

С.М. Карташов,
Г.Ж. Удербаєва,
О.О. Белодєд,
М.Ю. Шалькова

Харківська медична академія
післядипломної освіти,
Харківський обласний
клінічний онкологічний
диспансер

Дослідження апоптозу в хворих на рак шийки матки в залежності від поширеності процесу й виду лікування

Apoptosis investigation in patients with cervical
cancer depending of the process dissemination
and the type of treatment

Цель работы: Изучить спонтанный и индуцированный апоптоз в первичной опухоли больных раком шейки матки (РШМ) в зависимости от распространенности процесса и терапевтического воздействия.

Материалы и методы: Обследовано 110 больных РШМ 0–III (Tis–T3) стадий и с рецидивом заболевания. Изучали показатель спонтанного апоптоза; у 84 пациентов также изучен индуцированный апоптоз в зависимости от вида терапевтического воздействия (лучевой терапии и химиолучевого лечения). Количество клеток с характерной для апоптоза морфологией подсчитывали с использованием флуоресцентного микроскопа.

Результаты: Спонтанный апоптозный индекс (АИ) у больных РШМ возрастает по мере увеличения стадии заболевания, а начиная со стадии процесса, соответствующего T3, и у больных с рецидивом заболевания показатель снижается, однако остается достоверно выше контроля. Использование терапевтического воздействия индуцирует апоптоз в первичной опухоли больных РШМ, причем коэффициент индукции зависит от вида воздействия. Так, использование химиолучевого лечения (20 Гр + химиотерапия — цисплатин 75 мг/м²; 5-фторурацил 1000 мг/м²) позволяет индуцировать апоптоз в большей степени, по сравнению с использованием только лучевой терапии (20 Гр). При рецидиве заболевания лучевая терапия в дозе 20 Гр практически не увеличивает показатель спонтанного апоптоза и только химиолучевое воздействие на опухоль способствует незначительной индукции АИ.

Выводы: Коэффициент индукции апоптоза в первичной опухоли больных РШМ, так же, как и спонтанный АИ, зависит от распространенности процесса. Однако, в отличие от АИ, коэффициент индукции по мере увеличения стадии заболевания снижается.

Ключевые слова: рак шейки матки, апоптоз, стадия заболевания, терапия.

Objective: To study spontaneous and induced apoptosis in the primary tumor in cervical cancer (CC) depending on the process dissemination and therapeutic measures.

Material and Methods: The study involves 110 patients with stage 0–III CC (Tis–T3) and the disease relapses. Spontaneous apoptosis was studied. In 84 patients induced apoptosis was investigated depending on the type of treatment (radiation and chemoradiation therapy). The number of cells with characteristic morphology was calculated using a fluorescent microscope.

Results: Spontaneous apoptosis index (AI) in CC increased with the stage of the disease, beginning from T3 stage and in patients with relapses this parameter decreased significantly but remained higher than the reference values. Application of therapeutic measures induced apoptosis in the primary tumor in CC, induction coefficient depending on the treatment modality. Thus, the use of chemoradiation therapy (20 Gy + chemotherapy - cisplatin 75 mg/m²; 5-fluorouracil 1000 mg/m²) allowed to induce higher degree of apoptosis when compared with radiation therapy (20 Gy) only. In relapses, radiation therapy at a dose of 20 Gy did not increase the parameters of spontaneous apoptosis and only chemoradiation therapy provided inconiderable AI induction.

Conclusion: Apoptosis induction coefficient in the primary tumor of CC patients as well as spontaneous AI depend on the process dissemination. In contrast to AI, induction coefficient decreased with the stage of the disease.

Key words: cervical cancer, apoptosis, stage of the disease, therapy.

Рак шийки матки (РШМ) досі залишається однією з найпоширеніших форм новоутворів [1], а показник захворюваності в Україні в жінок молодого віку зростає [2]. Відсутність надійних критеріїв прогнозу РШМ до початку лікування й безпосередньо в процесі його проведення є однією з причин, які гальмують підвищення ефективності променевої (ПТ) й хемотерапії (ХТ) хворих [3, 4]. Оскільки зростання пухлини є результатом дисбалансу між проліферацією клітин та апоптозом, клінічно цікавою видається можливість застосувати показники апоптозу в процесах діагностики, оцінки ефективності лікування РШМ й прогнозування захворювання [5, 6]. Встановлено, що ПТ та деякі цитостатики — 5-фторурацил, доксорубіцин, цисплатин можуть підвищувати чутливість пухлинних клітин при РШМ до апоптичної дії багатьох ендогенних та екзогенних чинників [7, 8].

Експериментальні дані показали, що всі опромінені клітини мають вихідну здатність до загибелі, але яким шляхом переважно це відбуватиметься (через апоптоз та/або некроз), істотно залежить від генотипу клітини й терапевтичного впливу. В клініці в хворих на РШМ актуальним є пошук додаткових терапевтичних факторів, які дозволяють досягти максимального лікувального ефекту не лише за рахунок прямої ушкоджувальної дії на пухлину, але й у результаті переведення резистентних пухлинних клітин в апоптично чутливу фракцію. Для цього необхідне вивчення апоптичного індексу (АІ) впродовж лікування й визначення взаємозв'язку між поширеністю процесу й застосованим впливом (ПТ, ХТ, хемопроменева терапія) [3, 9].

