

С.М. Карташов  
Г.Ж. Удербаяева  
О.А. Белодед

Харьковская медицинская  
академия последипломного  
образования

Харьковский областной  
клинический онкологический  
диспансер, Харьков, Украина

**Ключевые слова:** рак шейки  
матки, апоптоз, длительность  
ремиссии, фактор прогноза.

## АПОПТОТИЧЕСКИЙ ИНДЕКС В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ РАКОМ ШЕЙКИ МАТКИ

**Резюме.** Изучали показатели спонтанного и индуцированного (после лучевой или химиолучевой терапии) апоптоза в первичной опухоли и длительность ремиссии у 58 больных аденокарциномой и плоскоклеточным раком шейки матки I–III стадии. Количество клеток с характерной морфологией подсчитывали с применением флуоресцентного микроскопа. Установлено, что показатель спонтанного апоптоза в опухоли можно использовать в качестве прогностического критерия течения заболевания только с учетом гистологической структуры новообразования. У больных плоскоклеточным раком более низкий показатель спонтанного апоптоза в опухоли является более благоприятным критерием. Показатель индуцированного апоптоза можно использовать в качестве критерия, позволяющего оценить эффективность лучевой или химиолучевой терапии, а также фактора прогноза заболевания.

### ВВЕДЕНИЕ

Рак шейки матки (РШМ) является одной из наиболее распространенных форм новообразований [1, 2]. В сложной проблеме РШМ одно из ключевых положений занимает направление, связанное с повышением эффективности лечения при инвазивных формах заболевания [2, 3]. При лечении пациенток с инвазивным РШМ терапевтические методы используют в 90% случаев [4].

Доказано, что рост опухоли является результатом дисбаланса между пролиферацией клеток и апоптозом [5]. Экспериментально и клинически установлено, что при РШМ лучевая терапия (ЛТ) и некоторые химиопрепараты могут повышать чувствительность опухолевых клеток к апоптотическому действию многих эндогенных и экзогенных факторов [6, 7]. В этой связи представляет интерес возможность использования показателей апоптоза не только для диагностики РШМ, но и с целью оценки эффективности лечения, а также для определения прогноза заболевания [8, 9]. Однако многие клинические вопросы данной проблемы находятся на начальном этапе изучения [10, 11]. Для решения указанной проблемы актуальным считается изучение апоптотического индекса (АИ) до начала и в процессе лечения с целью установления взаимосвязи между данным показателем и гистологической структурой опухоли, эффективностью лечения, а также другими основными клиническими и прогностическими факторами [12–14].

Цель исследования — выявить возможную корреляцию между показателями спонтанного и индуцированного апоптоза в первичной опухоли и длительностью ремиссии у больных с аденокарциномой и плоскоклеточным РШМ, получавших лучевую или химиолучевую терапию.

### ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 58 больных в возрасте 36–55 лет с РШМ I–III (T1b–2NxM0–T3NxM0) стадии. У всех больных выявлена эпителиальная морфологическая структура опухоли. Изучали показатели спонтанного и индуцированного апоптоза в опухоли в зависимости от ее гистологической структуры, распространенности процесса и эффективности лечения. Показатель спонтанного апоптоза определяли в образцах опухолевой ткани до лечения, а показатель индуцированного апоптоза — в опухоли после ЛТ в дозе 20 Гр. Критерием оценки эффективности лечения больных была длительность ремиссии, составившая более или менее 24 мес. Все обследованные больные получали ЛТ и химиолучевую терапию. ЛТ у 29 больных включала сочетанную дистанционную гамма-терапию + внутриматочное облучение с использованием стандартных режимов фракционирования до получения суммарных очаговых доз, в зависимости от стадии, в точке А — 75–90 Гр, в точке В — 45–55 Гр. У 29 больных ЛТ была дополнена химиотерапией (цисплатин — в дозе 75 мг/м<sup>2</sup> площади тела; 5-фторурацил — 1000 мг/м<sup>2</sup>).

Для выявления апоптотических клеток исследуемый материал, забор которого производили путем соскоба с опухолевой ткани, равномерно наносили на покровное стекло. Мазки промывали фосфатно-солевым буфером (рН 7,0) и фиксировали 4% параформальдегидом, окраску производили в течение 20 мин красителем Hoechst 33342 (5 мг/мл) при комнатной температуре. Долю клеток с характерной для апоптоза морфологией (ядерная конденсация, ДНК-деградация и др.) оценивали при помощи флуоресцентного микроскопа [15]. Результат выражали в процентном соотношении клеток, то есть показатель АИ соответ-

ствовал количеству клеток, находящихся в состоянии апоптоза, из 100 исследованных опухолевых клеток.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенного нами исследования представлены в таблице. Оценивая связь между индексом спонтанного апоптоза и прогнозом течения заболевания у больных с плоскоклеточным РШМ, установили, что показатель апоптоза оказался достоверно выше у больных с длительностью ремиссии менее 24 мес. Показатель апоптоза, индуцированного терапевтическим воздействием, также оказался выше в группе больных с меньшей длительностью ремиссии.

