

ОНКОЛОГІЯ

УДК 616-006.5/.6+618.146-006]-079.4-091.8

*Ю.А. Винник, Е.А. Ключко, В.В. Гаргин***Харьковская медицинская академия последипломного образования
*Харьковский национальный медицинский университет***ПОСЛЕДСТВИЯ НЕОАДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ
МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ШЕЙКИ МАТКИ**

Изучены последствия применения неоадьювантной химиолучевой терапии при лечении местно-распространенного рака шейки матки путем оценки морфологических изменений в ткани опухоли. Выявлены и доказаны признаки выраженного патоморфоза ткани опухоли при проведении неоадьювантной химиолучевой терапии. При изучении показателей пролиферативного потенциала по уровню экспрессии Ki-67 было установлено его снижение по сравнению с таковым при применении изолированных лучевой и химиотерапии. Также при проведении неоадьювантной химиолучевой терапии наблюдается наиболее выраженное снижение экспрессии bcl-2 по сравнению с другими видами лечения.

Ключевые слова: шейка матки, рак, морфология, пролиферация

Лечение местно-распространенного рака шейки матки (МРРШМ) вызывает существенные трудности [1]. Метод и планирование лечения рака шейки матки (РШМ) должны определяться стадией, размером, глубиной инвазии и дифференцировкой опухоли, вариантом местного регионарного распространения, возрастом пациентки и наличием сопутствующей патологии [2]. Стандартом лечения МРРШМ является комбинированное и комплексное, с применением хирургического, лучевого лечения и химиотерапии. В последние годы большинство рандомизированных исследований посвящены изучению эффективности и поиску вариантов химиолучевого лечения МРРШМ [1, 3]. Однако сохраняется спорный вопрос о целесообразности применения неоадьювантной и адьювантной химиотерапии РШМ. Применение химиопрепаратов в любых схемах, где они используются, как самостоятельный компонент позволяет повысить эффективность лечения [4]. Однако при этом повышается их гематологическая и гастроинтестинальная токсичность, что сопровождается

увеличением частоты и степени тяжести побочных эффектов от проведенного лечения. Лучевая терапия как самостоятельный метод не всегда обеспечивает лечебный патоморфоз. В связи с этим использование химиопрепаратов как радиомодификаторов имеет значительные перспективы в лучевом лечении больных РШМ. В таких схемах дозы цитостатиков значительно меньше, чем при проведении полноценной химиотерапии, но они усиливают действие лучевой терапии [4]. Кроме того, противоопухолевые препараты имеют также цитостатический эффект не только на первичную опухоль, но и на ее метастазы.

При анализе отечественной и зарубежной литературы показано, что многие вопросы, касающиеся лечения МРРШМ, остаются недостаточно изученными, ведется постоянный поиск новых методов лечения и сохраняется дискуссия между онкогинекологами, химиотерапевтами и радиологами. В связи с изложенным целью нашего исследования явилось изучение последствий применения неоадьювантной химиолучевой терапии

© Ю.А. Винник, Е.А. Ключко, В.В. Гаргин, 2015

при лечении местно-распространенного рака шейки матки путем оценки морфологических изменений в ткани опухоли.

Материал и методы. Данное исследование основано на анализе тканевых изменений в результате лечения больных с подтвержденным диагнозом РШМ T1b2–2bN0–1M0 стадий в возрасте от 26 до 62 лет (в среднем 33,7 года), находившихся на лечении в онкогинекологическом отделении ХОКОЦ в период с 2013 по 2015 год. Пациентки были разделены на три группы. Первую основную группу составили 25 больных, которым на 1-м этапе предоперационно был проведен 1 курс полихимиотерапии препаратами «Цисплатин» и «Паклитаксел» с последующей лучевой терапией. Вторую основную группу составили 30 больных, которым на 1-м этапе предоперационно была проведена химиорадиомодификация (паклитаксел и карбоплатин) на фоне лучевой терапии (группа неoadъювантной химиолучевой терапии). Третья группа – сравнения – представлена 20 больными, которым перед операцией была проведена только лучевая терапия.

