост вк НК зависел от стадии болезни, причем особенностью является увеличение фракции, связанных с клетками вк НК.

В крови больных РШМ меняется концентрация интермедиатов пуринового катаболизма. Выявлены превалирующие типы интермедиатов катаболизма пуринов в плазме и эритроцитах в зависимости от стадии болезни. Так, в плазме крови больных РШМ St Ib и St III аккумуляровался ксантин и мочевиная кислота. В тоже время в эритроцитах крови больных РШМ St III достоверно возросло содержание гуанина, гипоксантина и аденина. Выявлены также особенности изменения индексов пуринового обмена и активности ксантинооксидазы. Выраженное изменение этих параметров наблюдалось в плазме крови больных РШМ St III. В эритроцитах крови больных РШМ вне зависимости от стадии болезни зафиксировано только изменение активности ксантинооксидазы.

Обобщая полученные данные, можно сделать следующее заключение. На ранней стадии развития РШМ в плазме крови больных отмечен высокий уровень ксантина и мочевиной кислоты. Эти изменения сопровождались достоверным ростом общей активности ксантинооксидазы (о чем свидетельствовало увеличение индекса МК/ГК). В эритроцитах крови больных на ранней стадии развития РШМ значимых изменений со стороны интермедиатов катаболизма пуринов отмечено не было. Но в тоже время наблюдался дисбаланс ксантинооксидазы: снижение общей активности фермента при увеличении активности КО на втором этапе (превращение ксантина в мочевиною кислоту).

Переход РШМ в III стадию сопровождается ростом содержания ксантина и мочевиной кислоты в плазме крови больных. В плазме крови больных РШМ III стадии наблюдалось достоверное снижение интенсивности пуринового обмена при достоверном росте индекса ПТГ, что свидетельствовало о развитии гипоксического состояния. Эти изменения сопровождались увеличением активности КО как на первом, так и на втором этапах. Более выраженные изменения наблюдались в эритроцитах крови больных РШМ III стадии, что документировалось статистически значимым увеличением содержания гуанина, гипоксантина и аденина. В эритроцитах крови больных сохранялся выявленный ранее дисбаланс активности КО: снижение общей активности фермента при увеличении активности КО на втором этапе (превращение ксантина в мочевиною кислоту). Также выявлено статистически значимое отличие индекса К/ГК в плазме крови больных РШМ III стадии относительно такового на стадии Ib.

По нашему мнению, можно привести следующее объяснение наблюдаемых биохимических изменений в плазме крови и эритроцитах больных РШМ. Концентрация АТФ в опухолевых клетках в среднем в 1000 раз выше, чем в нормальных. Кроме того, описан феномен резкого увеличения концентрации внеклеточной АТФ в микроокружении опухоли, причем АТФ

высвобождают опухолевые клетки, а также Т-лимфоциты. Высказываются разные точки зрения относительно обратного захвата внеклеточной АТФ клетками. В настоящее время доминирует идея, что внеклеточная АТФ не захватывается опухолевыми клетками. Внеклеточная АТФ выполняет множество функций, содействуя клеточной пролиферации и выживанию, а также индукции устойчивости клеток к противоопухолевым препаратам. Следует отметить, что высказана и другая точка зрения об интернализации внеклеточной АТФ клетками опухоли и включение АТФ во внутриклеточный метаболизм [137, 138].

В любом случае, повышение внеклеточной АТФ приводит к активации ферментной системы, отвечающей за катаболизм пуринов. Об этом свидетельствует возросшая активность КО в плазме крови больных РШМ. Эти данные находятся в одном тренде с результатами других исследований, показавших увеличение активности этого фермента при других видах онкопатологии [139]. Известно, что в процессе катаболизма пуринов избыточная активность КО ведет к усилению генерации активных форм кислорода [140], что можно рассматривать как одну из молекулярных предпосылок развития окислительного стресса при онкопатологии. Другим фактом, подтверждающим усиление катаболизма пуринов, является аккумуляция в плазме крови конечного метаболита - мочевой кислоты и её предшественника ксантина. Гиперурикемия отмечалась в ряде исследований других видов рака [141-144].

Увеличение концентрации ксантина и мочевой кислоты также может быть обусловлено и выходом этих интермедиатов из клеток, в частности, эритроцитов, о чем косвенно свидетельствует рост активности КО на второй фазе (превращение ксантина в мочевую кислоту). Ксантин и мочевая кислота оказывают негативное воздействие на эндотелий сосудов и вызывая вазоконстрикцию [145, 146]. Кроме того, высказано мнение, что гиперурикемия вносит определенный вклад в онкогенез, содействуя трансформации нормальных клеток в опухолевые, а также пролиферации, миграции и выживанию опухолевых клеток [147].

Переход РШМ в 3 стадию сопровождается развитием гипоксического состояния, что документировалось ростом индекса ПТГ, а также высоким уровнем ксантина и мочевой кислоты в плазме крови больных. Более выраженные изменения спектра катаболитов пуринов в отмечены в эритроцитах крови больных РШМ. Известно, что у эритроцитов достаточно высокая потребность в пуринах, и для этих клеток характерна реутилизация пуриновых интермедиатов по путям спасения [148]. Сама гипоксия провоцирует активацию ферментов путей спасения пуринов [140, р. 4]. Высокий уровень гуанина, гипоксантина и аденина в эритроцитах крови больных РШМ позволяет высказать предположение о нарушении активности ферментов путей спасения, что свидетельствует о глубоких метаболических нарушениях в красных клетках.

Следовательно, полученные нами данные выявили зависимость между степенью аккумуляции интермедиатов пуринового катаболизма в плазме крови и эритроцитах больных РШМ и снижение связанной с клетками вкДНК в зависимости от стадии заболевания.

Обращает на себя внимание обнаруженные отличия нейтрофилов периферической крови больных РШМ по их способности образовывать ВНЛ. В нормальных условиях в цельной крови нейтрофилы не образуют ВНЛ, даже несмотря на периодическое повышение концентрации активаторов их образования, так как это может привести к нарушению гемостаза и к окклюзии мелких сосудов. Предположительно, ингибиторы образования ВНЛ имеют гуморальную природу [149]. В пользу этого свидетельствуют данные Chunfa Yang et al., которые продемонстрировали, что плазма крови больных раком желудка индуцировала образование ловушек нейтрофилами, выделенных от здоровых доноров [106].

По данным Смоляковой Р.М. [150], у онкологических больных развивается синдром опухолевой интоксикации различной степени тяжести, которую обуславливает гетерогенный спектр гидрофильных и гидрофобных эндотоксинов различного генеза.

Мы полагаем, что в крови у части больных РШМ появляются факторы, праймирующие (преактивирующие) нейтрофилы к образованию ВНЛ. Мы предполагаем, что таким фактором могут быть эндотоксины, а также медиаторы воспаления. Другим, вероятным фактором является эффект преактивации нейтрофилов собственными опухолевыми клетками, описанный А.Б. Семеновой [151]. В порядке гипотезы можно предположить, что таким факторами, праймирующими нейтрофилы, могут быть ксантин и мочева кислота, уровень которых был высок в плазме крови больных РШМ.

Следовательно, полученные нами данные позволили описать новые молекулярно-клеточные паттерны, связанные с изменением катаболизма пуринов и внеклеточными нейтрофильными ловушками при РШМ.

После лучевой терапии в плазме крови больных РШМ зафиксировано сохранение высокого уровня ксантина и мочево кислоты, в эритроцитах – увеличение ксантина. Эти данные хорошо согласуются с результатами других авторов, показавших, что радиотерапия не способствовала повышению уровня мочево кислоты в плазме, чем до лечения при раке молочной железы [152]. Мало того, уровень катаболитов пуринов в плазме крови может модулировать эффект радиотерапии [153]. Мочева кислота, обладая антиоксидантными свойствами, оказывает защитный эффект, предотвращая окислительное повреждение мембран эритроцитов, Т- и В-лимфоцитов свободными радикалами, образующимися при локальном облучении. Исследованиями Hui Lin et al. показано, что высокий уровень мочево кислоты в плазме крови больных после радиотерапии коррелирует с высокой выживаемостью больных с назофарингеальной карциномой (nasopharyngeal carcinoma), но механизм этой взаимосвязи не известен [153].

В то же время повышенный уровень мочевой кислоты может невилировать цитолитический эффект лучевой терапии на клетки опухоли, тем самым снижать ее влияние на выживаемость больных.

В любом случае, нарушения со стороны пуринового обмена в плазме крови и эритроцитах больных РШМ после радиотерапии были минимальными среди всех опытных групп больных.

Выявлены различия по виду аккумулирующихся интермедиатов катаболизма пуринов в плазме крови больных, получающих фторафур или цисплатин на фоне лучевой терапии. Так, в плазме крови больных РШМ, получавших фторафур, выявлено преимущественное накопление ксантина и мочевой кислоты, тогда как у больных РШМ, получавших цисплатин на фоне лучевой терапии, достоверно возрастает содержание гипоксантина и аденина по сравнению с таковыми у больных, получавших фторафур. В эритроцитах крови больных РШМ, получавших фторафур на фоне лучевой терапии выявлен достоверный рост гуанина, гипоксантина, аденина и ксантина, тогда как у больных РШМ, получавших цисплатин на фоне лучевой терапии, в эритроцитах крови достоверно возросло содержание гуанина, аденина и гипоксантина.