Мета дослідження — вивчити спонтанний та індукований апоптоз у первинній пухлині хворих на РШМ в залежності від поширеності процесу й терапевтичного впливу.

Методика дослідження

Обстежено 110 хворих на РШМ 0–III (Tis–T3) стадій та із рецидивом захворювання. Вивчали показник спонтанного апоптозу. У 84 пацієнтів було досліджено також індукований апоптоз в залежності від виду терапевтичного впливу: ПТ та хемопроменевого лікування. Кількість клітин із характерною для апоптозу морфологією підраховували із застосуванням флуоресцентного мікроскопа.

Результати та їх обговорення

Спонтанний апоптозний індекс у хворих на РШМ збільшується зі зростанням стадії захворювання. Починаючи зі стадії процесу, відповідного T3, та в пацієнтів із рецидивом хвороби показник знижується, але залишається вірогідно вищим за контроль.

Застосування терапевтичних впливів індукує апоптоз у первинній пухлині хворих на РШМ, причому коефіцієнт індукції залежить від виду дії. Так, використання хемопроменевого лікування (20 Гр + ХТ — цисплатин 75 мг/м²; 5-фторурацил 1000 мг/м²) дозволяє індукувати апоптоз більше, ніж при застосуванні лише ПТ (20 Гр). У разі рецидиву захворювання ПТ в дозі 20 Гр практично не збільшує показник спонтанного апоптозу і тільки хемопроменевий вплив на пухлину сприяє незначній індукції апоптозного індексу.

Результат виражався у відсотковому співвідношенні клітин, тобто показник апоптотичного індексу (AI) відповідає кількості клітин, які перебувають у стані апоптозу, зі 100 досліджених пухлинних клітин.

Результати дослідження представлені в таблиці. Як можна побачити з наведених даних, спонтанний апоптоз залежав від поширеності процесу. Оцінка AI в досліджуваних групах свідчить про те, що при всіх стадіях хвороби показник апоптозу був вірогідно вищим порівняно з контролем (практично здоровими жінками).

Аналіз спонтанного апоптозу дозволяє відзначити кілька особливостей, пов'язаних із поширеністю процесу. По-перше, зі зростанням стадії захворювання простежується чітка тенденція до збільшення показника, який характеризує спонтанний апоптоз. Така залежність відзначається до групи хворих із процесом T2b. При подальшому зростанні поширення процесу (стадія T3) спонтанний AI децю знижується. Зменшення AI зареєстровано і в групі пацієнтів із рецидивом РШМ.

Оцінюючи спонтанний AI в залежності від поширення процесу, можна відзначити ще одну особливість. Так, хворих із різними стадіями захворювання можна розподілити на декілька груп з урахуванням показника, що характеризує спонтанний апоптоз. Зокрема, до першої групи відносимо хворих із Tis та T1a, при яких AI практично не відрізняється, але збільшується порівняно з контролем у 2,0 разу ($p < 0,01$).

До другої групи можна віднести хворих із РШМ T1b та T2a. При даних стадіях захворювання AI також практично не відрізняється, хоча й децю вищий при більш поширеному процесі — стадії T2a. В цій групі хворих AI був вищим порівняно з попередньою групою (Tis + T1a) в 1,9 разу ($p < 0,01$) та в 4,0 разу ($p < 0,01$) порівняно з контролем. Таке значне зростання досліджуваного показника є, ймовірно, одним із критеріїв переходу пухлинного процесу в шийці матки з малоагресивного до агресивного перебігу.

Це відповідає різкому збільшенню біологічної активності пухлинного процесу, що збігається в клініці з початком лімфогенного метастазування РШМ.

До третьої групи можна віднести хворих на РШМ із процесами T2b та T3, показники в яких також мало відрізнялися один від одного, але були значно вищими (в 1,4 разу, $p < 0,05$) порівняно з попередньою групою (T1b + T2a) хворих. У даній групі пацієнтів із РШМ відзначені найвищі показники спонтанного апоптозу.

До четвертої групи відносимо пацієнтів із рецидивом хвороби. Порівняно з попередньою групою хворих (T2b + T3) AI в даній групі знизився в 1,33 разу, $p < 0,05$.

Отже, виділені нами 4 групи хворих на РШМ на підставі значень показника, який характеризує спонтанний апоптоз, найімовірніше, відбивають загальнобіологічні закономірності, властиві прогресії РШМ.