Материалом для исследования послужила ткань шейки матки с гистологически подтвержденным РШМ [5]. В работе использовали классификации РШМ по стадиям (FIGO, 2009) и распространенности опухолевого процесса (TNM, 2010). В каждом случае ткань представлена состоянием до начала лечения (биопсийный материал, диатермоэлектроэксцизия) и после лечения (операционный материал, проведение расширенной экстирпации матки с придатками по Вертгейму).

Помимо изучения препаратов, рутинно окрашенных гематоксилином и эозином, ставили иммуногистохимическую реакцию [6] для изучения интенсивности экспрессии белков Ki-67, bc-l2, оценка которой основывалась на интенсивности окрашивания и распределении иммуноположительных клеток согласно рекомендациям авторов [7, 8] по шкале: «–» – экспрессия отсутствует; «+» – слабая экспрессия; «++» – умеренная; «+++» – интенсивное окрашивание.

По экспрессии Ki-67 определяли индекс пролиферативной активности (ИПА) в 4–9 случайных полях зрения на большом увеличении микроскопа (объектив ×40), где подсчитывали общее количество опухолевых

клеток (не менее 1000) и количество иммуноположительных клеток к Ki-67 с последующим вычислением их процентного соотношения.

Результаты и их обсуждение. «Паклитаксел» является достаточно новым препаратом в лечении РШМ. Он стимулирует сборку микротрубочек из димеров тубулина, стабилизирует микротрубочки вследствие угнетения их деполимеризации, что приводит к подавлению нормального процесса динамической реорганизации сети микротрубочек, который важен для клеточных функций. Кроме того, паклитаксел индуцирует образование аномальных скоплений, или «связок» микротрубочек на протяжении клеточного цикла и вызывает образование множественных «звезд» микротрубочек во время митоза. Также он блокирует делящиеся клетки в G2- и M-фазах митоза, т. е. в наиболее чувствительной фазе клеточного цикла. Блокирует процесс деления клетки и повреждает ее цитоскелет, что приводит к нарушению подвижности, внутриклеточного транспорта и передачи трансмембранных сигналов.

При анализе гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, установлено, что во всех группах происходит тканевая реакция в ответ на проводимую лучевую терапию, химиотерапию или их комбинацию. В исследуемых группах выявляются обширные поля некроза, резко выраженные дистрофические изменения опухолевых клеток. В группе сравнения отмечается появление очагов некроза и дистрофические изменения клеток опухоли. При проведении иммуногистохимической реакции выявлено, что перед началом выбранной терапии выраженная экспрессия Ki-67 имела место у всех больных, а ИПА колебался от 7,31 до 93,4 % и составил в среднем 47,4 %. При этом в пластах околоопухолевой ткани выявляются диспластически измененные клетки с ядрами, положительно реагирующими на Ki-67 во всех, преимущественно наружных, слоях эпителия; интенсивность реакции была умеренной и высокой. В некоторых случаях клетки базального слоя были Ki-67-отрицательными. При этом по мере перехода эпителия в опухоль клетки с положительной ядерной реакцией к Ki-67 преимущественно высокой интенсивности

выявлялись во всех слоях эпителиального пласта шейки матки. В зонах, подозрительных на наличие микроинвазии, почти все ядра клеток были Ki-67-положительными с высокой интенсивностью реакции.

Локализация и интенсивность иммуногистохимической реакции к Ki-67 в участках инвазивного роста варьируют в зависимости от степени дифференцировки. Так, в неороговевающем раке положительная ядерная реакция к Ki-67 выявлялась в большинстве клеток без определенной закономерности, тогда как в ороговевающем раке в центральных отделах ороговевания Ki-67-положительные клетки чередовались с Ki-67-отрицательными.