После проведения лучевой терапии с фторафуром зафиксировано достоверное снижение индексов ИПО, К/ГК и МК/ГК, тогда как после лучевой терапии с цисплатином зафиксирован достоверный рост индекса ИПО при снижении индекса МК/ГК по сравнению с таковыми у больных после лучевого лечения с фторафуром. В эритроцитах крови больных РШМ после лучевой терапии с фторафуром и цисплатином зафиксировано достоверное изменение индексов МК/ГК и МК/К.

Следовательно, основные различия в спектре аккумулирующихся продуктов катаболизма пуринов касались эритроцитов крови больных РШМ на фоне различных режимов лечения. Включение фторафура и цисплатина в терапию результируется увеличением содержания как свободных пуриновых оснований, так и оксипуринов.

По сравнению с монорежимом лучевой терапии сочетание лучевой терапии с химиопрепаратами вызывает накопление предшественников мочевой кислоты в большей степени, чем ее самой, с одной стороны, этим можно объяснить более выраженную гематотоксичность режимов сочетанной терапии, а с другой, повышение сроков выживаемости больных. Складывается впечатление, что режим «лучевая терапия+химиотерапия» является наиболее оптимальным для лечения больных РШМ, так как наблюдается повышение и предшественников мочевой кислоты (аденин, гуанин) и не так выражено угнетается активность ксантиоксидазы (уровень мочевой кислоты также повышается). По нашим данным в группе получавших этот режим женщин наблюдалась максимальная эффективность и выживаемость.

По нашему мнению, это связано с различным количеством вовлеченных в процесс гибели клеток. При локальном облучении основными типами клеточной гибели являются апоптоз и некроз. Вполне вероятно, что гибель

клеток по механизму некроза, а также изменение проницаемости клеток приводит к выходу пуринов в кровь. При этом совокупная активность ферментов катаболизма пуринов, систем захвата и обратного транспорта пуринов достаточно для утилизации и реутилизации интермедиатов катаболизма пуринов.

Химиопрепараты, фторафур и цисплатин, обладают системным действием и индуцируют массовую гибель пролиферирующих клеток в организме больных. Это приводит к выходу пуринов в кровь. Учитывая массивную клеточную гибель, снижается эффективность систем ферментов катаболизма пуринов, систем захвата и реутилизации. Это приводит к аккумуляции интермедиатов пуринового катаболизма в крови, нарушению внутриклеточного метаболизма эритроцитов, что является одним из звеньев глубоких метаболических нарушений при химиотерапии.

После лучевой терапии отмечено достоверное снижение вкРНК, сорбированной на эритроцитах. Эффект снижения внеклеточных НК в крови больных после лучевой терапии отмечен и при других видах онкопатологии [154]. После лучевой терапии с фторафуром выявлено достоверное увеличение КРФ, связанных с эритроцитами, а также рост вкДНК в плазме крови больных. После лучевой терапии с цисплатином выявлен достоверный рост КРФ, связанных с эритроцитами крови.

Увеличение КРФ можно объяснить активацией нуклеаз, а также сорбцией фрагментов внеклеточных НК на эритроцитах, которая может осуществляться как за счет ионных связей, так и посредством ДНК-связывающего рецептора [155]. Сорбция на эритроцитах является одним из способов избежать элиминацию фрагментов вкНК из кровотока. Увеличение вкДНК можно в плазме крови больных можно объяснить за счет массивной гибели пролиферирующих клеток организма больных при сочетанном действии химиотерапии и облучения. В этой связи большой интерес вызывает различный характер ответа вкНК и КРФ на фторафур и цисплатин. По нашему мнению, это связано с различным механизмом действия этих препаратов. Если цисплатин ингибирует репликацию и транскрипцию, что приводит к задержке клеточного цикла и индукции апоптоза, то фторафур ингибирует синтез ДНК и в большей степени РНК.

Учитывая, что вк НК могут существовать в крови в разных формах [154; 155, с. 22], то отсутствие выраженных изменений со стороны свободных вкНК не означает, что в крови больных не возрастает уровень других форм внеклеточных НК, но это требует дальнейшего изучения.

Формирование ВНЛ проходит по литическому механизму с деконденсацией хроматина и выбросом сетеподобной ДНК после разрыва плазматической мембраны, т.е. по классической схеме [156].

После лучевой терапии выявлен отчетливый тренд к увеличению числа больных, нейтрофилы крови которых способны образовывать ВНЛ. Обращает на себя внимание, что не все нейтрофилы, выделенные от больных РШМ, демонстрировали способность образовывать ВНЛ. По нашему мнению, в

данном случае основной причиной преактивации нейтрофилов является избыточная генерация активных форм кислорода как результат ионизирующего облучения. Это предположение основывается на данных литературы, показавших, что пероксид водорода может быть индуктором ВНЛ [157]. Мы полагаем, что образование ВНЛ может носить протективный характер, направленный на захват и удержание опухолевых клеток, что может ограничить процесс метастазирования. С другой стороны, увеличение числа нейтрофилов, демонстрирующих повышенную способность к формированию ВНЛ, может привести к активации факторов свертывания крови, что является негативным фактором [158].

Проведение лучевой терапии с фторафуром и цисплатином не привело к существенному росту числа ВНЛ в ответ на стимул. При этом в случае с цисплатином процент нейтрофилов, способных образовывать ВНЛ, был ниже такового до лечения. Следует также отметить, что как и в предыдущих группах, не все нейтрофилы, полученные от больных РШМ после проведенного лечения, демонстрировали способность образовывать ВНЛ.

По нашему мнению, это обусловлено рядом причин. Прежде всего, в крови нейтрофилы могут присутствовать в нескольких субпопуляциях [159]. При ряде патологических состояний, в том числе при онкопатологии, наряду с нейтрофилами высокой плотности описано появление нейтрофилов низкой плотности (*low-density neutrophils*) [160]. В настоящее время их свойства интенсивно изучают. Установлено, что при раке нейтрофилы низкой плотности демонстрируют сниженную способность к окислительному взрыву [161]; но они более подвержены образованию ВНЛ [162].

По мнению других исследователей, в циркуляции присутствуют субпопуляции незрелых, зрелых и старых нейтрофилов. Чем старше нейтрофил, тем легче он образует ВНЛ [163]. Исследованиями Trellakis S. et al. установлено, что нейтрофилы периферической крови больных с некоторыми видами онкопатологии имели пролонгированный период жизни [164], что позволило сделать предположение, что, вероятно, опухолевые клетки продуцируют факторы, модулирующие срок жизни нейтрофилов [165].

В работе Т.В. Абакумовой и И.И. Антонеевой приведены результаты исследования нейтрофилов в крови больных РШМ в зависимости от стадии болезни. Показано, что относительное количество нейтрофилов было статистически значимо выше по сравнению с контролем у больных на стадиях Ia, Ib–IIa и IIb–IV. В качестве причин нейтрофилиза авторы называют увеличение уровня гематопоэтических факторов роста G-CSF или GM-CSF, которые продуцируются опухолевыми клетками, увеличение времени пребывания нейтрофилов в крови и сокращение пребывания в костном мозге. [166].

Эти результаты, а также полученные нами данные позволяют в качестве рабочей гипотезы и предположить появление в крови больных РШМ незрелых нейтрофилов, которые в ответ на стимул образуют ограниченное количество

НВЛ, а также персистенция в крови старых клеток, которые легко образуют НВЛ.

Вместе с тем, наряду с НВЛ у больных РШМ после проведения лучевой терапией с химиопрепаратами обнаружены внеклеточные базофильные ловушки. Базофилы также способны образовывать внеклеточные ловушки, но гораздо реже, чем нейтрофилы [168]. По нашему мнению, образование внеклеточных базофильных ловушек можно расценить как своего рода компенсаторное звено при снижении общего числа нейтрофилов у больных после лечения химиопрепаратами на фоне лучевой терапии.

По последним данным, эффективность нехирургических методов лечения опухолей зависит от активности эозинофилов в микроокружении опухоли [169]. Учитывая общность происхождения нейтрофилов, базофилов и эозинофилов, можно предположить, что одним из механизмов защитного действия этих клеток является образование внеклеточных ловушек в микроокружении опухоли. Однако в рамках данного исследования мы не можем подтвердить корректность данного предположения, поскольку оно требует отдельного углубленного изучения.

Следовательно, полученные нами данные выявили особенности молекулярно-клеточных паттернов в крови больных РШМ до и после различных режимов лечения.

На основании проведенного исследования можно сделать следующие *выводы*:

1. Комбинация сочетанной лучевой терапии с цисплатином повышает частоту полных и частичных клинических регрессий опухоли шейки матки на 28,3% и 3 летнюю выживаемость на 18% по сравнению с проведением только лучевого лечения.

2. Наиболее выраженная гематологическая и негематологическая токсичность наблюдается у больных РШМ, получавших СЛТ с цисплатином: лейкопения у  $(40,0 \pm 7,3)\%$ , гранулоцитопения у  $(17,78 \pm 5,7)\%$ , анемия у  $(35,55 \pm 7,14)\%$ , гепатотоксичность у  $(22,2 \pm 6,2)\%$ , мукозиты у  $(13,3 \pm 5,1)\%$  пациентов.