Аналіз AI, індукованого ПТ, дозволяє відзначити деякі закономірності. По-перше, в усіх досліджених нами групах хворих застосування ПТ в дозі 20 Гр дозволяє збільшити апоптоз пухлинних клітин. Причому індукований променевою терапією апоптоз виявився значно вищим у первинній пухлині, порівняно з рецидивною. Крім того, показник індукованого апоптозу був вищим при тих стадіях, при яких вищим був показник спонтанного апоптозу —

Спонтанний та індукований апоптоз (апоптозний індекс) у хворих на РШМ в залежності від поширеності процесу й виду лікування
Spontaneous and induced apoptosis (apoptosis index) in CC patients depending on the process dissemination and the type of treatment

Стадія захворювання	Апоптозний індекс, %		
	до лікування	променева терапія (20 Гр)	хемопроменеве лікування (20 Гр + хемотерапія)
Контроль — здорові жінки (n = 15)	0,90 ± 0,09	—	—
Tis (n = 14)	2,00 ± 0,28**	—	—
T1a (n = 12)	1,80 ± 0,31**	—	—
T1b (n = 15)	3,50 ± 0,58**	5,30 ± 1,01 (n = 7)	6,30 ± 1,12* (n = 8)
T2a (n = 12)	3,70 ± 0,67**	5,20 ± 1,27 (n = 5)	6,30 ± 1,09*1 (n = 7)
T2b (n = 14)	5,20 ± 0,63**	7,30 ± 1,32 (n = 7)	7,60 ± 1,39 (n = 7)
T3 (n = 17)	4,90 ± 0,44**	6,40 ± 0,88 (n = 10)	6,30 ± 1,01 (n = 7)
Рецидив захворювання (n = 26)	3,80 ± 0,23**	4,00 ± 0,31 (n = 11)	4,40 ± 0,33 (n = 15)

Примітка: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$. Відмінності статистично вірогідні порівняно з контролем або між обстежуваними групами.

у пацієнтів із процесом, що відповідає T2b і T3. Втім, якщо оцінювати індукований апоптоз у порівнянні зі спонтанним AI, то відзначається така залежність: зі зростанням поширеності процесу коефіцієнт індукції апоптозу знижується.

Так, найбільше зростання індукованого AI зареєстровано в хворих на РШМ T1b (в 1,51 разу), а найменший коефіцієнт індукції — в групі хворих T3 (в 1,31 разу). В групі хворих із рецидивом захворювання ПТТ в дозі 20 Гр дозволила лише незначно збільшити показник апоптозу (в 1,05 разу).

Оцінюючи AI, індукований хемопроменевою терапією, слід відзначити ті ж закономірності, що були виявлені при індукції апоптозу ПТТ. Найвищі абсолютні показники індукованого апоптозу виявлені в групі хворих (T2b), де було відзначено найвищий показник спонтанного апоптозу. Крім того, із поширенням процесу коефіцієнт індукції апоптозу зменшується, а найбільший коефіцієнт відзначений у пацієнтів із РШМ T1b (в 1,8 разу, $p < 0,05$). Проте застосування хемопроменевої терапії, порівняно з ПТТ, дозволило індукувати спонтанний апоптоз в більшому ступені в усіх досліджених групах хворих, за винятком пацієнтів зі стадією T3.

ВИСНОВКИ

1. Спонтанний апоптозний індекс у хворих на РШМ зростає зі збільшенням стадії захворювання, а починаючи зі стадії процесу, який відповідає T3, та в хворих із рецидивом хвороби

показник знижується, однак залишається вірогідно вищим, ніж у контролі.

2. Застосування терапевтичних впливів індукує апоптоз в первинній пухлині хворих на РШМ, причому коефіцієнт індукції залежить від виду впливу. Так, використання хемопроменевого лікування дозволяє індукувати апоптоз у більшому ступені, порівняно із застосуванням тільки ПТТ.

3. Коефіцієнт індукції апоптозу, так само, як і спонтанний AI, залежить від поширеності процесу. Однак, на відміну від AI, коефіцієнт індукції зі збільшенням стадії захворювання знижується.

Література

1. Новик В.И. // *Практ. онкол.* — 2002. — Т. 3, № 3. — С. 156–165.
2. Воробьева Л.И., Жилка Н.Я. *Анализ деятельности онкогинекологической службы Украины в 2002 году. МОЗ Украины.* — К., 2003. — 14 с.
3. Акимов А.А., Иванов С.Д., Хансон К.П. // *Вопр. онкол.* — 2003. — Т. 49, № 3. — С. 261–269.
4. Kokawa K., Shikone T., Otani T., Nakano R. // *Cancer.* — 1999. — Vol. 85, № 8. — P. 1799–1809.
5. Лукьянова Н.Ю., Кулик Г.И., Чехун В.Ф. // *Вопр. онкол.* — 2000. — Т. 46, № 2. — С. 121–128.
6. Ueda M., Kumagai K., Ueki K. et al. // *Int. J. Cancer.* — 1997. — Vol. 71, № 4. — P. 668–674.
7. Абраменко И.В., Фильченков А.А. // *Вопр. онкол.* — 2003. — Т. 49, № 1. — С. 21–30.
8. Sheets E.E., Yeh J. // *Ann. Med.* — 1997. — Vol. 29, № 2. — P. 121–126.
9. Ермакова Н.А. // *Практ. онкол.* — 2002. — Т. 3, № 3. — С. 211–219.

Надходження до редакції 12.02.2004.

Прийнято 17.06.2004.

Адреса для листування:

Карташов Сергій Михайлович,
вул. Гвардійців-Широнінців, 61 а, кв. 246, Харків, 61000,
Україна