Снижение пролиферативной активности в процессе облучения (группа сравнения) было статистически достоверным вне зависимости от гистологического типа опухоли. Средний показатель ИПА составил 40,31 %. При этом снижение пролиферативной активности по ходу лечения было статистически достоверным ($p < 0,01$). При анализе ответа опухоли в зависимости от возраста больных при МРРШМ достоверных различий выявлено не было ($p > 0,05$).

Еще более выраженное снижение пролиферативной активности опухоли выявлено во второй группе больных, получавших неоадьювантную химиолучевую терапию. При этом показатель ИПА составил 24,72 % и статистически достоверно отличался не только от исходного уровня, но и от такового у больных группы сравнения, получавших только лучевую терапию ($p < 0,05$). В этой группе также не было выявлено достоверных отличий при попытке анализа ответа опухоли в зависимости от возраста ($p > 0,05$). Указанные изменения экспрессии Ki-67 можно рассматривать как положительный признак лечебного патоморфоза [9, 10].

Во всех группах индекс пролиферации Ki-67 коррелировал с непосредственным эффектом лучевой или химиолучевой терапии. У больных с первичным клиническим излечением индекс пролиферации был достоверно ниже, чем у тех пациенток, у которых непосредственный эффект лечения оценивали как улучшение или без эффекта ($p < 0,01$).

Активность пролиферативных процессов в опухоли также оказывала влияние на продолжительность безрецидивного периода у больных РШМ. Средняя продолжительность

безрецидивного периода составила в группе сравнения ($14,8 \pm 2,9$) месяца, в первой основной группе ($19,4 \pm 2,8$) месяца, во второй – ($24,6 \pm 3,4$) мес.

Показатели безрецидивной выживаемости были выше во второй основной группе больных. Частота рецидивов в группе сравнения была достоверно выше, чем в основных группах ($p < 0,01$). Во всех случаях отмечается корреляция экспрессии Ki-67 с клиническим эффектом, наблюдаемым у больных МРРШМ после лечения. Показатели общей выживаемости у больных МРРШМ с низкой экспрессией Ki-67 статистически значимо превышают аналогичные у больных МРРШМ с высоким уровнем экспрессии Ki-67 ($p < 0,05$) во всех группах.

При анализе экспрессии антиапоптозного белка bcl-2 во всех образцах шейки матки, полученных от пациенток с МРРШМ, показано, что bcl-2-положительными были только 29,0 % больных МРРШМ, что свидетельствует о том, что повышение экспрессии bcl-2, возможно, играет роль не во всех типах РШМ и указывает на разнообразие путей опосредованного апоптозом блокирования пролиферации трансформированных клеток эпителия шейки матки. После лечения наиболее выраженное снижение экспрессии bcl-2 наблюдалось в группе больных, получавших неоадьювантную химиолучевую терапию (на 9,4 % по сравнению с показателем больных группы сравнения и на 6,7 % по сравнению с данными первой основной группы).

Выводы

В исследовании выявлены и доказаны признаки выраженного патоморфоза ткани опухоли при проведении неоадьювантной химиолучевой терапии. Так, при изучении показателей пролиферативного потенциала по уровню экспрессии Ki-67 было установлено его снижение при проведении неоадьювантной химиолучевой терапии по сравнению с таковым при применении лучевой терапии, традиционной химиотерапии. Также при проведении неоадьювантной химиолучевой терапии наблюдается наиболее выраженное снижение экспрессии bcl-2 по сравнению с другими видами лечения.

Перспектива дальнейших исследований состоит в определении взаимосвязи выявленных изменений с прогнозом наличия рецидивов и выживаемости больных.