При анализе результатов лечения в группе больных с процессом T1b-2NxM0 установлена такая же зависимость, как и в общей группе больных с плоскоклеточным РШМ. Однако незначительное количество больных с длительностью ремиссии менее 24 мес не позволяет считать статистически достоверной разницу в показателях АИ у больных с разной длительностью ремиссии. Показатель индуцированного апоптоза также оказался выше ( $p > 0,05$ ) у больных с меньшей длительностью ремиссии. В группе больных с длительностью ремиссии менее 24 мес показатель индуцированного апоптоза оказался выше такового у больных с большей длительностью ремиссии в 1,31 раза (по сравнению с 1,14 раза в общей группе больных с плоскоклеточным раком).

При оценке течения заболевания в группе больных с T3NxM0 также отмечен лучший прогноз у больных с меньшим АИ ( $p > 0,05$ ). Однако в отличие от группы больных, у которых раковый процесс был менее распространен (T1b-2NxM0), показатели спонтанного апоптоза у больных с процессом T3NxM0 значительно ниже и меньше различались между группами с разной длительностью ремиссии. В частности, у больных с длительностью ремиссии менее 24 мес АИ был выше в 1,34 раза (по сравнению с 1,89 у больных с T1b-2NxM0). Показатель индуцированного апоптоза оказался в 1,08 раза выше у больных с длительностью ремиссии менее 24 мес.

При оценке связи между показателем апоптоза и течением заболевания у больных с аденокарциномой шейки матки выявлен ряд противоположных тенденций. В частности, независимо от распространенности процесса, показатель спонтанного апоптоза в опухоли в группе больных с большой длительностью ремиссии был выше в 1,31 раза ( $p > 0,05$ ) по сравнению с таковым в группе пациентов с худшим результатом лечения. Аналогичная зависимость прослеживается и в группах больных, выделенных согласно распространенности процесса. Так, в группе со стадией заболевания T1b-2NxM0 у больных, имеющих лучшие результаты лечения, АИ также оказался выше — в 1,33 раза ( $p > 0,05$ ). По мере увеличения распространенности процесса (стадия T3NxM0) выявленная тенденция сохраняется: в группе больных с длительностью ремис-

сии более 24 мес показатель спонтанного апоптоза оказался выше в 1,26 раза ( $p > 0,05$ ).

Таблица

Показатели спонтанного и индуцированного апоптоза у больных РШМ в зависимости от гистоструктуры опухоли, распространенности процесса и длительности ремиссии

Гистоструктура опухоли	Стадия заболевания	Показатели спонтанного и индуцированного апоптоза, (%)	
		длительность ремиссии более 24 мес	длительность ремиссии менее 24 мес
Плоскоклеточный рак	T1b-2NxM0 n = 32	3,53 ± 0,18 6,52 ± 0,35 n = 29	6,67 ± 1,98 8,51 ± 2,62 n = 3
	T3NxM0 n = 12	2,96 ± 0,31 5,15 ± 0,50 n = 9	3,98 ± 1,07 5,57 ± 1,59 n = 3
	Всего n = 44	3,41 ± 0,15 6,18 ± 0,31 n = 38	5,33 ± 0,92* 7,04 ± 1,08 n = 6
Аденокарцинома	T1b-2NxM0 n = 9	5,38 ± 1,03 7,50 ± 0,79 n = 7	4,04 ± 1,52 5,02 ± 1,83 n = 2
	T3NxM0 n = 5	5,07 ± 1,59 6,23 ± 1,81 n = 3	4,02 ± 1,51 4,64 ± 1,65 n = 2
	Всего n = 14	5,29 ± 0,72 7,12 ± 0,67 n = 10	4,03 ± 1,32 4,83 ± 1,39 n = 4
<b>Всего</b>	<b>T1b-3NxM0 n = 58</b>	<b>3,80 ± 0,16 6,38 ± 0,32 n = 48</b>	<b>4,81 ± 0,75 6,16 ± 0,52 n = 10</b>

Примечание. \* $p < 0,05$  — различия показателей между группами с разной длительностью ремиссии статистически достоверны.

