

С.М. Карташов,
Г.Ж. Удербаяєва,
О.А. Белодед

Харківська медична академія
післядипломної освіти,
Харківський обласний
клінічний онкологічний
диспансер

Оцінка ефективності лікування хворих на рак шийки матки залежно від показника апоптозу

Evaluation of treatment efficacy in cervical cancer
depending on apoptosis parameters

Цель работы: Оценить длительность ремиссии у больных раком шейки матки (РШМ) в зависимости от показателя апоптоза в первичной опухоли и ее гистологической структуры.

Материалы и методы: Обследовано 58 больных РШМ I–III (T1bNXM0–T3NXM0) стадий заболевания, у которых в опухоли изучили показатель спонтанного апоптоза (ПСА) в зависимости от гистологической структуры новообразования, распространенности процесса и длительности ремиссии. Все больные получали терапевтические виды лечения: лучевую терапию и химиолучевое лечение. Количество клеток с характерной для апоптоза морфологией подсчитывали с использованием флуоресцентного микроскопа.

Результаты. Установлено, что у больных с плоскоклеточным раком и с аденокарциномой шейки матки ПСА зависел от длительности ремиссии. При плоскоклеточной структуре рака апоптозный индекс оказался достоверно ниже у пациентов с лучшими результатами лечения. В то же время у больных с аденокарциномой обнаружена обратная зависимость: прогностически более благоприятным для них является наличие в опухоли большего количества апоптотических клеток.

Выводы. Показатель спонтанного апоптоза в опухоли больных РШМ можно использовать как прогностический критерий в течении заболевания только с учетом гистологической структуры новообразования. У больных с плоскоклеточным раком меньший ПСА в опухоли является критерием более благоприятного его завершения.

Ключевые слова: рак шейки матки, спонтанный апоптоз, длительность ремиссии, гистоструктура опухоли.

Objective: To evaluate remission duration in patients with cervical cancer (CC) depending on spontaneous apoptosis index and the tumor histology.

Material and Methods: The study involved 58 stage 1-3 CC patients (T1bNXM0–T3NXM0) in whom spontaneous apoptosis index in the tumor was studied depending on the tumor histology, the process dissemination, and remission duration. All patients were administered radiation and chemotherapy. The number of cells with characteristic for apoptosis morphology was calculated with the use of fluorescent microscope.

Results: It was established that in patients with squamous cell carcinoma and those with adenoma of the uterine cervix, remission duration depended on spontaneous apoptosis index. In squamous cell structure, apoptosis index was significantly lower in patients with better treatment results. In patients with adenocarcinoma, reverse dependence was revealed: prognostically more favorable is the presence of larger number of apoptosis cells in the tumor.

Conclusion: Index of spontaneous apoptosis in the tumor of CC patients can be used as a prognostic criterion in the course of the disease with the account of the tumor histology. In patients with squamous cell cancer, lower apoptosis index in the tumor is a criterion of more favorable course of the disease.

Key words: cervical cancer, spontaneous apoptosis, remission duration, tumor histology.

Останніми роками у вивченні етіології й патогенезу раку шийки матки (РШМ) були досягнуті значні успіхи. Проте ця локалізація раку все ще залишається однією з найпоширеніших форм новоутворів, займаючи сьоме місце серед усіх злоякісних пухлин та четверте — серед раків у жінок [1, 2]. Вирішення цієї проблеми пов'язують із двома напрямками досліджень — профілактикою захворювання та підвищенням ефективності лікування. Важливу роль у цьому дослідженні відводять апоптозу — природній запрограмованій біологічній смерті клітини [3, 4].

Апоптоз є універсальним фізіологічним процесом, який у комплексі з клітинним диференцію-

ванням та проліферацією підтримує гомеостаз на тканинному й соматичному рівнях [5–7].

Нині встановлено, що пухлинні клітини під впливом терапевтичних факторів (зокрема, променевої та хемотерапії) здатні до загибелі шляхом апоптозу [8, 9].

При РШМ актуальним є пошук додаткових критеріїв, які дозволяють прогнозувати перебіг захворювання, проводити своєчасну корекцію в лікуванні та підвищувати його ефективність.

Перспективним вважають вивчення апоптозного індексу (АІ) й визначення його зв'язку з ефективністю лікування [2, 10, 11].

Метою нашого дослідження було оцінити тривалість ремісії у хворих на РШМ залеж-

но від показника спонтанного апоптозу в первинній пухлині та її гістологічної структури.

