

ВИЗНАЧЕННЯ АГРЕСИВНОСТІ ПУХЛИНИ – ДОДАТКОВИЙ МЕТОД ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ РАКУ ШИЙКИ МАТКИ

В.С. Іванкова, Т.М. Нестеренко, Т.М. Храновська, Л.М. Барановська, Т.В. Хруленко
Національний інститут раку, м. Київ

Підвищений інтерес вітчизняних і зарубіжних дослідників до проблеми раку шийки матки (РШМ) пояснюється, насамперед, незадовільними результатами лікування, особливо місцевопоширених форм хвороби і високим рівнем захворюваності. Серед жінок працездатного віку РШМ посідає одне з перших місць за рівнем летальності [5, 6]. Незважаючи на поліпшення стану діагностики РШМ і використання для цього найсучасніших методів, в Україні у 2014 році діагностовано 5500 нових випадків цієї патології. За даними Національного канцер-реєстру, захворюваність на РШМ становила 22,5 на 100 тис. жіночого населення. Переважно, у 40% жінок захворювання реєструється в занедбаних стадіях, у зв'язку з чим 19% пацієнок не переживають і одного року [8]. РШМ — одна з найбільш поширених злоякісних пухлин жіночої репродуктивної системи. За показником смертності ця патологія посідає друге місце серед онкологічних захворювань жінок, поступаючиє першості раку грудної залози. Згідно з даними Міжнародної агенції з вивчення проблем раку, співвідношення смертність/захворюваність РШМ становить близько 55% [7, 9]. Комбіноване та променево лікування є основними засобами лікувального впливу на РШМ. У більшості випадків поєднана променево терапія (ППТ) є єдиною можливим засобом радикального терапевтичного впливу на місцевопоширені форми РШМ (МП РШМ). Ефективність подібного лікування не є задовільною — 5-річна виживаність хворих за даними різних авторів, коливається в межах 27-42% [3, 9].

Перспективним підходом до підвищення ефективності лікування хворих на РШМ є втілення в клінічну практику хіміотерапії (ХТ) у поєднанні з променевою терапією (ПТ) і/чи хірургічним лікуванням. Подібний підхід має ряд теоретичних обґрунтувань [3, 10, 11, 16]. Протипухлинні препарати підсилюють променево ушкодження пухлинних клітин за рахунок порушення механізму репарації ДНК, синхронізації переходу пухлинних клітин у фази клітинного циклу, найбільш чутливі до променевого ушкодження, що призводить до зменшення числа пухлинних клітин, які перебувають у фазі спокою, а також мають можливість девіталізувати резистентні до опромінення пухлинні клітини [3, 10, 11, 16].

Окрім того, самі протипухлинні препарати володіють цитотоксичним ефектом не тільки щодо первинної пухлини і регіонарних метастазів, але і спроможні діяти на віддалені метастази. Пухлина може бути більш хіміочутлива перед ПТ або оперативним

втручанням, і зменшення об'єму пухлини за рахунок ХТ буде збільшувати ефективність ПТ або сприяти підвищенню можливості видалення пухлини. Використання неoad'ювантної ХТ знижує ризик інтраопераційної дисемінації пухлинних клітин [12–14].

Проведені рандомізовані клінічні дослідження виявили синергізм антипроліферативної дії таких протипухлинних препаратів, як похідних платини. За даними багатьох авторів, поєднання опромінення з цитотоксичною дією препаратів фторпіримідинового ряду створює додаткові, ще недостатньо вивчені, циторедуктивні ефекти [2, 15].

Визначення відповіді солідних пухлин у процесі ПТ чи хіміопроменевої терапії (ХПТ) дотепер є достатньо проблематичним і потребує уточнення, особливо щодо можливості прогнозу чутливості місцевопоширених карцином шийки матки до антинеопластичних впливів та ефективності лікування на субклітинному рівні. Перспективним у цьому сенсі є дослідження плідності ДНК та кінетичних параметрів пухлинного процесу за допомогою методу лазерної ДНК-проточної цитофлуориметрії (ПЦР). Визначення цих прогностичних параметрів у хворих на МП РШМ до та в процесі лікування є важливим етапом під час вибору тактики консервативної терапії та оцінки її ефективності.