При анализе результатов лечения больных с аденокарциномой шейки матки без учета распространенности процесса установлено, что показатель индуцированного апоптоза имеет четкую тенденцию к повышению в группе больных с большей длительностью ремиссии. Причем следует отметить, что различия показателей индуцированного апоптоза в исследуемых группах больных более значительные (в 1,47 раза больше в группе больных с длительностью ремиссии более 24 мес).

При оценке эффективности лечения больных с учетом стадии заболевания установлено, что в группе больных с процессом T1b-2NxM0 показатель индуцированного апоптоза оказался в 1,49 раза выше у больных с длительностью ремиссии более 24 мес. В группе больных с процессом T3NxM0 в исследуемых показателях отмечены те же тенденции, однако по мере увеличения распространенности процесса различие показателей индуцированного апоптоза у больных с разной длительностью ремиссии уменьшается (соотношение показателей 1,34 при T3NxM0 и 1,49 — при T1b-2NxM0).

При оценке связи длительности ремиссии и показателя спонтанного апоптоза, без учета морфологической структуры опухоли, отмечена следующая зависимость. У больных с длительностью ремиссии более 24 мес АИ был ниже по сравнению с таковым у больных, у которых отмечена меньшая длительность ремиссии. Такая же зависимость была установлена нами у больных с плоскоклеточным РШМ. Однако выявленную в общей группе больных зависимость между индексом спонтанного апоптоза и течением

заболевания можно объяснить именно тем, что абсолютное большинство (75,8%) составляли больные плоскоклеточным раком. Показатель индуцированного апоптоза оказался лишь незначительно выше у больных с большей длительностью ремиссии. Учитывая, что у пациентов с плоскоклеточным раком и аденокарциномой шейки матки выявлена разная связь абсолютных показателей индуцированного апоптоза с длительностью ремиссии, а различия между соответствующими показателями у больных с разным течением заболевания уменьшались, прогностическая ценность данного показателя нивелировалась.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о наличии связи между показателем спонтанного апоптоза в опухоли и прогнозом заболевания. Такая корреляция установлена с учетом как гистологической структуры новообразования, так и распространенности процесса. Причем у больных выявлен ряд принципиальных особенностей, которые позволяют говорить о существенных биологических отличиях, влияющих на течение и прогноз заболевания, в новообразованиях шейки матки, имеющих разную морфологическую структуру. В частности, это касается процесса спонтанного апоптоза в опухоли. Установлено, что для больных с плоскоклеточным РШМ наличие меньшего показателя спонтанного апоптоза в опухоли является прогностически более благоприятным. В то же время у больных с железистым РШМ обнаружена обратная зависимость: прогностически более благоприятным является наличие в опухоли большего количества апоптотических клеток. Поскольку спонтанный апоптоз, по данным многих авторов, коррелирует с процессом пролиферации в новообразовании [5, 8, 9], то логичным представляется объяснение данной взаимосвязи только для больных с плоскоклеточным раком. В частности, при более низком АИ опухоль обладает меньшей пролиферативной активностью, то есть является более дифференцированной. В свою очередь более дифференцированный РШМ характеризуется менее агрессивным течением, а следовательно — лучшим прогнозом.

Полученные нами данные также свидетельствуют о том, что показатель индуцированного апоптоза является позитивным фактором, указывающим как на лучшее течение заболевания, так и на хороший ответ на проводимые терапевтические мероприятия. Следует отметить, что с повышением стадии заболевания различие показателей индуцированного апоптоза между группами больных с разной длительностью ремиссии уменьшается. Кроме того, индукция апоптоза является фактором чувствительности опухоли к терапевтическому воздействию: чем чувствительнее опухоль оказывается к ЛТ (химиолучевой терапии), тем в большей степени повышается показатель спонтанного апоптоза. Вместе с тем по выраженности индукции апоптоза можно косвенно судить о степени автономности РШМ, поскольку незначительное повышение показателя спонтанного апоптоза, согласно данным литературы, не является достоверным

критерием резистентности новообразования [7, 12]. Это связано с тем, что после терапевтического воздействия на опухоль гибель раковых клеток происходит не только за счет апоптоза, но и некроза. Последнее явление чаще происходит в низкодифференцированных опухолях, которые и имеют плохой прогноз течения заболевания [11, 16]. Эти результаты не противоречат полученным нами данным, а также свидетельствуют о том, что показатели апоптоза характеризуют одну из сторон биологических особенностей данного типа новообразования.

