

**Іванкова В. С.,**

*д-р мед. наук, професор, завідувач науково-дослідного відділення радіаційної онкології  
Національного інституту раку, м. Київ, Україна*

**Храновська Н. М.,**

*канд. біол. наук, старший науковий співробітник,  
завідувач науково-дослідної лабораторії  
Національного інституту раку, м. Київ, Україна*

**Нестеренко Т. М.,**

*лікар-променевиї терапевт, аспірант науково-дослідного відділення радіаційної онкології Національного інституту раку, м. Київ, Україна*

**Барановська Л. М.,**

*канд. мед. наук, старший науковий співробітник відділення радіаційної онкології Національного інституту раку, м. Київ, Україна*

**Хруленко Т. В.,**

*канд. мед. наук, лікар-радіолог вищої категорії,  
завідувач блоку брахітерапії відділення клінічної радіоонкології  
Національного інституту раку, м. Київ, Україна*

## **ДОСЛІДЖЕННЯ АГРЕСИВНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ПУХЛИНИ ЯК ФАКТОРА ПРОГНОЗУ ЗАХВОРЮВАННЯ ПРИ КОНСЕРВАТИВНІЙ ТЕРАПІЇ МІСЦЕВОПОШИРЕНИХ ФОРМ РАКУ ШИЙКИ МАТКИ**

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

*У відділенні радіаційної онкології Національного інституту раку розроблені методи хіміопроменевої терапії (ХПТ) хворих місцево-поширеними формами раку шийки матки (МП РШМ). Перед початком лікування пацієнтам проводили комплексне обстеження, включаючи визначення індексу ДНК методом лазерної ДНК-проточної цитофлуориметрії за матеріалами біопсій шийки матки. У процесі поєднаної променевої терапії були застосовані цитотоксичні препарати в радіомодифікуючих дозах. Проводилося дослідження можливості моніторингу ефективності лікування на субклітинному рівні. Проведено лікування і аналіз отриманих клінічних та інструментальних моніторингових даних у 87 хворих МП РШМ (69 хворих досліджуваних і 18 – контрольної груп). Ефективність ХПТ оцінювалась за ступенем регресії пухлин, динамікою показників ДНК-статусу клітин шийки матки та вираженістю токсичних проявів.*

*Аналіз безпосередніх результатів методу ХПТ показав, що динаміка ДНК-статусу пухлинних клонів корелює з клінічними даними, отриманими у відповідь на цитотоксичну терапію МП РШМ. Позитивна відповідь пухлин у хворих МП РШМ після повного курсу ХПТ збільшилася на 25,0 % порівняно зі стандартними методами. Токсичні ефекти лікування за кількістю і ступенем вираженості в досліджуваній групі хворих не відрізнялися від контрольної і не перевищували II ступеня.*

**Ключові слова:** рак шийки матки; хіміопроменева терапія; цитотоксична терапія.

Незважаючи на певні успіхи радіоонкології, які базуються на досягненнях радіобіології, клінічної дозиметрії та застосуванні удосконалених технологій опромінювання, від 30 до 45 % хворих на РШМ гине протягом найближчих 5 років внаслідок прогресування основного захворювання [1–3]. Індивідуальний прогноз раку шийки матки (РШМ) залежить від

клініко-морфологічних особливостей пухлини, стану хворої та обраної тактики лікування. Місцево-поширені злоякісні новоутворення шийки матки одного морфологічного типу, розміру і локалізації по-різному реагують на цитотоксичні впливи, що проявляється відповідним ступенем регресії [4–6]. Інтенсивність циторедуктивних процесів у пухлині внаслідок дії

іонізуючого випромінювання та/або під впливом цитостатичної терапії зумовлюється її індивідуальною радіочутливістю і агресивним потенціалом. Визначення цих параметрів є важливим для вибору оптимальної технології терапевтичного променевого впливу (значення разових та сумарних вогнищевих доз, режими їх застосування, використання тих чи інших радіомодифікуючих засобів) [7–10].