Матеріали та методи

З метою посилення деструктивного локорегіонального впливу на пухлину у відділенні радіаційної онкології Національного інституту раку розроблені технології ХПТ хворих на МП РШМ з використанням ППТ та хіміорадіомодифікаторів (фторафур, цисплатин, гідроксисечовина) [1, 4].

У результаті дослідження були сформовані 3 основні групи (69 пацієнок), що отримували ХПТ за розробленими методами, і 1 контрольна група (18 хворих), що отримувала ППТ без застосування радіомодифікаторів.

Вік пацієнок коливався від 20 до 74 років і в середньому становив $(54,9 \pm 6,7)$ років. У репродуктивному віці перебувало 25 (28,7%) хворих, із них 10 (11,5%) пацієнок – віком до 35 років. У дослідження були включені пацієнти з морфологічною ідентифікацією РШМ за відсутності попереднього спеціалізованого РШМ і протипоказань до ПТ та ХПТ.

Що стосується гістологічних форм, то у 69 (79,3%) хворих ідентифіковано епідермоїдний рак різного ступеня диференціації; у 4 (4,6%) – світлоклітинний

РШМ; у 14 (16,1%) хворих виявлені пухлини аденогенного походження. Змішаний характер росту пухлин шийки матки діагностовано у всіх хворих. Переважали екзо-ендофітні пухлини з вираженим екзофітним компонентом епідермоїдного походження низького ступеня диференціації – 44 (50,6%) хворих. МП РШМ змішаного характеру з більш вираженим ендофітним компонентом діагностовано у 41 (47,1%) хворої, з них у 26 (30,0%) мав місце епідермоїдний рак. У 14 з числа цих хворих (16,1%) виявлено низькодиференційовані карциноми, у 12 (13,7%) хворих ступінь диференціації не визначено, рак аденогенного походження – в 11 (12,6%). У 8 (5,3%) хворих мали місце недиференційовані карциноми шийки матки.

З метою визначення поширеності пухлинного процесу, його індивідуальних параметрів та інших факторів прогнозу перед початком лікування пацієнтам проводили комплексне обстеження, яке включало ультрасонографічне обстеження, комп'ютерну томографію (КТ) та/чи магнітно-резонансне (МРТ) обстеження малого таза і завершувалось визначенням індексу ДНК та її плоідності, вмісту анеуплоїдних клітин та клітин у G0/1, S, G2, M-фазах клітинного циклу методом лазерної ДНК-ПЦР за матеріалом біопсій шийки матки.

За допомогою ультразвукового дослідження (УЗД) одержували загальні візуальні критерії злоякісного процесу у шийці матки – збільшення її розмірів, зниження ехогенності, неоднорідність ехоструктури, нерівність, бугристість контурів, відсутність чітких меж шийки матки, переривчастість та/або потовщення цервікального каналу.

Додаткову інформацію щодо особливостей васкуляризації шийки матки за кількістю кольорових локусів на одиницю площини отримували при доплерівському картуванні. Застосування доплерівських методик УЗД дозволяє оцінити стан судин шийки матки, їх розгалуженість, характер анастомозування.

Як уточнюючий метод обстеження застосовували КТ, за допомогою якої можна було також отримати більш вірогідну інформацію щодо стану лімфатичних вузлів малого таза та позаочеревинного простору.

Більш інформативною при дослідженні пухлин шийки матки, порівняно з УЗД і КТ, є МРТ ОМТ. Головна перевага методу – можливість візуалізації параметральних інфільтратів, інфільтрації зв'язкового апарату матки, включаючи інфільтрати, не доступні пальпації та іншим методам діагностики. Метод дає можливість діагностики метастатичного ураження лімфатичних вузлів. Діагностичні дослідження з додатковим контрастуванням застосовували лише після виконання нативних МРТ.