Подытоживая полученные данные, можно сделать следующее заключение: показатель спонтанного апоптоза в опухоли больных РШМ можно использовать как прогностический критерий течения заболевания только с учетом гистологической структуры новообразования. В частности, у больных с плоскоклеточным раком более низкий показатель спонтанного апоптоза в опухоли является критерием более благоприятного течения заболевания. Показатели индуцированного и спонтанного апоптоза в совокупности позволяют оценить эффективность методов лечения, а также могут использоваться как прогностические факторы. В частности, лучший прогноз и более высокая эффективность терапевтических воздействий выявлены в тех случаях плоскоклеточного рака аденокарциномы шейки матки, для которых характерны более высокие показатели индуцированного апоптоза.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Новик В.И. Эпидемиология рака шейки матки, факторы риска, скрининг. *Практ онкол* 2002; 3 (3): 156–65.
2. Воробьева Л.И., Жилка Н.Я. Анализ деятельности онкогинекологической службы Украины в 2002 году. Министерство здравоохранения Украины. Киев, 2003: 14 с.
3. Шалимов С.А., Федоренко З.П., Гулак Л.О. Структура заболеваемости населения Украины злокачественными новообразованиями. *Онкология* 2001; 2–3: 91–5.
4. Козаченко В.П. Рак шейки матки. *Гинекология* 2000; 2 (2): 1–6.
5. Новожилова А.П., Плужников Н.Н., Новиков В.С. и др. Программированная клеточная гибель. СПб, 1996: 276 с.
6. Kokawa K, Shikone T, Otani T, Nakano R. Apoptosis and the expression of Bax and bcl-2 in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the uterine cervix. *Cancer* 1999; 85 (8): 1799–809.
7. Акимов А.А., Иванов С.Д., Хансон К.П. Апоптоз и лучевая терапия злокачественных новообразований. *Вопр онкологии* 2003; 49 (3): 261–9.
8. Абраменко И.В., Фильченков А.А. Оценка параметров апоптоза в диагностике онкологических заболеваний, их прогнозе и оптимизации схем терапии. *Вопр онкологии* 2003; 49 (1): 21–30.
9. Dyson N, Baiman A. Oncogenes and cell proliferation. *Current opinion in genetics and development*. 1999; 9: 11–4.
10. Levine EL, Renehan A, Gossiel R, et al. Apoptosis, intrinsic radiosensitivity and prediction of radiotherapy response in cervical carcinoma. *Radiother Oncol* 1995; 37 (1): 1–9.
11. Абросимов А.Ю. Спонтанная и индуцированная облучением гибель опухолевых клеток. *Вопр онкологии* 2002; 48 (4): 515–25.
12. Sheets EE, Yeh J. The role of apoptosis in gynaecological malignancies. *Ann Med* 1997; 29 (2): 121–6.

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

13. Лукьянова НЮ, Кулик ГИ, Чехун ВФ. Роль генов p53 и bcl-2 в апоптозе и лекарственной резистентности опухолей. *Вопр онкологии* 2000; 46 (2): 121–8.

14. Ueda M, Kumagai K, Ueki K, *et al.* Growth inhibition and apoptotic cell death in uterine cervical carcinoma cells induced by 5-fluorouracil. *Int J Cancer* 1997; 71 (4): 668–74.

15. Allen S, Sotos J, Sytle MJ, *et al.* Clinical and diagnostic laboratory immunology 2001; 8 (2): 460–4.

16. Ермакова НА. Роль химиотерапии на различных этапах лечения рака шейки матки. *Практ онкология* 2002; 3 (3): 211–9.

### **АПОПТИК ИНДЕКС В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ЦЕРВИКАЛЬНОГО РАКА**

*S.M. Kartashov, G.Z. Uderbaeva, O.A. Beloded*

**Summary.** *The duration of remission and indices of spontaneous and induced (after radiation and chemoradiation therapy) apoptosis were studied in primary tumors of 58 patients with adenocarcinoma or epidermoid cervical*

*carcinoma of stages I to III. The number of cells with a typical morphology was calculated with the help of a fluorescence microscope. It is shown that the index of spontaneous apoptosis cannot be used as a prognostic criterion unless the histological structure of the neoplasm is taken into account. In patients with epidermoid carcinoma, a lower spontaneous apoptosis index in the tumor is a more favorable criterion. The induced apoptosis index may be used as a criterion that helps assess the efficacy of radiation and chemoradiation therapy, as well as a prognostic factor.*

**Key Words:** cervical carcinoma, apoptosis, duration of remission, prognostic factor.

#### **Адрес для переписки:**

Карташов С.М.

61153, Харьков,

ул. Гвардейцев Широнинцев, 61А, кв. 246