Об'єктивними морфологічними ознаками агресивності пухлини та її здатності реагувати на цитотоксичні впливи є показники проліферативної активності пухлинних клонів. Численні дослідження свідчать про те, що незбалансований вміст ДНК у пухлинних клітинах і ступінь їх плоідності характеризують проліферативну активність та агресивний потенціал пухлини. Анеуплоїдія та збільшення фракції S-фазних клітин (> 14 %) у пухлинах є свідченням їх агресивності, відносної радіорезистентності і асоціюється з негативним прогнозом захворювання. Ідентифікація цих показників – додатковий аргумент на користь застосування променевої терапії (ПТ) у поєднанні з радіомодельючими засобами, зокрема, – відповідними цитостатичними препаратами [11–14].

Динаміка статусу ДНК пухлинних клонів у процесі консервативної терапії хворих на місцевопоширений РШМ (МПРШМ) може бути використана як об'єктивний критерій лікувального патоморфозу. Зниження проліферативного потенціалу пухлин та зникнення анеуплоїдії внаслідок ПТ є характерними ознаками вираженого терапевтичного ефекту, що статистично значимо зменшує ризик виникнення локального рецидиву. Поява анеуплоїдних клітин протягом місяця після завершення лікування асоціюється з прогресуванням захворювання. Реакцію пухлини на цитостатичні впливи у процесі лікування можна прогнозувати за допомогою апоптотичного індексу [15–17].

**Матеріали і методи.** У дослідження було включено 87 хворих на РШМ ІІВ стадії, Т3b N0-1 M0, які отримували хіміопроменеву терапію (ХПТ). Дослідження проводились на матеріалі біопсій шийки матки цих хворих. Критерії відбору пацієнтів були наступні:

- гістологічно підтверджений МПРШМ;
- вік хворих від 20 до 74 років;
- відсутність декомпексованої екстрагенітальної патології;
- відсутність проведеного раніше спеціального лікування.

За морфологічною структурою у всіх пацієнток діагностовано епідермоїдний рак переважно помірно-диференційований, у 14 – низькодиференційований, у 12 хворих – недиференційований. У більшості хворих виявлені пухлини зі змішаним характером росту: екзоендофітні форми з вираженим екзофітним компонентом у 57 хворих, карциноми з перевагою ендоефітного компоненту – у 30. У 28 пацієнток мала місце масивна інфільтрація параметральної клітковини переважно з одного боку. Масивні інфільтрати з обох боків спостерігали у 59 хворих. В усіх хворих відмічено поширення процесу на піхву, у 25 – до нижньої третини стінки/стінок піхви. У 36 – до патологічного вогнища було залучено тіло матки. Регіонарне метастатичне ураження лімфатичних

вузлів діагностовано у 43 пацієнтки, у 22 – виявлена вторинна гідронефротична трансформація.

Формуючи індивідуальні підходи до консервативного лікування хворих, ми зважали на особливості морфологічної структури пухлини, характер та форму її анатомічного поширення, клініко-біологічний стан пацієнтки. Вибір технології лікування зумовлювався поширеністю процесу, його анатомо-морфологічними параметрами, наявністю/відсутністю залучення до процесу регіонарних лімфатичних вузлів та інших факторів прогнозу.

Анатомічні параметри пухлинного процесу визначали за допомогою комплексного обстеження, яке включало ультрасонографічне обстеження, комп'ютерну томографію (КТ) та/чи магнітно-резонансне (МРТ) обстеження малого тазу 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-проточної цитофлуориметрії за матеріалом біопсій шийки матки.

За допомогою 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, переривчатість та/або потовщення цервікального каналу.

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

Як уточнюючий метод обстеження застосовували комп'ютерну томографію (КТ), за допомогою якої можна було також отримати більш вірогідну інформацію щодо стану лімфатичних вузлів малого тазу та позаочеревного простору.