Перед лікуванням усім хворим проводилась топографічна підготовка та комп'ютерне планування ПТ. Сумарні осередкові дози (СОД) від ППТ становили 80–85 Гр у тт. А та 60–65 Гр. у тт. В. Залежно від методу ХПТ хворі на МП РШМ були розподілені на 3 основні групи:

1-а група (ППТ + цисплатин) представлена 23 хворими на МП РШМ ($T_{3B} N_{0-1} M_0$), яким проводили ППТ на тлі цисплатину у радіомодифікуючих дозах (50 мг – кожні 7 днів внутрішньовенно крапельно);

2-у групу (ППТ + фторафур) становили 26 хворих на РШМ $T_{3B} N_{0-1} M_0$, що упродовж ППТ отримували фторафур по 400 мг кожні 12 годин перорально;

3-я (основна) група (ППТ + гідроксисечовина) репрезентована 20 хворими на МП РШМ, які отримували ППТ на тлі гідроксисечовини по 40 мг/м² перорально кожну 3-ю добу, як зазначено вище.

До 4-й (контрольної) групи входило 18 хворих на МП РШМ, яким проводився курс ППТ за радикальною програмою. Радіомодифікуючі засоби у хворих 4-й групи не застосовувались.

Відповідь пухлин на цитотоксичну терапію за ступенем її регресії та динамікою молекулярно-генетичних показників оцінювали у процесі цитотоксичної терапії та безпосередньо по її завершенню. У разі необхідності проводили відповідну корекцію лікувальних заходів.

Регресію пухлин визначали співставленням динаміки клінічних показників з інформацією, отриманою за допомогою засобів візуалізації. Ступінь регресії пухлини оцінювали відповідно до критеріїв RECIST (1994 р.) за змінами найбільших розмірів первинного пухлинного вогнища.

Після лікування комплексне обстеження також завершувалось визначенням індексу ДНК клітин та їх плоідності за матеріалом біопсій шийки матки методом лазерної ДНК-ПЦР. Цитологічний контроль здійснювали при динамічному спостереженні за хворими після завершення консервативної терапії.

Результати та їх обговорення

Ефективність консервативної терапії хворих на МП РШМ визначали за ступенем і темпами регресії первинного пухлинного вогнища, динамікою показників ДНК-статусу пухлинних клонів та показниками їх проліферативної активності, а також наявності/відсутності токсичних проявів лікування. Моніторинг регресії пухлини здійснювали за критеріями, рекомендованими ВООЗ, тобто співставленням клінічних даних з інформацією, отриманою за допомогою сучасних засобів візуалізації (комплексне УЗД, МРТ, КТ).

Результати лікування оцінювали за допомогою динаміки клінічних показників, а також засобів візуалізації (комплексне сонографічне обстеження, КТ, МРТ). Позитивну динаміку пухлинного процесу у відповідь на цитотоксичну терапію оцінювали за зменшенням розмірів шийки матки, відновленням чіткості та рівності її контурів, включаючи цервікальний канал, нормалізацією ехоструктури.

Як додатковий критерій ефективності консервативного лікування МП РШМ використовували динаміку молекулярно-генетичних параметрів пухлини, отриманих за допомогою ПЦР. Результати ДНК-ПЦР характеризують динаміку плоідності пухлини та її проліферативний потенціал у процесі консервативного лікування хворих на МП РШМ і свідчать про більшу ефективність поєднаного впливу ПТ та радіомодифікаторів на поширені карциноми шийки матки. Була встановлена кореляція між динамікою молекулярно-генетичних показників МП РШМ і відповіддю пухлин шийки матки на консервативне лікування МП РШМ (табл. 1).

Моніторинг регресії утвору-мішені здійснювали безпосередньо після закінчення лікування та через 3 місяці потому, зважаючи на можливість відстроченого ефекту консервативної терапії. Результати представлені у табл. 2.

Одержані результати свідчать про збільшення ступеня та прискорення темпів регресії пухлинних утворів у хворих з МП РШМ основних груп, яким ППТ проводили на тлі хіміорадіомодифікуючих засобів.

Токсичність лікування оцінювали за класифікацією RTOG/EORTC (1995), що доповнена критеріями Кооперативної групи дослідників. Токсичних проявів лікування, що перевищували II ступінь токсичності, не спостерігалось. У трьох хворих з 3-ї (основної) групи (ППТ + гідроксисечовина) після I етапу лікування спостерігали прояви гематологічної токсичності III ступеня (зниження рівня гемоглобіну у периферичній крові до $Hg\ 71$ та 78 г/л; рівня лейкоцитів до $1,8 \times 10^9$ /л та $2,1 \times 10^9$ /л; вмісту тромбоцитів до 70×10^9 /л та 75×10^9 /л). Це потребувало призначення відповідних терапевтичних заходів (дезінтоксикаційна, гемостимулююча терапія) і короткочасної перерви в лікуванні, що не перевищувала 7 діб.