3. При РШМ изменение вкДНК зависело от стадии болезни: статистически значимое снижение вк ДНК, связанной с эритроцитами, зафиксировано у больных III стадии (до 0,024 против 0,033 контроля,  $p=0,005$ ). Вне зависимости от стадии рака в плазме крови больных РШМ возрастает содержание ксантина (156,0) и мочевой кислоты (172,0) (контроль - 123 и 130, соответственно) ( $p=0,005$ ). В эритроцитах крови больных РШМ III стадии увеличивается содержание гуанина (572), гипоксантина (655,5) и аденина (726) (контроль - 420, 450 и 451, соответственно,  $p=0,005$ ); также выявлено изменение активности ксантиноксидазы.

4. После лучевой терапии выявлено статистически значимое снижение вк РНК, сорбированной на эритроцитах ( $p=0,005$ ). После лучевой терапии с фторафуром наблюдался достоверный рост КРФ, связанных с эритроцитами. После лучевой терапии в плазме крови больных РШМ зафиксировано

сохранение высокого уровня ксантина и мочевой кислоты, в эритроцитах – увеличение ксантина ( $p=0,005$ ). У больных РШМ, получавших фторафур, на фоне сохранения высокого уровня ксантина и мочевой кислоты в плазме крови, выявлен статистически значимый рост гуанина, гипоксантина, аденина и ксантина в эритроцитах ( $p=0,005$ ), по сравнению с больными, пролечившимися лучевую терапию с фторафуром.

В плазме крови больных РШМ, получавших цисплатин на фоне лучевой терапии, статистически значимо возрастает содержание гипоксантина и аденина по сравнению с таковыми у больных, получавших фторафур. Выявлено наличие статистически значимых линейных трендов в эритроцитах крови для гуанина ( $F=5,502$ ;  $p=0,039$ ) и гипоксантина ( $F=5,173$ ;  $p=0,044$ ), в плазме крови для гипоксантина, аденина и гуанина ( $F_p=6,35$  и  $p=0,028$ ;  $F=6,34$  и  $p=0,029$ ;  $F=5,91$  и  $p=0,033$ , соответственно).

После проведения лучевой терапии с фторафуром зафиксировано статистически значимое снижение индексов ИПО, К/ГК и МК/ГК, тогда как после лучевой терапии с цисплатином зафиксирован достоверный рост индекса ИПО при снижении индекса МК/ГК по сравнению с таковыми у больных после лучевого лечения с фторафуром. В эритроцитах крови больных РШМ после лучевой терапии с фторафуром и цисплатином зафиксировано статистически значимое изменение индексов МК/ГК и МК/К.

5. Корреляционный анализ выявил статистически значимую взаимосвязь между уровнем КРФ и вкРНК в плазме крови больных РШМ (+0.776). Уровень вк РНК, сорбированной на эритроцитах, достоверно коррелировал с содержанием гуанина (+0.64), гипоксантина (+0.66), аденина (+0.67), мочевой кислоты (0.66) в эритроцитах и ксантина в плазме крови (0.699). Обнаружены достоверные коррелятивные взаимосвязи между гуанином и гипоксантином (0,93), гуанином и аденином (0,98), гуанином и ксантином (0,87) в эритроцитах крови больных; между гуанином в эритроцитах и мочевой кислотой в плазме крови больных РШМ (0,58). Выявлены статистически значимые коррелятивные связи между ксантином и мочевой кислотой (0.629), между ксантином и гипоксантином (0.88) в эритроцитах; между аденином и гипоксантином (0,99), аденином и ксантином (0,86), между ксантином в эритроцитах и мочевой кислотой в плазме крови больных (0,58).

После лучевой терапии с цисплатином выявлены сильные достоверные корреляционные взаимосвязи между содержанием гуанина и аденина (0,97), гуанина и ксантина (0,87), гуанина и мочевой кислотой (0,71) в эритроцитах крови больных РШМ. В эритроцитах крови больных этой группы гипоксантин коррелировал с аденином (0,93), ксантином (0.86) и мочевой кислотой (0,73); в эритроцитах также зафиксированы достоверные коррелятивные взаимосвязи между аденином и ксантином (0,85), аденином и мочевой кислотой (0,72), ксантином и мочевой кислотой (0,87). В плазме крови больных этой группы наблюдалась сильная корреляционная взаимосвязь между гуанином и гипоксантином (0,99); аденином и ксантином (0,797), аденином и мочевой кислотой (0,82), ксантином и мочевой кислотой (0,81), а также статистически

значимая взаимосвязь ксантина в эритроцитах с аденином плазмы крови (0,66), между мочевой кислотой в эритроцитах и аденином плазмы крови.

6. Нейтрофилы периферической крови у 53,57 % (33,87; 72,49) больных РШМ до лечения показали способность к генерации ВНЛ, такая способность отсутствует у здоровых людей. Не выявлено зависимости образования ВНЛ от степени распространенности рака шейки матки (IIб или III). Добавление химиопрепаратов к СЛТ не приводило к увеличению процента образования ВНЛ в крови больных РШМ, но стимулировало появление внеклеточных базофильных ловушек.

7. Разработана рабочая гипотеза причины изменения содержания внеклеточных нуклеиновых кислот, интермедиатов катаболизма пуринов и образования внеклеточных нейтрофильных ловушек в крови больных, а также пути их участия в патогенезе РШМ.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- 1 Дарьялова С.А., Бойко С.Л., Черниченко А.В. Современные возможности лучевой терапии злокачественных опухолей // Рос. онколог. журн. – 2000. – №1. – С. 48-55.
- 2 Ермакова И.А. Роль химиотерапии на различных этапах лечения рака шейки матки // Практик. онкология. – 2002. – Т. 3, №3. – С. 211-219.
- 3 Тюляндин С.А., Марьина Л.А. Химиолучевая терапия местно-распространенного рака шейки матки. [www.rosoncweb.ru](http://www.rosoncweb.ru). 20.07.2019
- 4 Sundfor K., Trope C.G., Hogberg T. et al. Radiotherapy and neoadjuvant chemotherapy for cervical carcinoma: A randomized multicenter study of sequential cisplatin and 5-fluorouracil and radiotherapy in advanced cervical carcinoma stage 3B and 4A // Cancer. – 1996. – Vol. 77. – P. 2371–2378.
- 5 Chiara S., Bruzzone M., Merlini L. et al: Randomized study comparing chemotherapy plus radiotherapy versus radiotherapy alone in FIGO stage IIB-III cervical carcinoma: GONO (North-West Oncologic Cooperative Group). // Am. J. Clin. Oncol. – 1994. – Vol. 17. – P. 294–297.
- 6 Bo Pang, Jose L. McFaline, Nicholas E. Burgis, Min Dong, Koli Taghizadeh, Matthew R. Sullivan, C. Eric Elmquist, Richard P. Cunningham, and Peter C. Dedon. Defects in purine nucleotide metabolism lead to substantial incorporation of xanthine and hypoxanthine into DNA and RNA // PNAS. – 2012. – Vol. 109 (7). – P. 2319–2324.
- 7 Weijie Wang, Donghua Xu, Bin Wang, Shushan Yan et al. Increased Risk of Cancer in relation to Gout: A Review of Three Prospective Cohort Studies with 50,358 Subjects // Mediators of Inflammation. – 2015. – Vol. 6. – Article ID 680853.
- 8 Kuo C.F., Luo S.F., See L.C., Chou I.J., Fang Y.F., Yu K.H. Increased risk of cancer among gout patients: a nationwide population study // Joint Bone Spine. – 2012. – Vol. 79, №4. – P. 375–378.
- 9 Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Димитриади С.Н., Трепитаки Л.К., Ткаля Л.Д., Алавердян И.А. Динамика показателей пуринового обмена в плазме и эритроцитах крови у больных раком почки // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №5. [www.science-education.ru](http://www.science-education.ru). 16.07.2018.
- 10 Sirota V.B., Muravlyova L.E., Bakirova R.E., Kabildina N.A., Omarova I.M., Ponomareva O.A., Klyuyev D.A., Zhakupova Sh.S., Kuanyshkaliyeva A.N. Extracellular Nucleic Acids and Purine Bases in blood of patients with locally Invasive breast carcinoma. // World Journal of Medical Sciences. – 2014. – Vol. 11(2). – P. 171-174.
- 11 Görlach A. Control of adenosine transport by hypoxia // Circulation Research. – 2005. – № 97. – P. 1–3.

12 Hansen P.B., Schnermann J. Vasoconstrictor and vasodilator effects of adenosine in the kidney // *Am. J. Physiol Renal Physiol.* – 2003. – № 285. – P. 590–599.

13 World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. Globocan 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012.

14 Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R. et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 // *Int. J. Cancer.* – 2015. – Vol. 136, №5. – S. 59–86.

15 Нургазиев Р.И., Сейтказина Г.Д., Байпеисов Д.М. и др. Показатели онкологической службы Республики Казахстан за 2014 год (статистические материалы). – Алматы, 2015. – С. 138.

16 Арзыкулов Ж.А., Сейтказина Г.Д., Игисинов С.И. и соавт. Показатели онкологической службы Республики Казахстан за 2008 год. – Алматы, 2009.

17 Нургазиев К.Ш., Жылкайдарова А.Ж., Кайрбаев М.Р., Болатбекова Р.О. Оценка показателей заболеваемости и смертности от рака шейки матки в Республике Казахстан за 2004-2014 годы // *Онкология и радиология Казахстана.* – 2016. – №1, вып. 39. – С. 3-9.