Можливість візуалізації параметральних інфільтратів, інфільтрації зв'язкового апарату матки, включаючи інфільтрати, не доступні пальпації та іншим методам діагностики досягали за рахунок застосування магнітно-резонансної томографії (МРТ). Цей 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 вогнищеві дози (СОД) від поєднаної променевої терапії (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:

I – (ППТ + цисплатин) представлена 23 хворими на МП РШМ (Т3bN0-1M0), яким проводили ППТ на фоні цисплатину у радіомодифікуючих дозах (50 мг – кожні 7 днів, внутрішньовенно, крапельно);

II – (ППТ + фторафур) складала 26 хворих на РШМ Т3bN0-1M0, що упродовж ППТ отримували фторафур по 400 мг кожні 12 годин, перорально;

III основна група (ППТ + гідроксисечовина) репрезентована 20 хворими на МП РШМ, які отримували ППТ на тлі гідроксисечовини по 40 мг/м<sup>2</sup> перорально кожну 3 добу, як зазначено вище.

До IV, контрольної, групи входило 18 хворих на МП РШМ, яким проводився курс ППТ за радикальною програмою. Радіомодифікуючі засоби у хворих IV групи не застосовувались.

Відгук 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.

Моніторинг регресії пухлини здійснювали за критеріями, рекомендованими ВООЗ, тобто 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 біопсії шийки матки методом лазерної ДНК-проточної цитофлуорометрії. Цитологічний контроль здійснювали при динамічному спостереженні за хворими після завершення консервативної терапії. Обстеження хворих на МПРШМ при консервативному лікуванні проводили після I етапу лікування, після закінчення ХПТ та через 3 місяці після її завершення, зважаючи на можливість відстроченого ефекту при променевому лікуванні. Токсичність лікування оцінювали за класифікацією RTOG/EORTC, 1995, доповненою критеріями Кооперативної групи дослідників [5; 6]. Вивчали показники загальної токсичності та локальну токсичність з боку «критичних органів» (шкіра, сечовий міхур, піхва, пряма та сигмовидна кишки). Були проаналізовані частота та ступінь виразності постпроменевих епідерматитів, циститів, ентероколітів, ректитів і кольпітів.

**Результати.** Протягом лікування та після його завершення у жодної хворої не відзначено токсичних проявів лікування, що перевищували III ступінь

токсичності. У двох хворих після I етапу лікування спостерігали прояви гематологічної токсичності III ступеня. Це потребувало призначення відповідних терапевтичних заходів (дезінтоксикаційна, гемостимулююча терапія) короточасної перерви в лікуванні, що не перевищувало 7 днів.

Застосування гідроксисечовини у процесі ППТ хворих на МПРШМ сприяло посиленню лікувального патоморфозу. Проліферативний потенціал пухлини після I етапу лікування залишався майже без змін. Проте після завершення лікування мало місце суттєве, більше ніж у 2 рази, зниження цього показника. Цей ефект був характерним як для пухлин з анеуплоїдним, так і диплоїдним вмістом ДНК.

Застосування кселоди у процесі ППТ хворих на МПРШМ сприяло суттєвому збільшенню кількості пухлинних клітин у S-фазі клітинного циклу. Подібна тенденція спостерігалась, як при дослідженні пухлин з диплоїдним варіантом клітин, так і з анеуплоїдним. В усіх випадках після закінчення лікування проліферативний потенціал пухлин залишався високим, більше 30 % пухлинних клітин знаходились в S-фазі клітинного циклу.

Результати ДНК-проточної цитометрії, що характеризують динаміку плоідності пухлини та її проліферативного потенціалу у процесі консервативного лікування хворих на МПРШМ, свідчать про більшу ефективність поєднаного впливу ПТ та радіомодифікаторів на поширені карциноми шийки матки.