При вивченні характеру та ступеня загальної та місцевої токсичності у хворих основних та контрольної груп достовірних розбіжностей не виявлено. Прояви ранньої та пізньої токсичності розроблених методик не перевищували I-II ступенів за шкалою токсичності RTOG/EORTC (1995). Пізніх ушкоджень, пов'язаних безпосередньо з проведеною ППТ чи ХПТ, що призвели б до погіршення якості життя хворих, не спостерігали.

Висновки

1. Дослідження показників ДНК-статусу пухлинних клонів та їх проліферативної активності є перспективним у сенсі визначення чутливості місцевопоширених карцином шийки матки до цитотоксичних впливів.

2. Динаміка вмісту і плоїдності ДНК клітин може бути додатковим критерієм ефективності та моніторингу консервативного лікування хворих на місцевопоширені форми раку шийки матки.

ЛІТЕРАТУРА

1. Болтенко А.И. Современное лечение рака шейки матки. Новые подходы к комплексному лечению / ФГУ “РНЦРР Росмедтехнологий”. – М., 2008. – 4 с.
2. Демидова Л.В. Радиомодификация в сочетанной лучевой терапии рака шейки матки с использованием нетрадиционных режимов фракционирования и лекарственных препаратов: Дис. ...д-ра мед. наук / Л.В. Демидова. – М., 2006. – 341 с.
3. Індивідуальні підходи до консервативного лікування хворих на поширені форми раку шийки матки / В.С. Іванкова, Г.О. Курило, Г.М. Шевченко (та ін.) // Укр. радіол. журн. – 2005. – Т. 13, вип 3. – С. 304–307.
4. Кравець О.А. Результаты лучевой терапии рака шейки матки / О.А. Кравець, Л.А. Марьина, М.И. Нечушкин // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. – 2010. – Т. 21, № 1. – С. 12–16.
5. Рак в Україні, 2011-2012. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби / Уклад.: З.П. Федоренко, Ю.Й. Михайлович, Л.О. Гулак (та ін.) // Бюл. Нац. канцер-реєстру України. – К., 2013. – № 14. – 120 с.
6. Рак в Україні, 2012-2013. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби / Уклад.: З.П. Федоренко, Ю.Й. Михайлович, Л.О. Гулак (та ін.) // Бюл. Нац. канцер-реєстру України. – К., 2014. – № 15. – 124 с.
7. Рак шейки и тела матки / Л.А. Марьина, В.Н. Чехо-

Таблиця 1

Кількість позитивних ефектів у хворих на МП РШМ залежно від методу консервативного лікування

Метод терапії	Кількість позитивних змін, %	
	Пухлини з диплоїдним набором ДНК	Пухлини з анеуплоїдним набором ДНК
ППТ + цисплатин	70	72 + 28 частковий
ППТ + фторафур	100	50 + 50 частковий
ППТ + гідроксисечовина	50	50 частковий
ППТ	50	–

Таблиця 2

Регресія пухлин шийки матки залежно від методу консервативної терапії у хворих на МП РШМ через 3 місяці після лікування

Метод лікування	Ступінь регресії пухлини (кількість хворих, n та%)			
	Повна регресія	Часткова регресія > 50%	Стабілізація процесу (регресія < 50%)	Прогресування процесу
ППТ + цисплатин n = 23	9 (39,1%)	8 (34,7%)	5 (21,2%)	1 (5,0%)
ППТ + фторафур n = 26	10 (38,5%)	8 (30,4%)	6 (23,2%)	2 (7,9%)
ППТ + гідроксисечовина n = 20	6 (30,0%)	7 (35,0%)	5 (25,0%)	2 (10,0%)
ППТ n = 18	4 (22,2%)	6 (33,3%)	6 (33,3%)	2 (11,2%)

надский, М.И. Нечушкин, М.В. Киселева. – М.: Медицина, 2008. – 144 с.