18 Кайдарова Д.Р. и соавт. Показатели онкологической службы Республики Казахстан за 2015 год (статистические материалы). Казахский научно-исследовательский институт онкологии и радиологии. – Алматы, 2016. – С. 138.

19 Thipgen T., Vance R.B., Khansur T. Carcinoma of the uterine cervix: current status and future directions. // *Semin. Oncol.* – 1994. – Vol. 21(suppl. 2) – P. 43-54.

20 Григоренко С.В., Лукьяненко Е.А., Витюк Н.В., Григоренко А.Н. Эффективность модифицирующего действия фторафура в лучевом лечении рака шейки матки II-III стадий // *Клиническая онкология.* – 2012. – №5 (1). – С. 78-82.

21 Абдылдаев Т.А., Найзабекова С.Ш. Использование Фторафура с радиомодифицирующей целью при лечении больных раком шейки матки // *J. Medicine (Almaty).* – 2015. – №10 (160). – P. 61-64.

22 Ермакова И.А. Роль химиотерапии на различных этапах лечения рака шейки матки // *Практ. онкология.* – 2002. – Т. 3, №3. – С. 211-2193.

23 Duenas-Gonzales A., Cetina L. et al. Pharmacotherapy options for locally advanced and advanced cervical cancer // *Drugs.* – 2010. – №70. – P. 403-432.

24 Kumar L., Kaushal R., Nandy M. et al. Chemotherapy followed by radiotherapy versus radiotherapy alone in locally advanced cervical cancer: A randomized study. // *Gynecol. Oncol.* – 1994. – Vol. 54. – P. 307–315.

25 Leborgne F., Leborgne J.H., Doldan R. et al. Induction chemotherapy and radiotherapy of advanced cancer of the cervix: A pilot study and phase III randomized trial. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 1997. – Vol. 37. – P. 343–350.

26 Souhami L., Gil R., Allan S. et al. A randomized trial of chemotherapy followed by pelvic radiation therapy in stage IIIB carcinoma of the cervix // *J. Clin. Oncol.* – 1991. – Vol. 9. – P. 970–977.

27 Tattersall M.H.N., Larvidhaya V., Vootiprux V. et al. Randomized trial of epirubicin and cisplatin chemotherapy followed by pelvic radiation in locally advanced cervical cancer. // *J. Clin. Oncol.* – 1995. – Vol. 13. – P. 444–451.

28 Каримова Ф.Н. Химиолучевая терапия местно-распространенного рака шейки матки // *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена.* – 2015. – №4(3). – С. 16 - 19.

29 Heinzlmann F., Henke G., Grafenstein von M., Weidner N., Paulsen F. et al. Adjuvant radiochemotherapy in patients with locally advanced high-risk cervical cancer // *Strahlenther Onkol.* – 2012. – Vol. 188. – P. 568 – 575.

30 Beneditti-Panici P., Greggi S., Colombo A. et al. Neoadjuvant chemotherapy and radical surgery versus exclusive radiotherapy in locally advanced squamous cell cervical cancer: results from the Italian multicenter randomized study // *J. Clin. Oncol.* – 2002. – Vol. 20. – P. 179-186.

31 Peters W.A., Liu P.Y., Barrett R.J. et al. Cisplatin and 5-fluorouracil plus radiation therapy are superior to radiation therapy as adjunctive in high-risk early stage carcinoma of the cervix after radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy: Report of a phase III intergroup study // *J. Clin. Oncol.* – 2000. – Vol. 18. – P. 1606–1613.

32 Morris M., Eifel P.J., Lu J. et al. Pelvic radiation with concurrent chemotherapy compared with pelvic and para-aortic radiation for high-risk cervical cancer // *N. Engl. J. Med.* – 1999. – Vol. 34. – P. 1175-1178.

33 Rose P.G., Bundy B.N., Watkins E.B. et al. Concurrent cisplatin-based radiotherapy and chemotherapy for locally advanced cervical cancer // *N. Engl. J. Med.* – 1999. – Vol. 340. – P. 1144-1153.

34 Li Z., Yang S., Liu L., Han S. A comparison of concurrent chemoradiotherapy and radiotherapy in Chinese patients with locally advanced cervical carcinoma: a multi-center study // *Radiation Oncology.* – 2014. – Vol. 9. – P. 212-217.

35 Whitney C.W., Sause W., Bundy B.N. et al. A randomized comparison of fluorouracil plus cisplatin versus hydroxyurea as an adjunct to radiation therapy in stages IIIB-IVA carcinoma of the cervix with negative para-aortic lymph nodes: A Gynecologic Oncology Group and Southwest Oncology Group Study // *J. Clin. Oncol.* – 1999. – Vol. 17. – P. 1339–1348.

36 Rose P. Combined-modality therapy of locally advanced cervical cancer // *J. Clin. Oncol.* – 2003. – Vol. 21 (suppl.) – P. 210–217.

37 Салчак Ч.Т. Сочетанная лучевая терапия распространенных форм рака шейки матки с использованием препаратов платины // *Успехи теоретической и клинической медицины.* – М.: ГОУ ДПО РМАПО Росздрава, 2008. – Вып. 7. – Т. 1. – С. 153-156.

38 Салчак Ч.Т. Химиолучевая терапия рака шейки матки с использованием препаратов платины: автореф. ... канд.мед.наук. – М., 2009. – www.medical-diss.com. 21.07.2019.

39 Добровольский Н.А., Марцинковская Н.В., Кузнецова О.В., Тюева Н.В., Антонова Л.П., Стоян В.Т. Оценка эффективности химиолучевой терапии рака шейки матки IIВ—III стадии с применением гемцитабина // Материалы VIII съезда онкологов и радиологов СНГ. – Казань, 2014. – С. 547-548.

40 Leon S.A., Shapiro B., Sklaroff D.M., Varos M.J. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy // *Cancer Res.* – 1977. – Vol. 37, №3. – P. 646–650.

41 O'Driscoll L. Extracellular nucleic acids and their potential as diagnostic, prognostic and predictive biomarkers // *Anticancer Res.* – 2007. – Vol. 27(3A). – P. 1257–1265.

42 Vlassov V.V., Laktionov P.P., Rykova E.Y. Circulating nucleic acids as a potential source for cancer biomarkers // *Curr Mol Med.* – 2010. – 10(2) – P. 142-165.

43 Abo-El-Eneen M.S., Anwar M.M., El-Zoghby S.M., Kohail H.M.A., Zaher E.R. Cell-free DNA concentration and integrity as a screening tool for cancer // *Indian Journal of Cancer.* – 2013. – Vol. 50, №3. – P. 175–183.

44 Филипенко М.Л. Диагностический потенциал внеклеточной ДНК в качестве жидкостной биопсии // *Вестник РГМУ.* – 2017. – № 4. – С. 5-13.

45 Рыкова Е.Ю. Экзогенные и секретируемые клетками нуклеиновые кислоты, их взаимодействия с компонентами крови в норме и при онкологических заболеваниях: автореф. ... докт. биол. наук. – Новосибирск, 2009. – С. 42.

46 Rak J. Microparticles in cancer // *Semin Thromb Hemost.* – 2010. – Vol. 36(8). – P. 888-906.

47 Бондарь Г.В. и др. Функция нуклеиновых кислот в эритроцитах: роль ретротранспозонов Line 1 в чувствительности к химиотерапии // *Університетська клініка.* – 2013. – Т. 9, №2. – С. 201-204.

48 Тамкович С.Н. и др. Циркулирующие нуклеиновые кислоты в крови больных раком желудка и толстой кишки // *Биомедицинская химия.* – 2005. – Т. 51, вып.3. – С. 321-328.

49 Sirota V.B., Muravlyova L.E., Bakirova R.E., Kabildina N.A., Omarova I.M., Ponomareva O.A., Klyuyev D.A., Zhakupova Sh.S., Kuanyshkaliyeva A.N. Extracellular Nucleic Acids and Purine Bases in blood of patients with locally Invasive breast carcinoma // *World Journal of Medical Sciences.* – 2014. – Vol. 11(2). – P. 171-174.

50 Paci M., Maramotti S., Bellesia E., Formisano D., Albertazzi L., Ricchetti T., Ferrari G., Annessi V., Lasagni D., Carbonelli C., De Franco S., Brini M., Sgarbi G., Lodi R. Circulating plasma DNA as diagnostic biomarker in non-small cell lung cancer // *Lung Cancer.* – 2009. – Vol. 64, №1. – P. 92–97.

51 Szpehcinski A., Chorostowska-Wynimko J., Kupis W., Rudzinski P., Langfort R., Puscinska E., Bielen P., Sliwinski P., Orłowski T. Quantitative

analysis of free circulating DNA in plasma of patients with resectable NSCLC // *Expert Opin Biol Ther.* – 2012. – Vol. 12, Suppl. 1. – P. 3-9.

52 Hashad D., Sorour A., Ghazal A., Talaat I. Free circulating tumor DNA as a diagnostic marker for breast cancer // *J. Clin Lab Anal.* – 2012. – Vol. 26, №6. – P. 467–472.

53 Кондратова В.Н. и др. Внеклеточные нуклеиновые кислоты как маркеры опухолевого роста // *Российский биотерапевтический журнал.* – 2013. – Т. 12, № 3. – С. 3-10.