Список литературы

1. Чуруксаева О. Н. Неoadъювантная химиотерапия при лечении местно-распространенного рака шейки матки / О. Н. Чуруксаева, Л. А. Коломиец // Сибирский онкологический журнал. – 2013. – № 2 (56). – С. 18–24.
2. A phase II randomized trial comparing radiotherapy with concurrent weekly cisplatin or weekly paclitaxel in patients with advanced cervical cancer / F. B. Geara, A. Shamseddine, A. Khalil [et al.] // Radiat. Oncol. – 2010. – V. 5. – P. 84.
3. Efficacy in high burden locally advanced cervical cancer with concurrent gemcitabine and cisplatin chemoradiotherapy plus adjuvant gemcitabine and cisplatin: prognostic and predictive factors and the impact of disease stage on outcomes from a prospective randomized phase III trial / A. Duenas-Gonzalez, M. Orlando, Y. Zhou [et al.] // Gynecol. Oncol. – 2012. – V. 126, № 3. – P. 334–340.
4. Concurrent cisplatin-based radiotherapy and chemotherapy for locally advanced cervical cancer / P. G. Rose, B. N. Bundy, E. B. Watkins [et al.] // N. Engl. J. Med. – 1999. – V. 340, № 15. – P. 1144–1153.
5. Международная гистологическая классификация опухолей. Гистологическая классификация опухолей женского полового тракта. – Женева, 1994.
6. Петров С. В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / С. В. Петров, Н. Т. Райхлин. – Казань, 2004. – 288 с.
7. Дорохова О. В. Діагностичне та прогностичне значення експресії маркерів при диспластичних та непластичних процесах шийки матки (імуноморфологічні аспекти) : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.02 «Патологічна анатомія» / О. В. Дорохова. – Дніпропетровськ, 2007. – 20 с.
8. Dabbs D. J. Diagnostic immunohistochemistry / D. J. Dabbs – Churchill Livingstone, 2006. – 828 p.
9. Brown D. C. Ki-67 protein: the immaculate deception? / D. C. Brown, K. C. Gatter // Histopathology. – 2002. – V. 40. – P. 2–11.
10. Ki-67 antigen staining as an adjunct to identifying cervical intraepithelial neoplasia / C. J. Dunton, K. H. Van Hoesven, A. J. Kovatich [et al.] // Gynecol. Oncol. – 1997. – V. 64. – P. 451–455.

Ю.О. Вінник, К.О. Ключко, В.В. Гаргін

НАСЛІДКИ НЕОАД'ЮВАНТНОЇ ХІМІОПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ МІСЦЕВО-РОЗПОВСЮДЖЕНОГО РАКУ ШИЙКИ МАТКИ

Вивчено наслідки застосування неoad'ювантної хіміопроменевої терапії при лікуванні місцево-розповсюдженого раку шийки матки шляхом оцінювання морфологічних змін у тканині пухлини. Виявлено й доведено ознаки значного патоморфозу тканини пухлини при проведенні неoad'ювантної хіміопроменевої терапії. При вивченні показників проліферативного потенціалу за рівнем експресії Ki-67 було встановлено його зниження в порівнянні з таким при застосуванні ізольованих променевої і хіміотерапії. Також при проведенні неoad'ювантної хіміопроменевої терапії спостерігається найбільш виражене зниження експресії bcl-2 у порівнянні з іншими видами лікування.

Ключові слова: шийка матки, рак, морфологія, проліферація.

Yu.A. Vinnik, E.A. Klyuchko, V.V. Gargin

NEOADJUVANT CHEMORADIOTHERAPY CONSEQUENCES FOR LOCALLY ADVANCED CERVICAL CANCER

The effects of neoadjuvant chemoradiotherapy in the treatment of locally advanced cervical cancer by evaluating the morphological changes in the neoplastic tissue have been studied. Revealed and proved the signs expressed pathomorphism tumor tissue during neoadjuvant chemoradiotherapy. The study of proliferative potential indicators of the level of expression of Ki-67 was found to its decline as compared to isolated radiotherapy and chemotherapy. Also during neoadjuvant chemoradiotherapy seen the most pronounced decrease in expression of bcl-2, compared with other treatments.

Keywords: cervix, cancer, morphology, proliferation.

Поступила 29.09.15