8. Рак шейки матки / Л.И. Крикунова, Л.С. Мкртчян, Н.И. Шентерева, Н.И. Сыченкова // *Терапевтическая радиология: руководство для врачей* / Под ред. А.Ф. Цыба, Ю.С. Мардынского. – М.: ООО «МК», 2010. – С. 369–378.

9. Шакирова Э.Ж., Муллагалиева А.М., Хасанов Р.Ш., Сухорукова Л.К. Местнораспространенный рак шейки матки: проблемы диагностики и лечения // *Казанский мед. журн.* — 2007. — Т. 88, № 6. — С. 627–630.

10. Keys HM, Bundy BN, Stehman FB et al. Cisplatin, radiation, and adjuvant hysterectomy compared with radiation and adjuvant hysterectomy for bulky stage Ib cervical carcinoma. *N Engl J Med.* — 1999. — 340. — P. 1154-1161.

11. Morris M, Eifel RJ, Lu J et al. Pelvic radiation with concurrent chemotherapy compared with pelvic and para-aortic radiation for high-risk cervical cancer. *N Engl J Med.* — 1999. — 340. — P. 1175-1178.

12. Phase I clinical trial of weekly paclitaxel, weekly carboplatin, and concurrent radiotherapy for primary cervical cancer / G.G. Rao, P. Rogers, R.D. Drake (et al.) // *Gynecol. Oncol.* — 2005. — Vol. 96, № 1. — P. 168–172.

13. Phase II trial of capecitabine in recurrent squamous cell carcinoma of the cervix / A.D. Jenkins, L.M. Ramondetta, C. Sun (et al.) // *Gynecol. Oncol.* — 2005. — Vol. 97, № 3. — P. 840–844.

14. Phase one dose finding study of capecitabine (Xeloda), radiotherapy and cisplatin in the treatment of locally advanced squamous cervical cancer / Z. Stokes, P. Symonds, T. Habeshaw (et al.) // *Gynecol. Oncol.* — 2005. — Vol. 97, № 3. — P. 790–795.

15. Randomized comparison of weekly cisplatin or protracted venous infusion of fluorouracil in combination with pelvic radiation in advanced cervix cancer: a gynecologic oncology group study / R. Lanciano, A. Calkins, B. Bundy (et al.) // *J. Clin. Oncol.* — 2005. — Vol. 23, № 33. — P. 8289 – 8295.

16. Rose PG, Bundy BN, Watkins EB et al. Concurrent cisplatin-based radiotherapy and chemotherapy for locally advanced cervical cancer / *N Engl J Med.* — 1999. — 340. — P. 1144-1153.

ВИЗНАЧЕННЯ АГРЕСИВНОСТІ ПУХЛИНИ – ДОДАТКОВИЙ МЕТОД ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОМЕНЕВОЇ ТЕРАПІЇ РАКУ ШЕЙКИ МАТКИ

В.С. Іванков, Т.М. Нестеренко, Н.М. Храновська, Л.М. Барановська, Т.В. Хруленко

Дослідження агресивності пухлини за допомогою лазерної ДНК-проточної цитофлуорометрії дає можливість оцінити ефективність цитостатичної терапії та проводити своєчасну її корекцію.

У відділенні радіаційної онкології Національного інституту раку розроблені методи хіміопротоменевої терапії (ХПТ) хворих на місцевопоширені форми раку шийки матки (МП РШМ). Перед початком лікування пацієнткам проводили комплексне обстеження, включаючи визначення індексу ДНК методом лазерної ДНК-проточної цитофлуорометрії за матеріалами біопсій шийки матки. У процесі поєднаної променевої терапії були використані цитотоксичні препарати в радіомодифікуючих дозах. Проводилось дослідження можливості оцінки ефективності та моніторингу лікування на субклітинному рівні. Проведено лікування та аналіз одержаних клінічних і інструментальних моніторингових даних у 87 хворих на МП РШМ (69 досліджуваних хворих і 18 – контрольної групи). Ефективність ХПТ оцінювалась за ступенем регресії пухлин, динамікою показників ДНК-статусу клітин шийки матки і вираженості токсичних проявів.