54 Stroun M., Maurice P., Vasioukhin V., Lyautey J, Lederrey C, Lefort F, Rossier A, Chen XQ, Anker P. The origin and mechanism of circulating DNA // *Ann N Y Acad Sci.* – 2000. – Vol. 906. – P. 161–168.

55 Fleischhacker M., Schmidt B. Circulating nucleic acids (CNAs) and cancer – a survey // *Biochim Biophys Acta.* – 2007. – Vol. 1775, №1. – P. 181-123.

56 Тельшева Е.Н. Свободно-циркулирующая ДНК плазмы крови. Возможности применения в онкологии // *Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии Минздрава России.* – 2017. – № 2. – С. 1-29.

57 Garcia-Olmo D., Garcia-Olmo D.C., Ontanon J., Martinez E., Vallejo M. Tumor DNA circulating in the plasma might play a role in metastasis. The hypothesis of the genomestasis // *Histol Histopathol.* – 1999. – Vol. 4. – P. 1159–1164.

58 Allegra A., Alonci A., Campo S., Penna G., Petrunaro A., Gerace D., Musolino C. Circulating microRNAs: new biomarkers in diagnosis, prognosis and treatment of cancer (review) // *Int J. Oncol.* – 2012. – Vol. 41(6). – P. 1897-1912.

59 Дудиньска В., Хлынчак А.Й., Скотница Е., Суска М. Метаболизм пуринов в эритроцитах человека // *Биохимия.* – 2006. – Т. 71, вып. 5. – С. 581–591.

60 Battelli M., Polito G.L., Bortolotti M., Bolognesi A. Xanthine oxidoreductase in cancer: more than a differentiation marker // *Cancer Med.* – 2016. – №5(3). – P. 546–557.

61 Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Молекулярно-клеточные механизмы индукции свободнорадикального окисления в условиях патологии // *Современные проблемы науки и образования.* – 2006. – № 6. [www.science-education.ru](http://www.science-education.ru). 16.07.2018.

62 Yegutkin GG. Nucleotide- and nucleoside-converting ectoenzymes: important modulators of purinergic signalling cascade // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2008. – Vol. 1783. – P. 673–694.

63 Baldwin S.A., Beal P.R., Yao S.Y., King A.E., Cass C.E., Young J.D. The equilibrative nucleoside transporter family, SLC29 // *Pflugers Arch.* – 2004. – Vol. 447(5). – P. 735-436.

64 Gray J.H., Owen R.P., Giacomini K.M. The concentrative nucleoside transporter family, SLC28 // *Pflugers Arch.* – 2004. – Vol. 447(5). – P. 728-734.

65 Fredholm B.B. Adenosine, an endogenous distress signal, modulates tissue damage and repair // *Cell Death Differ.* – 2007. – Vol. 14. – P. 1315–1323.

66 Whiteside T.L. Targeting adenosine in cancer immunotherapy: a review of recent progress // *Expert Rev Anticancer Ther.* – 2017. – Vol. 17(6). – P. 527-535.

- 67 Leone R.D., Emens L.A. Targeting adenosine for cancer immunotherapy // *J. Immunother Cancer*. – 2018. – Vol. 6(1). – P. 57.
- 68 Young A., Mittal D., Stagg J., Smyth M.J. Targeting Cancer-Derived Adenosine: New Therapeutic Approaches // *Cancer Discov*. – 2014. – Vol. 4(8). – P. 879–888.
- 69 Di Virgilio F., Adinolfi E. Extracellular purines, purinergic receptors and tumor growth // *Oncogene*. – 2018. – Vol. 36. – P. 293–303.
- 70 Sakuma S., Abe M., Kohda T., Fujimoto Y. Hydrogen peroxide generated by xanthine/xanthine oxidase system represses the proliferation of colorectal cancer cell line // *J. Clin Biochem Nutr*. – 2015. – №56 (1). – P. 15-19.
- 71 Heshmatollah Sh., Ahmad Z.M., Ali E., Mahyar Kh. Changes in Plasma Concentrations of Hypoxanthine and Uric Acid Before and After Hemodialysis IJKD. – 2009. – №3. – P. 151-155.
- 72 Шатова О.П., Бутенко Е.В., Хомутов Е.В., Каплун Д.С., Седаков И.Е., Зинкович И.И. Влияние метформина на метаболизм пуринов при раке молочной железы // *Биомедицинская химия*. – 2016. – Т. 62, Вып. 3. – С. 302-305.
- 73 Strasak K., Rapp W., Hilbe et al. Serum uric acid and risk of cancer mortality in a large prospective male cohort // *Cancer Causes and Control*. – 2007. – Vol. 18, №9. – P. 1021–1029.
- 74 Fini M.A., Elias A., Johnson R.J., Wright R.M. Contribution of uric acid to cancer risk, recurrence, and mortality // *Clinical and Translation Medicine*. – 2012. – Vol. 1, №1. – 16 p.
- 75 Baeksgaard L., Sørensen J.B. Acute tumor lysis syndrome in solid tumors: a case report and review of the literature // *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. – 2003. – Vol. 51, №3. – P. 187–192.
- 76 Wannamethee S.G. Serum uric acid and risk of coronary heart disease // *Current Pharmaceutical Design*. – 2005. – Vol. 11, №32. – P. 4125–4132.
- 77 Jee S.H., Lee S.Y., Kim M.T. Serum uric acid and risk of death from cancer, cardiovascular disease or all causes in men // *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation*. – 2004. – Vol. 11, №3. – P. 185–191.
- 78 Jemal A., Bray F., Center M.M., Ferlay J., Ward E., Forman D. Global cancer statistics. // *CA Cancer Journal for Clinicians*. – 2011. – Vol. 61, №2. – P. 69–90.
- 79 Boffetta P., Nordenvall C., Nyren O., Ye W. A prospective study of gout and cancer // *European Journal of Cancer Prevention*. – 2009. – Vol. 18, №2. – P. 127–132.
- 80 Chen C.J., Yen J.H., Chang S.J. Gout patients have an increased risk of developing most cancers, especially urological cancers // *Scandinavian Journal of Rheumatology*. – 2014. – Vol. 43(5). – P. 385-90.
- 81 Fuchs T., Abed U., Goosmann C., Hurwitz R. A Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps // *J. Cell Biol*. – 2007. – №176. – P. 231–241.
- 82 Neeli I., Khan S.N., Radic M. Histone deimination as a response to inflammatory stimuli in neutrophils // *J. Immunol*. – 2008. – Vol. 180. – P. 1895–190.

83 Papayannopoulos V., Metzler K.D., Hakkim A., Zychlinsky A. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps // *J. Cell Biol.* – 2010. – Vol. 191. – P. 677–691.

84 Parker H., Winterbourn C.C. Reactive oxidants and myeloperoxidase and their involvement in neutrophil extracellular traps // *Frontiers Immunol.* – 2012. – Vol. 3. – P. 424.

85 Metzler K.D., Fuchs T., Nauseef W.M., Reumaux D., Roesler J., Schulze I., Wahn V., Papayannopoulos V., Zychlinsky A. Myeloperoxidase is required for neutrophil extracellular trap formation: implications for innate immunity // *Blood.* – 2011. – Vol. 117. – P. 953–959.

86 Wang Y., Li M., Stadler S., Correll S., Li P., Wang D., Hayama R., Leonelli L., Han H., Grigoryev S. *et al.* Histone hypercitrullination mediates chromatin decondensation and neutrophil extracellular trap formation // *J. Cell Biol.* – 2009. – Vol. 184. – P. 205–213.

87 Zawrotniak M., Rapala-Kozik M. Neutrophil extracellular traps (NETs) – formation and implications // *Acta Biochimica Polonica.* – 2013. – Vol. 60, №3. – P. 277–284.

88 Pilsczek F.H., Salina D., Poon K.K., Fahey C., Yipp B.G., Sibley C.D., *et al.* A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to *Staphylococcus aureus* // *J Immunol.* – 2010. – Vol. 185(12). – P. 7413–7425.

89 Yousefi S., Mihalache C., Kozlowski E., Schmid I., Simon H.U. Viable neutrophils release mitochondrial DNA to form neutrophil extracellular traps // *Cell Death Differ.* – 2009. – Vol. 16(11). – P. 1438–1444.

90 Yipp B.G., Kubes P. NETosis: How vital is it? // *Blood.* – 2013. – Vol. 122(16). – P. 2784–2794.

91 Itagaki K., Kaczmarek E., Lee Y.T., Tang I.T., Isal B., Adibnia Y. *et al.* Mitochondrial DNA released by trauma induces neutrophil extracellular traps // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10(3). – 10 p.

92 Souto J.C., Vila L., Brú A. Polymorphonuclear neutrophils and cancer: intense and sustained neutrophilia as a treatment against solid tumors // *Med Res Rev.* – 2011. – Vol. 31. – P. 311–363.

93 Huh S.J., Liang S., Sharma A., Dong C., Robertson G.P. Transiently entrapped circulating tumor cells interact with neutrophils to facilitate lung metastasis development // *Cancer Res.* – 2010. – Vol. 70. – P. 6071–6082.