Методика дослідження

Обстежено 58 хворих на РШМ (T1bNXM0–T3NXM0) I–III стадій захворювання залежно від гістологічної структури новоутвору, поширення процесу та ефективності лікування. Критерієм оцінки останньої була тривалість ремісії більше та менше 24 міс. Усі обстежувані хворі отримували променеву (ПТ) та хемопроменеву терапію (ХПТ). Променеве лікування застосовували як поєднану терапію. Дистанційну гамма-терапію використовували у стандартних режимах фракціонування (2 Гр) до отримання сумарної осередкової дози (СОД) у точках А/В — 40–45/20–25 Гр. Внутріпорожнинну гамма-терапію виконували на апараті АГАТ-В із РОД у точках А/В — 5/1,25 Гр до СОД у т. А/В — 50–55/12–13,75 Гр. У 29 хворих ПТ доповнили ХПТ упродовж першого тижня лікування (цисплатин — 75 мг/м²; 5-фторурацил — 1000 мг/м²). Втім у нашій праці ми не враховували вид терапевтичного впливу при аналізі досліджуваних показників з огляду на невеликі групи хворих. Усі пацієнти (36–55 рр.) мали епітеліальну морфологічну структуру пухлин.

Показник спонтанного апоптозу визначали до початку спеціального лікування. Для виявлення апоптичних клітин досліджуваний матеріал, який забирали шляхом зішкрібання з пухлинної тканини, рівномірно наносили на накривні скельця. Мазки промивали фосфатно-сольовим буфером (рН–7,0) та фіксували 4 %-вим параформальдегідом; забарвлення виконували впродовж 20 хв барвником Hoechst 33342 (5 мг/мл) при кімнатній температурі. Із застосуванням флуоресцентного мікроскопа підраховували кількість клітин із характерною для апоптозу морфологією (ядерна конденсація та ДНК-деградація) [12]. Результат виражали у відсотковому співвідношенні клітин, тобто показник AI відповідає кількості таких, які перебувають у стані апоптозу зі 100 досліджуваних пухлинних клітин.

Результати та їх обговорення

Результати проведеного нами дослідження подані в таблиці. Як можна побачити з наведених даних, тривалість ремісії й у хворих з плоскоклітинним раком, і з аденокарциномою шийки матки залежала від показника спонтанного апоптозу.

Оцінка зв'язку між спонтанним AI та прогнозом перебігу хвороби у пацієнтів з плоскоклітинним РШМ T1b–T3NXM0 продемонструвала, що показник апоптозу виявився вірогідно вищим у хворих з тривалістю ремісії менше 24 міс. Тобто було виявлено, що в осіб із плоскоклітинною структурою раку менший показник AI є прогностично сприятливим чинником.

Аналіз результатів лікування у групі хворих з процесом T1b–T2NXM0 показав таку ж залежність, як у загальній групі пацієнтів з плоскоклітинним РШМ. Однак існування невели-

кої групи хворих з тривалістю ремісії менше 24 міс. і пов'язане з цим зростання довірчого інтервалу не дозволяють різницю показників AI у хворих з різною тривалістю ремісії вважати статистично вірогідною.

Тобто виявлена раніше залежність (у хворих з процесом T1b–T3NXM0) в даній групі простежується досить чітко, хоча й як тенденція. Крім того, у пацієнтів із гіршим прогнозом захворювання показник AI був у 1,89 разу вищим порівняно з аналогічним показником у хворих з більшою тривалістю ремісії.

Аналіз перебігу хвороби з урахуванням ПСА в групі хворих з T3NXM0 стадією показав, що існує тенденція аналогічна тій, що спостерігається в досліджуваних нами групах пацієнтів з плоскоклітинною структурою новоутвору. Так, кращий прогноз перебігу захворювання було відзначено в групі осіб з меншим AI ($p > 0,05$). Однак, на відміну від групи з менш поширеним раковим процесом T1b–T2NXM0, показник апоптозу у хворих з процесом T3NXM0 значно менше відрізнявся між групами з різною тривалістю ремісії. Зокрема, у пацієнтів з тривалістю ремісії менше 24 міс. AI був вищим в 1,34 разу (порівняно з 1,89 у хворих із T1b–T2NXM0).

Отже, проведені дослідження у хворих з плоскоклітинним РШМ продемонстрували наявність зв'язку між ПСА в пухлині та перебігом захворювання. Такий зв'язок простежується при будь-якій поширеності процесу у вигляді зворотно пропорційної залежності — спостерігається менша тривалість ремісії у пацієнтів з більшим показником AI. Однак дана залежність більш чітко простежується в осіб з меншою стадією хвороби. Зі зростанням поширеності процесу вона дещо слабшає та визначається як тенденція.