Аналіз безпосередніх результатів методу ХПТ показав, що динаміка ДНК-статусу пухлинних клонів корелює з клінічними даними, одержаними у відповідь на цитотоксичну терапію МП РШМ. Позитивна відповідь пухлини у хворих на МП РШМ після повного курсу ХПТ збільшилась на 25,0% порівняно зі стандартними методами. Токсичні ефекти лікування за кількістю і ступенем вираженості у досліджуваних групах хворих не відрізнялись від контрольної, не перевищували II ступінь.

Ключові слова: рак шийки матки, хіміопротоменева терапія, цитотоксична терапія.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АГРЕССИВНОСТИ ОПУХОЛИ – ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ МЕТОД ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

В.С. Иванкова, Т.Н. Нестеренко, Н.Н. Храновская, Л.М. Барановская, Т.В. Хруленко

Исследование агрессивности опухоли с помощью лазерной ДНК-проточной цитофлуорометрии дает возможность оценить эффективность цитостатической терапии и проводить своевременную ее коррекцию.

В отделении радиационной онкологии Национального института рака разработаны методы химиолучевой терапии (ХЛТ) больных местнораспространенными формами рака шейки матки (МР РШМ). Перед началом лечения пациенткам проводили комплексное обследование, включая определение индекса ДНК методом лазерной ДНК-проточной цитофлуорометрии по материалам биопсий шейки матки. В процессе сочетанной лучевой терапии были применены цитотоксические препараты в радиомодифицирующих дозах. Проводилось исследование возможности мониторинга эффективности лечения на субклеточном уровне. Проведено лечение и анализ полученных клинических и инструментальных мониторинговых данных у 87 больных МР РШМ (69 исследуемых больных и 18 – контрольной группы). Эффективность ХЛТ оценивалась по степени регрессии опухолей, динамике показателей ДНК-статуса клеток шейки матки и выраженности токсических проявлений.

Анализ непосредственных результатов метода ХЛТ показал, что динамика ДНК-статуса опухолевых клонов коррелирует с клиническими данными, полученными в ответ на цитотоксическую терапию МР РШМ. Положительный ответ опухолей у больных МР РШМ после полного курса ХЛТ увеличился на 25,0% в сравнении со стандартными методами. Токсические эффекты лечения по количеству и степени выраженности в исследуемой группе больных не отличались от контрольной, не превышали II степени.

Ключевые слова: рак шейки матки, химиолучевая терапия, цитотоксическая терапия.

DETERMINATION OF TUMOR AGGRESSIVENESS — AN ADDITIONAL METHOD TO ASSESS THE EFFICACY OF RADIOTHERAPY OF CERVICAL CANCER

V.S. Ivankova, T.N. Nesterenko, N.N. Khranovskaya, L.M. Baranovskaya, T.V. Khrulenko

Study of tumor aggressiveness by laser DNA flow cytometry enables prediction of cytostatic therapy effectiveness and timely conduct of its correction.

The Department of Radiation Oncology, National Cancer Institute developed methods chemoradiotherapy (CRT) patients with locally advanced cancers of the cervix (cervical cancer MR). Before treatment patients underwent complex examination, including DNA index determination by laser DNA flow cytometry based on biopsies of the cervix. During concomitant radiotherapy were used cytotoxic drugs in radiomodifying doses. Conducted to investigate the possibility of monitoring the effectiveness of treatment at the subcellular level. The treatment and analysis of the clinical and instrumental monitoring data in 87 patients with MR of cervical cancer (69 patients studied and 18 – control group). Effectiveness of CRT was evaluated by the degree of tumor regression, the dynamics of indicators DNA status of cervical cells and severity of toxic effects.

Analysis of the direct method results CRT showed that the dynamics of DNA clones of tumor status correlates with clinical data obtained in response to cytotoxic therapy MR cervical cancer. Positive response of tumors in patients with cervical cancer MR after a full course chemoradiation increased by 25,0% in comparison with standard methods. Toxic effects of treatment on the number and severity of patients in the study group did not differ from the control group, did not exceed the second degree.

Key words: cervical cancer, chemoradiation therapy, cytotoxic therapy.