94 Kowanetz M., Wu X., Lee J., Tan M., Hagenbeek T., Qu X., Yu L., Ross J., Korsisaari N., Cao T. *et al.* Granulocyte-colony stimulating factor promotes lung metastasis through mobilization of Ly6G+Ly6C+ granulocytes // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2010. – Vol. 107. – P. 21248–21255.

95 Granot Z., Henke E., Comen E.A., King T.A., Norton L., Benezra R. Tumor entrained neutrophils inhibit seeding in the premetastatic lung // *Cancer Cell.* – 2011. – Vol. 20. – P. 300–314.

96 Amal Abd El hafez. Could Neutrophil Extracellular Traps Elucidate the Mysteries of Pathogenesis? // *J. Clin Exp Pathol.* – 2014. – Vol. 4. – P. 174.

97 Berger-Achituv S., Brinkmann V., Abed U.A., Kühn L.I., Ben-Ezra J., et al. A proposed role for neutrophil extracellular traps in cancer immunoediting // *Front Immunol.* – 2013. – Vol. 4. – P. 48.

98 Gupta A.K., Joshi M.B., Philippova M., Erne P., Hasler P., et al. Activated endothelial cells induce neutrophil extracellular traps and are susceptible to NETosis-mediated cell death // *FEBS Lett.* – 2010. – Vol. 584. – P. 3193-3197.

99 Долгушин И.И., Шишкова Ю.С., Семенова А.Б., Казачков Е.Л., Важенин А.В., Шаманова А.Ю., Димов Г.П. Взгляд на роль нейтрофильной внеклеточной ДНК, как компонента микроокружения опухоли, в процессах канцерогенеза // *Уральский медицинский журнал.* – 2014. – №02(116). – С. 19-22.

100 Richardson J.J.R., Hendrickse C., Gao-Smith F., Thickett D.R. Neutrophil Extracellular Trap Production in Patients with Colorectal Cancer In Vitro // *International Journal of Inflammation.* – 2017. – Vol. 2017. – 11 p.

101 Абакумова Т.В., Антонеева И.И., Генинг Т.П., Длогова Д.Р., Гининг С.О. Фенотип нейтрофилов периферической крови на начальной стадии рака тела матки // *Цитология.* – 2016. – Т. 586, № 1. – С. 23-29.

102 Demers M., Krause D.S., Schatzberg D., Martinod K., Voorhees J.R., Fuchs T.A., Scadden D.T., Wagner D.D. Cancers predispose neutrophils to release extracellular DNA traps that contribute to cancer-associated thrombosis // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2012. – Vol. 109. – P. 13076–13081.

103 Garley M., Jabłońska E., Dąbrowska D. NETs in cancer // *Tumour Biol.* – 2016. – Vol. 37(11). – P. 14355-14361.

104 Falanga L., Russo V., Milesi A. Vignoli. Mechanisms and risk factors of thrombosis in cancer // *Critical Reviews in Oncology. Hematology.* – 2017. – Vol. 118. – P. 79–83.

105 Demers M., Wagner D.D. NETosis: a new factor in tumor progression and cancer-associated thrombosis // *Semin Thromb Hemost.* – 2014. – Vol. 40(3). – P. 277-283.

106 Chunfa Yang, Wenying Sun, Wu Cui, Xingku Li, Jialin Yao, Xuanye Jia, Changjian Li, Hongjie Wu, Zhaoyang Hu, Xiaoming Zou. Procoagulant role of neutrophil extracellular traps in patients with gastric cancer // *Int J. Clin Exp Pathol.* – 2015. – Vol. 8(11). – P. 14075-14086.

107 Norbaini A.R., Omar E., Pat M. Pancreatic Cancer-Induced Neutrophil Extracellular Traps: A Potential Contributor to Cancer-Associated Thrombosis // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. – Vol. 18. – P. 487.

108 Von Brühl M.-L., Stark K., Steinhart A., Chandraratne S., Konrad I., Lorenz M., Khandoga A., Tirniceriu A., Coletti R., Köllnberger M. et al. Monocytes neutrophils and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo // *J. Exp Med.* – 2012. – Vol. 209. – P. 819–835.

109 Wolberg A.S., Aleman M.M., Leiderman K., Machlus K.R. Procoagulant activity in hemostasis and thrombosis: Virchow's triad revisited // *Anesthesia Analgesia.* – 2012. – Vol. 114. – P. 275–285.

- 110 Ma A.C., Kubes P. Platelets neutrophils and neutrophil extracellular traps (NETs) in sepsis // *J Thrombosis Haemostasis*. – 2008. – Vol. 6. – P. 415–420.
- 111 Fuchs T., Bhandari A., Wagner D. Histones induce rapid and profound thrombocytopenia in mice // *Blood*. – 2011. – Vol. 118. – P. 3708–3714.
- 112 Semeraro F., Ammollo C.T., Morrissey J.H., Dale G.L., Friese P., Esmon N.L., Esmon C.T. Extracellular histones promote thrombin generation through platelet-dependent mechanisms: involvement of platelet TLR2 and TLR4 // *Blood*. – 2011. – Vol. 118. – P. 1952–1961.
- 113 Fuchs T.A., Brill A., Duerschmied D., Schatzberg D., Monestier M., Myers D.D., Wroblewski S.K., Wakefield T.W., Hartwig J.H., Wagner D. Extracellular DNA traps promote thrombosis // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2010. – Vol. 107. – P. 15880–15885.
- 114 Fuchs T.A., Brill A., Wagner D. Neutrophil extracellular trap (NET) impact on deep vein thrombosis // *Arteriosclerosis Thrombosis Vascular Biol*. – 2012. – Vol. 32. – P. 1777–1783.
- 115 Brill A., Fuchs T.A., Savchenko A.S., Thomas G.M., Martinod K., De Meyer S.F., Bhandari A.A., Wagner D.D. Neutrophil extracellular traps promote deep vein thrombosis in mice // *J Thrombosis Haemostasis*. – 2012. – Vol. 10. – P. 136–144.
- 116 Demersa M., Kraused D., Schatzberga D., Martinoda K., Voorheesa J.M., Fuchsa T., Scaddend D., Wagnera D. Cancers predispose neutrophils to release extracellular DNA traps that contribute to cancer-associated thrombosis // *PNAS*. – 2012. – Vol. 109, №32. – P. 13076–13081.
- 117 Cools-Lartigue J., Spicer J., Najmeh S., Ferri L. Neutrophil extracellular traps in cancer progression // *Cell Mol Life Sci*. – 2014. – Vol. 71(21). – P. 4179-94.
- 118 Berger-Achituv S., Brinkmann V., Abed U.A., Kühn L.I., Ben-Ezra J., Elhasid R., Zychlinsky A. A proposed role for neutrophil extracellular traps in cancer immunoediting. // *Frontiers Immunol*. – 2013. – Vol. 4. – P. 48.
- 119 Morshed M., Hlushchuk R., Simon D., Walls A.F., Obata-Ninomiya K., Karasuyama H., Djonov V., Eggel A., Kaufmann T., Simon H.U., Yousefi S. NADPH oxidase-independent formation of extracellular DNA traps by basophils // *J. Immunol*. – 2014. – Vol. 192(11). – P. 5314-5323.
- 120 Yousefi S., Morshed M., Amini P., Stojkov D., Simon D., von Gunten S., Kaufmann T., Simon H.U. Basophils exhibit antibacterial activity through extracellular trap formation // *Allergy*. – 2015. – Vol. 70(9). – P. 1184-1188.
- 121 Shigeharu U., Rossana C.N. Melo, Ionita G., Lisa A.S., Ann M.D., Peter F.W. Eosinophil extracellular DNA trap cell death mediates lytic release of free secretion-competent eosinophil granules in humans // *Blood*. – 2013. – Vol. 121(11). – P. 2074–2083.
- 122 Орешников Е.В., Гунин А.Г., Мадянов И.В., Орешникова С.Ф. Пурины крови и ликвора при беременности // *Проблемы репродукции*. – 2008. – № 6. – С. 74-80.