Оцінка зв'язку між показником апоптозу й перебігом захворювання у пацієнтів з аденокарциномою шийки матки виявила деякі чітко виражені тенденції.

Зокрема, прогноз захворювання незалежно від поширеності процесу має зв'язок з ПСА в пухлині: в групі хворих з більшою тривалістю ремісії AI був вищим в 1,31 разу ($p > 0,05$) порівняно з групою з гіршим результатом лікування. Аналогічна тенденція простежується і при врахуванні поширеності процесу.

Показник спонтанного апоптозу (AI) у хворих на РШМ залежно від гістоструктури пухлини, поширеності процесу та тривалості ремісії
Index of spontaneous apoptosis (apoptosis index) in cervical cancer patients depending on the tumor histology, dissemination of the process and remission duration

Гістоструктура пухлини	Стадія захворювання	Апоптозний індекс, %, тривалість ремісії	
		більше 24 міс.	менше 24 міс.
Плоскоклітинний рак	T1b–2NXM0 n = 32	3,53 ± 0,18 n = 29	6,67 ± 1,98 n = 3
	T3NXM0 n = 12	2,96 ± 0,31 n = 9	3,98 ± 1,07 n = 3
	Усього n = 44	3,41 ± 0,15 n = 38	5,33 ± 0,92* n = 6
Аденокарцинома	T1b–2NXM0 n = 9	5,38 ± 1,03 n = 7	4,04 ± 1,52 n = 2
	T3NXM0 n = 5	5,07 ± 1,59 n = 3	4,02 ± 1,51 n = 2
	Усього n = 14	5,29 ± 0,72 n = 10	4,03 ± 1,32 n = 4
Разом	T1b–3NXM0 n = 58	3,80 ± 0,16 n = 48	4,81 ± 0,75 n = 10

Примітка. * $p < 0,05$ — відмінності між групами з різною тривалістю ремісії статистично вірогідні.

Так, у групі зі стадією T1b–T2NXM0 у хворих з кращими результатами лікування AI також виявився вищим (в 1,33 разу, $p > 0,05$).

Зі зростанням поширеності процесу (стадія T3NXM0) виявлена тенденція зберігається — в групі хворих з тривалістю ремісії понад 24 міс. ПСА виявився вищим в 1,26 разу ($p > 0,05$).

Отже, проведені дослідження показали, що у хворих із залозистим РШМ існує зв'язок між прогнозом перебігу захворювання й ПСА в пухлині, який простежується й у загальній групі, й при врахуванні поширеності процесу. Причому у хворих з аденокарциномою шийки матки виявлений зв'язок між ПСА й прогнозом перебігу захворювання можна схарактеризувати як прямо пропорційну залежність — у хворих з більшим AI відзначена довша тривалість ремісії. Крім того, зв'язок між досліджуваними показниками меншою мірою залежить від поширеності процесу, хоча у пацієнтів з аденокарциномою простежується така тенденція.

Зокрема, зі зростанням поширеності процесу зменшується відмінність показників апоптозу в групах хворих з тривалістю ремісії більшою й меншою за 24 міс. Аналіз тривалості ремісії в залежності від показника спонтанного апоптозу без урахування морфологічної структури пухлини продемонстрував наявність такої залежності.

У хворих з тривалістю ремісії понад 24 міс. AI був нижчим порівняно з пацієнтами з меншою тривалістю ремісії. Така ж тенденція була встановлена нами в осіб із плоскоклітинним РШМ.

Отриману в загальній групі залежність між спонтанним AI і перебігом захворювання можна пояснити саме тим, що в даній групі абсолютну більшість (75,8 %) склали пацієнти з плоскоклітинним раком.

Отже, проведені дослідження показали наявність зв'язку між прогнозом перебігу хвороби та ПСА в пухлині. Така залежність виявлена з урахуванням як гістологічної структури новоутвору, так і поширеності процесу.

Причому в аналізованих групах виявлено деякі принципові особливості, які дозволяють говорити про наявність у новоутворах шийки матки різної морфологічної будови істотних біологічних відмінностей, що впливають на перебіг і прогноз захворювання.

Зокрема, це стосується процесу спонтанного апоптозу в пухлині. Встановлено, що для осіб з плоскоклітинним РШМ наявність меншого ПСА в пухлині є прогностично більш сприятливою ознакою. Водночас у хворих із залозистим РШМ відзначена зворотна тенденція: прогностично більш сприятливим чинником для них є наявність у пухлині більшої кількості

апоптичних клітин. Виявлена залежність дозволяє твердити, що величина спонтанного АІ при будь-якій гістоструктурі пухлини може слугувати незалежним фактором прогнозу перебігу хвороби.

