УДК 618.146-006.6-076/078-085.849

Тюєва Н. В.,
к. мед. н., доцент, Одеський Національний медичний університет, м. Одеса, Україна

ОЦІНКА ВПЛИВУ ПРОЛІФЕРАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ ПУХЛИНИ НА РЕЗУЛЬТАТИ ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ МІСЦЕВО ПОШИРЕНОГО РАКУ ШИЙКИ МАТКИ

Проаналізовано дані обстеження та лікування 55 хворих з раком шийки матки ІІБ-ІІІ стадії, що отримували поєднану променеву терапію. Виконувалась біопсія шийки матки до початку лікування та після сумарної дози 20 Гр. Проводили гістологічне та імуногістохімічне дослідження з метою визначення проліферативної активності пухлини (антигена Ki-67). Оцінено результати лікування після завершення радикального курсу променевої терапії. Співставлено результати лікування з вихідним рівнем Ki-67 та його змінами в динаміці.

Ключові слова: *рак шийки матки; променева терапія; індекс проліферації.*

Рак шийки матки (РШМ) посідає 3-тє місце серед різних типів раку в жінок. В Україні захворюваність на РШМ складає 17,2 % на 100 тисяч населення, при цьому лідерами за цим показником є південні регіони (Одеська, Миколаївська, Херсонська області) (Федоренко З. П., 2008). Наявна чітка негативна тенденція до зростання місцево поширених форм захворювання, до яких відносяться IIb-III стадії процесу, а також їх збільшення серед жінок віком молодше 35 років [1-3].

Основним методом лікування місцево поширеного раку шийки матки (МПРШМ) є поєднана променева терапія (ПТ), що в тих чи інших варіантах застосовується більш ніж у 82 % хворих [4; 5]. Незважаючи на удосконалення радіологічного обладнання, дозиметричного забезпечення, віддалені результати лікування залишаються незадовільними, в 27-42 % випадків після ПТ спостерігається прогресування (рецидивування) злоякісного процесу. За даними літератури, 5-річне виживання при II стадії складає 65-69 %, при III стадії – 40-43 % [1-4]. Такі результати вимагають необхідність виявлення факторів несприятливого прогнозу та відбору хворих, що вимагають більш агресивного лікування.

Чутливість пухлини до цитотоксичного впливу залежить від її морфології, об'єму, особливостей васкулярізації та інших чинників. Останніми роками з метою оцінки агресивного потенціалу пухлини все частіше вдаються до визначення імуногістохімічних маркерів, що має за мету оцінку чутливості пухлини до терапії та індивідуалізацію останньої [5; 6].

Одним з показників агресивності пухлини є клітинна проліферація, що оцінюється за допомогою мітотичного індексу та індексу Ki-67. Останній є ядерним антигеном, що експресується у всіх фазах клітинного циклу, за винятком G0 та ранніх стадій фази G1. Проліферативний індекс за різних локалізацій пухлини є незалежним прогностичним показником виникнення рецидиву, загального та безрецидивного виживання, а також фактором, що допомагає передбачити чутливість до хіміо- та променевої терапії [5; 6].

На сьогодні відсутній єдиний погляд на прогностичну роль проліферативної активності плоскоклітинних пухлин щодо їх радіочутливості. Окремі автори вказують, що плоскоклітинний РШМ з початково високим індексом проліферації активніше реагує на ПТ, що супроводжується покращенням показників локальної відповіді, загального 5-річного та безрецидив-ного виживання [7; 8], що пов'язують з більш високою радіочутливістю клітин, що активно діляться. Поряд з цим існують роботи, що демонструють відсутність достовірної кореляції між проліферативною активністю РШМ (індексом Ki-67) та відповіддю на ПТ [9; 10].

Мета дослідження – оцінити проліферативну активність плоскоклітинного раку шийки матки у співставленні з клініко-морфологічними характеристиками пухлини та її радіобіологічними властивостями, що впливають на безпосередні результати променевої терапії.

Завдання дослідження:

– визначити рівень експресії маркерів Ki-67 до початку лікування та в ході проведення поєднаної променевої терапії раку шийки матки;

– співставити вихідний рівень маркера зі стадією поширення пухлини та ступенем її диференціювання;

– співставити вихідні та проміжні рівні маркеру та безпосередні результати поєднаної променевої терапії раку шийки матки.