- 123 Маркушева Л.И., Савина М.И., Решина В.М. и др. Ядерные белки хроматина в оценке эффективности лечения больных псориазом // Клиническая лабораторная диагностика. – 2000. – № 7. – С. 18-20.
- 124 Пат. № 2384844 РФ. Способ обнаружения НВЛ / Долгушин И.И., Андреева Ю.С. – Оpubл. 01.04.2008. – С. 1 - 15.
- 125 Kaplan E.S., Meier P. Cox Regression models and life tables // Journal of the Royal Statistical Society. – 1972. – Vol. 34. – P. 187-220.
- 126 Волков С.М., Арион А.И., Ахметов М.Ш. и др. Актуальные расчеты выживаемости (определения продолжительности жизни с учетом «дожития») // Анналы. Альманах Московского онкологического общества. – М., 1998. – №1 (2). – 143 с.
- 127 Боровиков В.П., Боровиков И.П. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов. – Изд. 2-е. – СПб.: Питер, 2004. – 688 с.
- 128 Унгурияну Т.Н., Гржибовский А.М. Сравнение трех и более независимых групп с использованием непараметрического критерия Краскела Уоллиса // Экология человека. – 2014. – № 6. – С. 55-58.
- 129 Холлендер М., Вульф Д. Непараметрические методы статистики. – М.: Финансы и статистика, 1983. – 518 с.
- 130 Боровков А.А. Математическая статистика. – М.: Наука, 1984. – 472 с.
- 131 Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. – М.: Медиа Сфера, 2006. – 305 с.
- 132 Тихонов Ю.В., Мейснер И.С., Пименов А.М., Тогузов Р.Т. Особенности обмена пуриновых соединений в гепатоме 22 печени и эритроцитах крови мышей в процессе развития опухоли // Вопросы медицинской химии. – 1989. – Т. 35. – Вып. 3. – С. 125-129.
- 133 Гржибовский А.М., Иванов С.В., Горбатова М.А. Сравнение количественных данных трех и более парных выборок с использованием программного обеспечения Statistica и SPSS: параметрические и непараметрические критерии. – 2016. [www.cyberleninka.ru](http://www.cyberleninka.ru). 20.10.2019
- 134 Шуматова Т.А., Приходченко Н.Г., Оденбах Л.А., Ефремова И.В. Роль метилирования ДНК и состояния фолатного обмена в развитии патологических процессов в организме человека // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2013. – № 4. – С. 39-43.
- 135 Гнеушева А.А. Разработка, валидация и клинические аспекты применения процедуры определения уровня внеклеточной ДНК в плазме крови: автореф. ... канд. мед. наук. – Волгоград, 2018. – 24 с.
- 136 Laktionov P.P., Tamkovich S.N., Rykova E.Yu., et al. Extracellular circulating nucleic acids in human plasma in health and disease // Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids. – 2004. – Vol. 23. – P. 879–883.
- 137 Deli T., Csernoch L. Extracellular ATP and cancer: an overview with special reference to P2 purinergic receptors // Pathol Oncol Res. – 2008. – Vol. 14(3). – P. 219-31.

138 Qian Y., Wang X., Li Y., Cao Y., Chen X. Extracellular ATP a New Player in Cancer Metabolism: NSCLC Cells Internalize ATP In Vitro and In Vivo Using Multiple Endocytic Mechanisms // *Mol Cancer Res.* – 2016. – Vol. 14(11). – P. 1087-1096.

139 Rupesh Kumar, Sairoz, Deepak Kumar Prasad. Serum Adenosine Deaminase and Xanthine Oxidase in Breast Cancer Patients // *Asia Pacific Journal of Research.* – 2017. – Vol. 1, LII. – P. 1-4.

140 Rupesh K.S., Deepak K.P. Serum Adenosine Deaminase and Xanthine Oxidase in Breast Cancer Patients // *Asia Pacific Journal of Research.* – 2017. – Vol. 1, LII. – P. 1-4.

141 Aminiahidasthi H., Bozorgi F., Mousavi S.J., Sedighi O., Gorji A.M., Rashidian H. Serum uric acid level in relation to severity of the disease and mortality of critically ill patients // *J. Lab Physicians.* – 2017. – Vol. 9. – P. 42-46.

142 Yan S., Zhang P., Xu W., Liu Y., Wang B., Jiang T., Hua C., Wang X., Xu D., Sun B. Serum Uric Acid Increases Risk of Cancer Incidence and Mortality: A Systematic Review and Meta-Analysis // *Mediators of inflammation.* – 2015. – Vol. 2015. – 764250.

143 Strasak A.M., Rapp K., Hilbe W., Oberaigner W., Ruttmann E., Concin H., Diem G., Pfeiffer K.P., Ulmer H. Serum uric acid and risk of cancer mortality in a large prospective male cohort // *Cancer causes & control.* – 2007. – Vol. 18. – P. 1021-1029.

144 Stotz M., Szkandera J., Seidel J., Stojakovic T., Samonigg H., Reitz D., et al. Evaluation of Uric Acid as a Prognostic Blood-Based Marker in a Large Cohort of Pancreatic Cancer Patients // *PLoS ONE.* – 2014. – Vol. 9(8). – e104730.

145 Shahbazian H., Mombini H., Moghaddam A.Z. et al. Changes in Plasma Concentrations of Hypoxanthine and Xanthine in Renal Vein as an Index of Delayed Kidney Allograft Function // *Urol J. (Tehran).* – 2006. – Vol. 4. – P. 225-229.

146 Shahbazian H., Moghadam A.Z., Ehsanpour A., Khazaali M. Uric Acid Before and After Hemodialysis // *Iranian Journal of Kidney Diseases.* – 2009. – Vol. 3, №3. – P. 151-155.

147 Fini M.A., Elias A., Johnson R.J., Wright R.M. Contribution of uric acid to cancer risk, recurrence, and mortality // *Clin Transl Med.* – 2012. – Vol. 1. – 16 p.

148 Dudzinska W., Suska M., Lubkowska A., Jakubowska K., Olszewska M., Safranow K., Chlubek D. Comparison of human erythrocyte purine nucleotide metabolism and blood purine and pyrimidine degradation product concentrations before and after acute exercise in trained and sedentary subjects // *J. Physiol Sci.* – 2018. – Vol. 68(3). – P. 293–305.

149 Brinkmann V., Zychlinsky A. Beneficial suicide: why neutrophils die to, make NETs // *Nature Rev.* – 2007. – Vol. 5. – P. 577-582.

150 Смолякова Р.М. Биохимические механизмы нарушений регуляции гомеостаза у онкологических больных при эндотоксемии: автореф. ... док. биол. наук. – М., 2005. – 48 с.

151 Семенова А.Б. Морфофункциональная характеристика клеточного компонента микроокружения карцином молочной железы различной степени

злокачественности и молекулярно-генетических подтипов: автореф. ... докт. мед наук. – Челябинск, 2017. – 48 с.

152 Rouia A.R. Abulkassim, Dawsar K. Ismael, Nawfal A.M. Numan, Nada N. Al-Shawi, Saad A.R. Hussain. The Effect of Radiotherapy on Oxidative Stress, Biochemical and Hematological Parameters in Women with Breast Cancer // *AJPS*. – 2014. – Vol. 14, №2. – P. 1-9.

153 Hui Lin, Huan-Xin Lin, Nan Ge, Hong-Zhi Wang, Rui Sun, and Wei-Han Hu. Plasma uric acid and tumor volume are highly predictive of outcome in nasopharyngeal carcinoma patients receiving intensity modulated radiotherapy // *Radiat Oncol*. – 2013. – Vol. 8. – 121.

154 Фоменко Ю.А., Жумакаева С.С., Жумакаева А.М., Сирота В.Б., Муравлёва Л.Е. Внеклеточные нуклеиновые кислоты при онкологической патологии // *Современные проблемы науки и образования*. – 2018. – № 2. [www.science-education.ru](http://www.science-education.ru). 31.07.2018.

155 Тамкович С.Н., Власов В.В., Лактионов П.П. Циркулирующие ДНК крови и их использование в медицинской диагностике // *Мол. Биология*. – 2008. – Е. 42, №1. – С. 12-23.

156 Phillipson M., Kubes P. The neutrophil in vascular inflammation // *Nature medicine*. – 2011. – Vol. 17, №11. – P. 1381-1390.

157 Савочкина А.Ю. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, методы обнаружения, биологическая роль: дис ... докт. мед. наук. – Челябинск, 2012. – 48 с.

158 Oehmcke S., Morgelin M., Herwald H. Activation of the Human Contact System on Neutrophil Extracellular Traps // *J. Innate Immun*. – 2009. – Vol. 1:225. – P. 230.

159 Герасимов И.Г. Функциональная неоднородность нейтрофилов // *Клин. лаб. диагност.* – 2006. – № 2. – С. 34–36.

160 Avila J., Adrover J.M., Hidalgo A. Neutrophils in Homeostasis, Immunity, and Cancer // *Immunity*. – 2017. – Vol. 46, 17. – P. 15-28.

161 Sagiv J.Y., Michaeli J., Assi S., Mishalian I., Kisos H., Levy L., Damti P., Lumbroso D., Polyansky L., Sionov R.V., et al. Phenotypic diversity and plasticity in circulating neutrophil subpopulations in cancer // *Cell Rep*. – 2015. – Vol. 10. – P. 562–573.

162 Villanueva E., Yalavarthi S., Berthier C.C., Hodgins J.B., Khandpur R., Lin A.M., Rubin C.J., Zhao W., Olsen S.H., Klinker M., et al. Netting neutrophils induce endothelial damage, infiltrate tissues, and expose immunostimulatory molecules in systemic lupus erythematosus // *J. Immunol*. – 2011. – Vol. 187. – P. 538–552.

163 Ortmann W., Kolaczowska E. Age is the work of art? Impact of neutrophil and organism age on neutrophil extracellular trap formation // *Cell Tissue Res*. – 2018. – Vol. 371(3). – P. 473–488.

164 Trellakis S., Bruderek K., Dumitru C.A. et al. Polymorphonuclear granulocytes in human head and neck cancer: enhanced inflammatory activity, modulation by cancer cells and expansion in advanced disease // *Int. J. Cancer*. – 2011. – Vol. 129. – P. 2183–2193.

165 Данилова А.Б., Балдуева И.А. Нейтрофилы как компонент опухолевого микроокружения // Вопросы онкологии. – 2016. – Т. 62, №1. – С. 35-44.

166 Абакумова Т.В., Антонеева И.И. Неспецифический клеточный иммунитет на разных стадиях рака шейки матки // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2012. – № 2. – С. 104-110.