**Висновок.** Вивчення показників плоідності ДНК пухлинних клонів, їх розподілу за фазами клітинного циклу і проліферативного та апоптичного індексів за допомогою цитологічного хромосомного аналізу і кількісної цитохімії, у комплексі з іншими клініко-морфологічними характеристиками злоякісного процесу можуть бути використані для визначення оптимальної тактики хіміопроменевого лікування МПРШМ, прогнозування його ефективності та подальшого моніторингу захворювання.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Кравец О. А. Результаты лучевой терапии рака шейки матки / О. А. Кравец, Л. А. Марьяна, М. И. Нечушкин // Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. – 2010. – Т. 21, № 1. – С. 12–16.
2. 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.
3. Рак шейки матки / Л. И. Крикунова, Л. С. Мкртчян, Н. И. Шентерева, Н. И. Сыченко // Терапевтическая радиология : руководство для врачей / под ред. А. Ф. Цыба, Ю. С. Мардынского. – М. : ООО «МК», 2010. – С. 369–378.
4. Гранов А. М. Лучевая терапия в онкогинекологии и онкоурологии / А. М. Гранов В. Л. Винокуров. – СПб. : Фолиант, 2002. – 350 с.
5. 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.
6. Рак шейки и тела матки / Л. А. Марьяна, В. Н. Чехонадский, М. И. Нечушкин, М. В. Киселева. – М. : Медицина, 2008. – 144 с.
7. Wilailak S., Rochanawutanon M., Srisupundit S. et al. Flow cytometric of DNA ploidy and S phase fraction of stage III B cervical carcinoma // Eur. J. Gynecol. Oncol. – 2004. – 25 (4). – P. 428–430.
8. Gasinska A., Fowler J. F., Lind B. K., Urbanski K. Influence of overall treatment time and radiobiological parameters on biologically effective doses in cervical cancer patients treated with radiation therapy alone // Acta. Oncol. – 2004. – 43 (7). – P. 657–666.
9. Иванкова В. С. Проблемы резистентности опухолей в радиационной онкологии (клинические и радиобиологические аспекты) : науч. издание / В. С. Иванкова, Э. А. Дёмина. – К. : Здоров'я, 2012. – 192 с.
10. Демидова Л. В. Радиомодификация в сочетанной лучевой терапии рака шейки матки с использованием нетрадиционных режимов фракционирования и лекарственных препаратов : дис. ... д-ра мед. наук / Демидова Л. В. – М., 2006. – 341 с.

11. 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.
12. Иванкова В. С., Шевченко Г. М., Хруленко Т. В. та ін. Динамічний моніторинг ефективності консервативного лікування раку шийки матки // Здоровье женщины. – 2004. – № 2 (18). – С. 54–56.
13. Індивідуальні підходи до консервативного лікування хворих на поширені форми раку шийки матки / В. С. Иванкова, Г. О. Курило, Г. М. Шевченко [та ін.] // Укр. радіол. журн. – 2005. – Т. 13, вип 3. – С. 304–307.
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. 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.
16. 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.
17. Болтенко А. И. Современное лечение рака шейки матки. Новые подходы к комплексному лечению / ФГУ «РНЦРР Росмедтехнологий». – М., 2008. – 4 с.

**В. С. Иванкова, Н. М. Храновская,  
Т. Н. Нестеренко, Л. М. Барановская, Т. В. Хруленко,  
Национальный институт рака, г. Киев, Украина**

### **ИССЛЕДОВАНИЕ АГРЕССИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА ОПУХОЛИ КАК ФАКТОРА ПРОГНОЗА ЗАБОЛЕВАНИЯ ПРИ КОНСЕРВАТИВНОЙ ТЕРАПИИ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННЫХ ФОРМ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ**

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

*В отделении радиационной онкологии Национального института рака разработаны методы химиолучевой терапии (ХЛТ) больных местно распространенными 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 больных исследуемых и 18 – контрольной групп). 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.

**V. S. Ivankova, N. N. Khranovskaya, T. N. Nesterenko,  
L. M. Baranovskaya, T. V. Khrulenko,  
National Cancer Institute, Kyiv, Ukraine**

### **RESEARCH OF PREDICTING SENSITIVITY OF CERVICAL CARCINOMA TO CYTOSTATIC THERAPY AT THE SUBCELLULAR LEVEL**

*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.*

**Рецензенти:** *Мечев Д. С., д-р мед. наук, професор;  
Солодянникова О. І., д-р мед. наук, професор.*

© Іванкова В. С., Храновська Н. М., Нестеренко Т. М.,  
Барановська Л. М., Хруленко Т. В., 2015

*Дата надходження статті до редколегії 22.04.2015*