Матеріали та методи.

Виконано аналіз клінічних даних обстеження та лікування 55 хворих з місцево поширеним раком шийки матки, що отримували поєднану ПТ за існуючими клінічними рекомендаціями [11; 12]. Усім хворим виконано біопсію шийки матки до початку лікування та в процесі ПТ до досягнення сумарної

осередкової дози (СОД) від дистанційної променевої терапії (ДПТ) на весь таз 20 Гр за умов класичного фракціювання з разовою осередковою дозою (РОД) 2 Гр. Усім хворим проведено радикальний курс поєднаної ПТ, сумарні поглинені дози від ДПТ та брахітерапії в пухлині складали 75-85 Гр; в зонах регіонарних лімфатичних вузлів – 52-54 Гр.

Методи дослідження – клініко-інструментальні, лабораторні, статистичний аналіз.

Зразки пухлин фіксували в нейтральному забуференому формаліні й після проводки заливали в парафін. Гістологічні зрізи забарвлювали звичайними способами та проводили імуногістохімічне виявлення антигена Ki-67 за допомогою моноклональних антитіл (фірма «DAKO», Данія). Позитивним результатом імуногістохімічної реакції була наявність специфічного забарвлення ядер пухлинних клітин за виявлення антигена Ki-67. Підрахунки індексу Ki-67 проводили за допомогою світового мікроскопа «Leica» при аналізі 1000 клітин з використанням імерсійного об'єктива (х100). Індекс Ki-67 обчислювали як співвідношення клітин, які експресують антиген, до загальної кількості клітин, що виражене у відсотках.

За статистичної обробки результатів дослідження розраховували показники середніх величин з їхніми похибками. Для порівняння достовірності різниці між середніми величинами використовували критерій Ст'юдента. Результати вважали достовірними за рівня значимості $p < 0,05$. Для статистичної обробки матеріалу було використано стандартний пакет прикладних програм Statistica 6.0 for Windows та Excel.

Результати дослідження та обговорення

Середній вік пацієнток складав 53,2 ± 1,2 роки (від 25 до 76 років). За стадіями хворі розподілились таким чином: IIb стадія була у 35 (63,6 %) хворих, III – у 20 (36,4 %) пацієнток. Переважно плоскоклітинний високодиференційований (G1) рак виявлено у 18 (32,7 %) жінок, у 29 (52,7 %) хворих діагностовано плоскоклітинний помірнодиференційований рак (G2), низькодиференційований (G3) рак зустрічався у 8 (14,5 %) пацієнток. Оцінку ефективності запровадженої терапії здійснювали за критеріями, що ухвалено ВООЗ, на підставі бімануального, ультразвукового обстеження хворих, комп'ютерної (магніто-резонансної) томографії в динаміці з визначенням розмірів первинної пухлини, шийки матки, параметральних інфільтратів, тазових лімфовузлів [13].

Оцінка ефективності проводилась за такою градацією:

– повна регресія – зникнення всіх ознак пухлинного процесу;

– часткова регресія визначалась як 50 % або більше зменшення пухлини за відсутності прогресування інших осередків;

– стабілізація – зменшення об'єму пухлини менш ніж на 50 % за відсутності нових уражень, чи збільшення не більше ніж на 25 %.

У 37 (67,2 %) хворих після завершення ПТ діагностовано повний регрес пухлини, у 13 (23,6 %) пацієнток спостерігався частковий регрес і у 5 (9,1 %) зберігались ознаки пухлини. Клініко-морфологічну характеристику хворих та безпосередній клінічний ефект ПТ представлено в таблиці 1.