167 Fomenko Y., Kolesnikova Y., Beynikova I., Muravlyova L., Sirota V., Bakirova R. Influence of Combined Therapy on Generation of Neutrophil Extracellular Traps in Patients with Cervical Cancer // Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. – 2018. – Vol. 25: 6(11). – P. 2097-2100.

168 Yousefi S., Morshed M., Amini P. et al. Basophils exhibit antibacterial activity through extracellular trap formation // Allergy. – 2015. – Vol. 70, №9. – P. 1184-1188.

169 Останин А.Л. Управляемый эозинофильный синдром против рака. Научное открытие и практические результаты иммунотерапии // SPS Fertility & Ecology». – 2015. – С. 1-15.

# ПРИЛОЖЕНИЕ А

## Акт

КГМУ 7-06/02  
ПП КГМУ 7/02

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе КГМУ  
*А. А. Турмухамбетов* Турмухамбетова А. А.

« 02 » 11 2018 г.

АКТ

Внедрения результатов научно-исследовательской работы

Кафедра онкологии, II радиологическое отделение КГП «Областной онкологический диспансер»

(наименование учреждения, где внедряется работа)

Наименование предложения Определение катаболитов пуринового обмена в крови больных раком шейки матки

Форма внедрения: Определение содержания гуанина, гипоксантина и аденина в эритроцитах крови и ксантина в плазме крови у больных раком шейки матки

Работа включена из: Предложение кафедры онкологии и биохимии

планов внедрения научно-исследовательских, учебных институтов,

внедрения в инициативном порядке, заимствована из методических рекомендаций, журнальных статей, диссертаций, монографий – указать)

Форма внедрения: Определение перечисленных показателей крови у больных раком шейки матки

(внедрения метода, способа, аппарата в лечебно-профилактическом учреждении, лекции, семинары, подготовки на рабочем месте и прочее – указать)

Ответственный за внедрение и исполнитель Фоменко Ю.М., Сирота В. Б., Муравлева Л.Е., Олжатаева Г.О.

Эффективность внедрения: Определение перечисленных показателей крови у больных раком шейки матки для уточнения степени распространенности рака, для III стадии рака размах показателей: в эритроцитах гуанина 485-733еэ, гипоксантина 570-780, аденина 625-823, в плазме ксантина 144-227.

Предложения, замечания, учреждения, осуществляющего внедрение: \_\_\_\_\_

Сроки внедрения в течение 2017-18 гг. \_\_\_\_\_

Председатель комиссии  
Члены (ответственные за внедрение)

Исполнитель

М. Д. Жумакаев  
В. Б. Сирота  
Л.Е. Муравлева  
Г.О. Олжатаева  
Ю.М. Фоменко

# ПРИЛОЖЕНИЕ Б

## Акт

КГМУ 7-06/02  
ПП КГМУ 7/02

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе КГМУ  
Турмухамбетова А. А.

« 02 » 11 2018 г.

АКТ

Внедрения результатов научно-исследовательской работы  
Кафедра онкологии, II радиологическое отделение КГП «Областной онкологический диспансер»

(наименование учреждения, где внедряется работа)

Наименование предложения Определение катаболитов пуринового обмена в крови больных раком шейки матки на фоне сочетанно-лучевой терапии

Форма внедрения: Определение содержания гуанина, гипоксантина и аденина в эритроцитах и плазме крови у больных раком шейки матки на фоне лучевой терапии

Работа включена из: Предложение кафедры онкологии и биохимии

планов внедрения научно-исследовательских, учебных институтов,

внедрения в инициативном порядке, заимствована из методических рекомендаций, журнальных статей, диссертаций, монографий – указать)

Форма внедрения: Определение перечисленных показателей крови у больных раком шейки матки на фоне проводимой сочетанно-лучевой терапии без или с радиомодификацией

(внедрения метода, способа, аппарата в лечебно-профилактическом учреждении, лекции, семинары, подготовки на рабочем месте и прочее – указать)

Ответственный за внедрение и исполнитель Фоменко Ю.М., Сирота В. Б., Муравлева Л.Е., Олжатаева Г.О.

Эффективность внедрения: Определение перечисленных показателей крови у больных раком шейки матки, как наиболее чувствительных к эффективности проводимой терапии. Выявлены статистически значимые линейные тренды роста показателей гуанина и гипоксантина в эритроцитах и плазме, аденина в плазме крови больных раком шейки матки на фоне лучевой терапии с цисплатином.

Предложения, замечания, учреждения, осуществляющего внедрение: \_\_\_\_\_

Сроки внедрения в течение 2017-18 г.

Председатель комиссии  
Члены (ответственные за внедрение)

Исполнитель



М. Д. Жумакаев  
В. Б. Сирота  
Л.Е. Муравлева  
Г.О. Олжатаева  
Ю.М. Фоменко

# ПРИЛОЖЕНИЕ В

## Свидетельство

**СВИДЕТЕЛЬСТВО**  
о государственной регистрации прав  
на объект авторского права

№ 8994 г. 27 августа 2018

Настоящим удостоверяется, что в Министерстве юстиции Республики Казахстан зарегистрированы исключительные имущественные права на объект авторского права под названием «**Вишкеточные нуклеиновые кислоты крови больших местно-распространенным раком шейки матки и на фоне комбинированной терапии**» (произведение науки), авторами которого по заявлению авторов являются **Фоменко Юрий Михайлович, Муравлёва Лариса Евгеньевна, Сирота Валентина Брониславовна.**

По заявлению авторов исключительные имущественные права на объект авторского права, созданный **8 августа 2018 года** принадлежат **Фоменко Ю.М., Муравлёвой Л.Е., Сирота В.Б.** и авторы гарантируют, что при создании вышеуказанного объекта не были нарушены права интеллектуальной собственности других лиц.

Запись в реестре за № 8994 от **27 августа 2018 года** имеется.

Вице-министр  
  
Н. Пан

ИС 4058



Авторлық құқық объектісіне құқықтарды  
мемлекеттік тіркеу туралы

**ҚУӘЛІК**

№ 8994 ж. 27 тамыз 2018

Қазақстан Республикасы Әділет министрлігінде авторлардың өтініші бойынша авторлары **Юрий Михайлович Фоменко, Лариса Евгеньевна Муравлёва, Валентина Брониславовна Сирота** болып табылатын авторлық құқықпен қорғалатын объектіге айрықша мүлдіткі құқықтар «**Вишкеточные нуклеиновые кислоты крови больших местно-распространенным раком шейки матки и на фоне комбинированной терапии**» (ғылыми туынды), атауымен тіркелгені куәландырылады.

Авторлардың өтініші бойынша авторлық құқықпен қорғалатын объектіге айрықша мүлдіткі құқықтар және **2018 жылғы 8 тамызда** жасалған объекті **Ю.М. Фоменкоға, Л.Е. Муравлёваға, В.Б. Сиротаға** тиесілі және авторлар жоғарыда көрсетілген объектіні жасаған кезде басқа адамдардың зияткерлік меншік құқығы бұзылмағандығына кепілдік береді.

Тізімде **2018 жылғы 27 тамызда** жасалған № 8994 жаза бар.

Вице-министр  
  
Н. Пан



# ПРИЛОЖЕНИЕ Г

## Свидетельство

**СВИДЕТЕЛЬСТВО**  
о государственной регистрации прав  
на объект авторского права

№ 200 г. 27 августа 2018

Настоящим удостоверяется, что в Министерстве юстиции Республики Казахстан зарегистрированы исключительные имущественные права на объект авторского права под названием «**Катаболиты пуринов крови больных местно-распространенным раком шейки матки**» (произведение науки), авторами которого по заявлению авторов являются **Фоменко Юрий Михайлович, Муравлёва Лариса Евгеньевна, Сирота Валентина Брониславовна**.

По заявлению авторов исключительные имущественные права на объект авторского права, созданный **8 тамызда 2018** года, принадлежат **Фоменко Ю.М., Муравлёвой Л.Е., Сирота В.Б.** и авторы гарантируют, что при создании вышеуказанного объекта не были нарушены права интеллектуальной собственности других лиц.

Запись в реестре за № 200 от 27 августа 2018 года имеется.



Вице-министр  **Н. Пан**

ИС 4073

Авторлық құқық объектісіне құқықтарды  
мемлекеттік тіркеу туралы  
**ҚУӘЛІК**

№ 200 ж. 27 тамыз 2018

Қазақстан Республикасы Әділет министрлігінде авторлардың өтініші бойынша авторлары **Юрий Михайлович Фоменко, Лариса Евгеньевна Муравлёва, Валентина Брониславовна Сирота** болып табылатын авторлық құқықпен қорғалатын объектіге айрықша мүлкілік құқықтар «**Катаболиты пуринов крови больных местно-распространенным раком шейки матки**» (ғылыми туынды) атауымен тіркелгені куәландырылады.

Авторлардың өтініші бойынша авторлық құқықпен қорғалатын объектіге айрықша мүлкілік құқықтар және **2018 жылғы 8 тамызда** жасалған объекті **Ю.М. Фоменкоға, Л.Е. Муравлёваға, В.Б. Сиротаға** тиесілі және авторлар жоғарыда көрсетілген объектіні жасаған кезде басқа адамдардың зияткерлік меншік құқығы бұзылмағандығына кепілдік береді.

Тізілімде **2018 жылғы 27 тамызда** жасалған № 200 жаза бар.



Вице-министр  **Н. Пан**