Водночас різний зв'язок між АІ й прогнозом перебігу захворювання у пацієнтів з різною морфологічною структурою свідчить як про складність патогенезу пухлинного росту та різноманітність механізмів, що сприяють апоптозу, так і про індивідуальні коливання АІ в межах однієї нозологічної одиниці. Щодо досліджуваної нами проблеми в літературі існують суперечливі дані. Частина авторів, які наводять результати кращої виживаності хворих з аденокарциномою шийки матки при високому АІ, пояснюють цю залежність кращою оксигенацією новоутворів даного типу. При плоскоклітинному РШМ більше виражена гіпоксія пухлини і, як наслідок, більший АІ, пов'язаний з гіршою виживаністю [4, 8]. Отримані нами дані про різний зв'язок між показниками спонтанного апоптозу і прогнозом перебігу хвороби у пацієнтів з різною гістоструктурою пухлини, на нашу думку, можна пояснити лише з урахуванням факторів лікування. Оскільки спонтанний апоптоз, за даними багатьох авторів, має прямо пропорційну залежність від процесу проліферації в новоутворі [6, 9, 11], то логічним видається пояснення даного взаємозв'язку лише для хворих з плоскоклітинним раком. Зокрема, при меншому АІ пухлина має меншу проліферативну активність, тобто є більш диференційованою. В свою чергу, більш диференційований РШМ має менш агресивний перебіг, тобто й кращий прогноз. Втім наведені дані можуть пояснити лише частину явища, оскільки вони враховують лише частину вихідних біологічних особливостей пухлини, і не зважають на вплив терапевтичного чинника, роль якого в ефективності лікування й, відповідно, прогнозі, надзвичайно велика [3, 5, 7].

Поряд з цим наведене пояснення зв'язку між величиною спонтанного АІ і прогнозом плоскоклітинного РШМ суперечить нашим даним про ефективність лікування хворих з аденокарциномою шийки матки. Ймовірно, що у випадках залозистого раку при оцінці прогнозу за-

хворювання дані АІ слід також інтерпретувати з урахуванням інших показників, зокрема терапевтичного фактора й показника індукованого апоптозу, що вимагає подальших досліджень.

ВИСНОВКИ

1. Показник спонтанного апоптозу в пухлині хворих на РШМ можна застосовувати як прогностичний критерій упродовж хвороби лише з урахуванням гістологічної структури новоутвору.

2. У хворих з плоскоклітинним раком менший ПСА в пухлині становить критерій більш сприятливого перебігу захворювання.

Література

1. Шалимов С.А., Федоренко З.П., Гулак Л.О. // *Онкол.* — 2001. — № 2-3. — С. 91-95.
2. Козаченко В.П. // *Гинекол.* — 2000. — Т. 2, № 2. — С. 1-6.
3. Kokawa K., Shikone T., Otani T., Nakano R. // *Cancer.* — 1999. — Vol. 85, № 8. — P. 1799-1809.
4. Акимов А.А., Иванов С.Д., Хансон К.П. // *Вопр. онкол.* — 2003. — Т. 49, № 3. — С. 261-269.
5. Абраменко И.В., Фильченков А.А. // *Там же.* — № 1. — С. 21-30.
6. Dyson N., Baiman A. // *Current opinion in genetics and development.* — 1999. — Vol. 9. — P. 11-14.
7. Levine E.L., Renehan A., Gossiel R. et al. // *Radiother Oncol.* — 1995. — Vol. 37, № 1. — P. 1-9.
8. Абросимов А.Ю. // *Вопр. онкол.* — 2002. — Т. 48, № 4. — С. 515-525.
9. Новожилова А.П., Плужников Н.Н., Новиков В.С. и др. *Программированная клеточная гибель.* — СПб: Наука, 1996. — 276 с.
10. Киселева М.В. *Оптимизация внутриволостной лучевой терапии рака шейки матки: Автореф. ... дис. д-ра мед. наук.* — Обнинск, 2001.
11. Sheets E.E., Yeh J. // *Ann. Med.* — 1997. — Vol. 29, № 2. — P. 121-126.
12. Allen S., Sotos J., Sytle M.J. et al. // 2001. — Vol. 8, № 2. — P. 460-464.

Надходження до редакції 25.05.2004.

Прийнято 25.11.2004.

Адреса для листування:

Карташов Сергій Михайлович,
вул. Гвардійців-Широнінців, 61а, кв. 246, Харків, 61070,
Україна