Таблиця 1

Розподіл хворих за клініко-морфологічними ознаками та безпосереднім клінічним ефектом променевої терапії

Клініко-морфологічний показник	Кількість хворих n (%)
IIB стадія	35 (63,6 %)
III стадія	20 (36,4 %)
Ступінь диференціювання пухлини:	
G1	18 (32,7 %)
G2	29 (52,7 %)
G3	8 (14,5 %)
безпосередній ефект ПТ:	
– повний регрес пухлини	37 (67,2 %)
– частковий регрес пухлини	13 (23,6 %)
– стабілізація	5 (9,1 %)

Під час оцінювання променевого патоморфозу в ході ПТ у 39 (70,9 %) хворих із місцево поширеним РШМ відмічено морфологічні зміни у вигляді підвищення ступеня диференціювання пухлини, зростання ядерного поліморфізму пухлини, збільшення частки патологічних мітозів, наявності некротичних змін. У 16 (29,1 %) пацієнток були відсутні чіткі зміни на гістологічному рівні під час повторної біопсії.

Індекс Ki-67 є оптимальним маркером проліферації, що відображає розмір проліферативного пула пухлини. Перед початком лікування середнє значення індексу Ki-67 складало 47,3 % ± 4,2 %. У процесі лікування середнє значення Ki-67 зменшилось до 22,6 % ± 4,9 % ($p < 0,05$).

Індекс проліферативної активності для плоскоклітинного високодиференційованого раку складав у середньому 41,6 ± 5,3 %, для РШМ помірного ступеня диференціювання середнє значення індексу проліферації склало 53,5 ± 4,2 %. У низькодиференційованих пухлинах середній показник проліферативної активності склав 63,7 ± 9,7 %. Незважаючи на зростання індексу Ki-67 зі зниженням ступеня диференціювання пухлини, ця різниця виявилась статистично недостовірною ($p > 0,05$). Поряд з цим вплив ПТ на зниження проліферативної активності протягом опромінення був статистично достовірним незалежно від ступеня диференціювання пухлини (табл. 2).

Таблиця 2

Індекс Ki-67 (%) за різного ступеня диференціювання РШМ до початку та в процесі ПТ

Ступінь диференціювання пухлини	Індекс Ki-67до лікування M ± m, %	Індекс Ki-67 в ході ПТ M ± m, %
G1 (n = 18)	41,6 ± 5,3	21,3 ± 5,5*
G2 (n = 29)	53,5 ± 4,2	23,4 ± 4,9*
G3 (n = 8)	63,7 ± 9,7	20,3 ± 7,5*

Примітка: * – різниця достовірна (p < 0, 05).

Виявлено залежність рівня індексу проліферації пухлини від стадії захворювання (табл. 3). Так, при IIb стадії раку шийки матки середнє значення Ki-67 склало 41,7 ± 4,8 %, при III стадії – 60,3 ± 3,9 % (p < 0, 05). Зниження проліферативної активності в процесі лікування також було статистично достовірним (p < 0,05).

Таблиця 3

Індекс Ki-67 (%) за різних стадій захворювання до початку та в процесі лікування

Стадія	Індекс Ki-67до лікування M ± m, %	Індекс Ki-67 в процесі ПТ M ± m, %
IIb (n = 35)	41,7 ± 4,8	26,3 ± 4,6*
III (n = 20)	60,3 ± 5,9	28,8 ± 5,6*

Примітка: * – різниця достовірна (p < 0, 05).

Індекс проліферації Ki-67 достовірно корелював з безпосереднім ефектом ПТ (табл. 4). Для 37 пацієнток, в яких після спеціального лікування діагностовано повну регресію пухлини, індекс Ki-67 до початку ПТ в середньому складав 44,7 ± 4,5 %. У процесі лікування експресія Ki-67 у цих хворих знижувалась більше ніж у 2 рази, до 21,3 ± 4,2 % відповідно. Менш виражений темп регресії спостерігався в пацієнток з частковою регресією пухлини, де значення Ki-67 склали 63,2 ± 7,1 % на початку лікування проти 53,3 ± 7,2 % у процесі опромінення. У групі хворих зі стабілізацією процесу початковий рівень індексу Ki-67 у середньому складав 68,7 ± 4,3 % та в ході лікування знижувався до 59,3 ± 4,5.

Таблиця 4

Індекс Ki-67 (%) та безпосередній ефект лікування РШМ

Безпосередній ефект лікування	Індекс Ki-67до лікування M ± m, %	Індекс Ki-67 в ході ПТ M ± m, %
Повний регрес пухлини (n = 37)	44,7 ± 4,5	21,3 ± 4,2
Частковий регрес пухлини (n = 13)	63,2% ± 7,1	53,3% ± 7,2
Стабілізація (n = 5)	68,7% ± 4,3	59,3 ± 4,5

Примітка: * – різниця достовірна (p < 0, 05).

Отримані результати демонструють більшу прогностичну значимість визначення рівня проліферативної активності за індексом Ki-67 до початку лікування. Проліферативна активність клітин пухлини вважається показником її агресивності, оскільки пов'язана з прогресією пухлини (Пожарисский К. М., Леенман Е. Е., 2000). Оцінка зміни рівня проліферації в ході променевої терапії допоможе передбачити можливий результат лікування (Nacano T. et al., 1997, Oka K. et al., 1996) й відокремити групу хворих з несприятливим прогнозом.

Висновки

1. Плоскоклітинний рак шийки матки характеризується високою проліферативною активністю. Індекс Ki-67 до початку променевої терапії склав 47,3 ± 4,2 %. Опромінення дозою 20 Гр призвело до зменшення індексу проліферації до 22,6 ± 4,9 % (p < 0,05).

2. Рівень проліферації плоскоклітинного раку шийки матки залежить від стадії захворювання: при IIb стадії індекс Ki-67 дорівнює 41,7 ± 4,8 %, а за III стадії зростає до 60,3 ± 5,9 % (p < 0,05).

3. Безпосередній ефект променевої терапії зумовлюється вихідним рівнем проліферативної активності та ступенем її зниження під час лікування. За низького значення індексу Ki-67 (44,7 ± 4,5 %) спостерігається більш сприятливий результат у вигляді повної регресії пухлини, ніж за високих (68,7 ± 4,3 %) стартових показників (p < 0,05).

ЛІТЕРАТУРА

1. Аксель Е. М. Статистика злокачественных новообразований женских половых органов / Е. М. Аксель // Клиническая онкогинекология : руководство для врачей / под ред. Козаченко В. П. – М. : ОАО «Издательство Медицина», 2005. – 376 с.
2. Levi F. Cervical cancer mortality in young women in Europe: patterns and trends / F. Levi, F. Lucchini, E. Negri et al. // Eur. J. Cancer. – 2000. – Vol. 36. – № 117. – P. 2266–2271.
3. Федоренко З. П. Рак в Україні, 2005–2006. Захворюваність, смертність, виживаність, показники діяльності онкологічної служби. Бюл. Нац канцер-реєстру України / З. П. Федоренко, Л. О. Гулак, Є. Л. Горох [та ін.]. – Київ, 2007 (8). – 97 с.
4. Крикунова Л. И. Рак шейки матки / Л. И. Крикунова, Л. С. Мкртчан, Н. И. Шентерева и др. // Терапевтическая радіологія : руководство для врачей / под ред. А. Ф. Циба, Ю. С. Мардынского. − М. : ООО «МК», 2010. − С. 369–378.
5. Марьина Л. А. Рак шейки и тела матки / Л. А. Марьина, В. Н. Чехонадский, М. И. Нечушкин, М. В. Киселева. – М. :

Медицина, 2008. – 144 с.
6. Кузнецова М. Е. Иммуногистохимические маркеры в качестве прогностических критериев в онкогинекологии / Пожарисский К. М., Винокуров В. Л., Жаринов Г. М., Кузнецова М. Е. [и др.] // Вопр.онкол. – 2008. – Т. 54, № 4. – С. 463–470.
7. Ancuţa E. Tumor biomarkers in cervical cancer: focus on Ki-67 proliferation factor and E-cadherin expression // E. Ancuţa, C. Ancuţa, L. Cozma et al. // Romanian Journal of Morphology and Embryology. – 2009. – № 50(3). – P. 413–418.
8. Eralp Y. Prognostic factors and survival in patients with metastatic or recurrent carcinoma of the cervix / Y. Eralp, P. Saip,
9. B. Sakar, et al. // Int J Gynecol Cancer. – 2003. – № 13. – P. 497–504.
10. Hirakawa M. Predictive factor of distant recurrence in locally advanced squamous cell carcinoma of the cervix treated with concurrent chemoradiotherapy / M. Hirakawa, Y. Nagai, M. Inamine, et al. // Gynecol Oncol. – 2008. – № 108(1). – P. 126–129.
11. Lindstrom A. Predicting the outcome of squamous cell carcinoma of the uterine cervix using combinations of individual tumor marker expressions / A. Lindstrom, U. Stendahl, T. Tot, et al. // Anticancer Res. – 2007. – № 27(3B). – P. 1609–1615.
12. Стандарти діагностики і лікування онкологічних хворих: затверджено наказом Міністерства охорони здоров'я України «Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «онкологія» від 17.09.2007 № 554. – К., 2007. – 200 с.
13. Beyzadeoglu M. Basic Radiation Oncology / M. Beyzadeoglu, G. Ozyigyt, C. Ebruli-Berlin. – Springer, 2010. –576 p.
14. Тюєва Н. В. Комплексний моніторинг резорбції пухлин шийки матки протягом поєднаної променевої терапії / Н. В. Тюєва, Л. П. Антонова, В. Т. Стоян, С. П. Дідорчук // Український радіологічний журнал. – 2012. – № 2. – С. 216–218.

Н. В. Тюева,
Одесский Национальный медицинский университет, г. Одесса, Украина

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ОПУХОЛИ НА РЕЗУЛЬТАТЫ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ МЕСТНО РАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

Проанализированы данные обследования и лечения 55 больных с раком шейки матки IIБ-III стадии, получавших сочетанную лучевую терапию. Выполнялась биопсия шейки матки до начала лечения и после суммарной дозы 20 Гр. Проводили гистологическое и иммуногистохимическое исследование с целью определения пролиферативной активности опухоли (антигена Ki-67). Оценены результаты лечения после завершения радикального курса лучевой терапии. Сопоставлены результаты лечения с исходным уровнем Ki-67 и его изменениями в динамике. Индекс Ki-67 до начала лучевой терапии составил 47,3 ± 4,2 %.

Ключевые слова: *рак шейки матки; лучевая терапия; индекс пролиферации.*

N. V. Tiuieva,
Odessa National medical university, Odessa, Ukraine

INFLUENCE OF TUMOR CELLS PROLIFERATIVE ACTIVITY ON RADIOTHERAPY RESULTS FOR LOCALLY ADVANCED CERVICAL CARCINOMA

Aggressive tumor potential recently assessed by immunohistochemical markers, including proliferative activity index Ki-67. No single point of view on the predictive role of this marker in the prognosis of locally advanced cervical cancer. Purpose – to evaluate the proliferative activity of squamous cell carcinoma of the cervix, compare it with the clinical and morphological and radiobiological features of tumor and the results of radiotherapy. Materials and methods. Evaluation and treatment of 55 patients with cervical cancer IIB-III stage treated with radiation therapy was done. Cervical biopsy was performed before treatment and after a total dose of 20 Gy to the whole pelvis (single dose of 2 Gy). Histological and immunohistochemical study performed to determine the proliferative activity of the tumor (Ki-67 antigen). Results of treatment after the radical course of radiotherapy (75-85 Gy to the tumor, 52-54 Gy to the pelvic lymph nodes) were evaluated. Tumor regression on clinical and instrumental data (ultrasound, CT, MRI) compared with baseline Ki-67 and its changes over time. The Results. Squamous cell carcinoma of the cervix has a high proliferative activity. Ki-67 index before radiotherapy was 47,3 ± 4,2 %. The irradiation dose of 20 Gy resulted in a decrease in proliferation index to 22,6 + 4,9 % ($p < 0,05$). At stage IIb Ki-67 index is 41,7 + 4,8 % and in stage III increased to 60,3 + 5,9 % ($p < 0,05$). The immediate effect of radiation therapy depends on the initial level of proliferative activity and the level of its reduction during treatment. At low baseline values of Ki-67 index (44,7 + 4,5 %) were observed more favorable results in the form of complete tumor regression than at high (68,7 + 4,3%) ($p < 0,05$).

Keywords: *cervical cancer; radiation therapy; proliferation index.*

Рецензенти: ***Хворостенко М. І.,*** д. мед. н., професор;
Рожковська Г. М., к. мед. н., доцент.

© Тюєва Н. В., 2014

Дата надходження статті до редколегії 29.11.2014