

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

*В.Д. Марковский, Ю.А. Винник\*, Е.А. Ключко\*, О.Н. Плитень, В.В. Гаргин*

*Харьковский национальный медицинский университет*

*\*Харьковская медицинская академия последипломного образования*

### **ВЛИЯНИЕ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ТЕРАПИИ НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ШЕЙКИ МАТКИ**

Проведен анализ влияния предоперационной терапии (лучевая или химиолучевая терапия) на пролиферативную активность плоскоклеточного рака шейки матки путем изучения экспрессии белка Ki-67. При изучении показателей пролиферативного потенциала по уровню экспрессии Ki-67 было установлено его снижение в ходе проводимой терапии. В группе больных, получавших только лучевую терапию, индекс пролиферативной активности снизился с 47,4 до 40,31 %, в группе больных, получавших химиолучевую терапию, данный показатель снизился до 24,72 %. Анализ интенсивности реакции с Ki-67 выявил, что этот показатель может служить прогностическим критерием дальнейшего поведения опухоли шейки матки, выявления группы больных с высоким риском дальнейшей прогрессии. Данный маркер может служить показателем эффективности проводимого лечения.

**Ключевые слова:** *шейка матки, рак, пролиферация.*

В последние годы отмечены существенные достижения в изучении патогенеза, клиники и лечения заболеваний шейки матки [1]. Тем не менее рак шейки матки продолжает занимать одно из первых мест в мире среди всех злокачественных новообразований женских половых органов. Одним из основных методов лечения больных раком шейки матки является лучевая терапия, которая не всегда дает удовлетворительные результаты. Именно потребность в более благоприятных результатах лечения местно-распространенного рака шейки матки требует разработки более эффективного лечения, особенно у больных с неблагоприятным прогнозом, в частности разработка методов химиолучевой терапии, обоснованность применения которых, безусловно, требует доказательств.

В настоящее время большое значение приобретает анализ экспрессии иммуногистохимических (ИГХ) маркеров для выявления и интерпретации клеток опухоли, обоснования прогноза поведения опухоли. Безусловно, факторы, отражающие функциональное и биохимическое состояние опухолевых клеток, дают онкологам важную информацию для оценки особенностей течения, исхода онкологического заболевания и его чувствительности к про-

водимой терапии. Одним из маркеров пролиферативного состояния, связанного с неопластической трансформацией, является белок Ki-67 (универсальный маркер для оценки клеточного цикла) [2–7]. Пролиферативный индекс при различных локализациях опухоли служит независимым прогностическим показателем возникновения рецидива, общей и безрецидивной выживаемости, а также является предсказательным фактором для определения чувствительности к лучевой или химиолучевой терапии [8–10].

Целью исследования явился анализ влияния предоперационной терапии (лучевой или химиолучевой) на пролиферативную активность плоскоклеточного рака шейки матки путем изучения экспрессии белка Ki-67.

**Материал и методы.** Материалом для исследования послужила ткань шейки матки с гистологически подтвержденным раком. В работе использовали классификации заболевания по стадиям (FIGO, 2009) и распространенности опухолевого процесса (TNM, 2010), в соответствии с которыми отобранные случаи относились к Па-Пb (FIGO), T2a-T2b (TNM). В каждом случае ткань представлена в состояниях до начала лечения (биопсийный материал, диатермоэлектроексцизия) и

© В.Д. Марковский, Ю.А. Винник, Е.А. Ключко, и др., 2014

после него (операционный материал, проведение расширенной экстирпации матки с придатками по Вертгейму). В 1-ю группу вошло 19 пациентов, получавших до операции дистанционную лучевую терапию 30 Гр); во 2-ю – 19 пациентов, получавших до операции химиолучевую терапию (паклитаксел 260 мг и карбоплатин 450 мг, дистанционную лучевую терапию 30 Гр). Для диагностики поражений шейки матки использовали критерии гистологической классификации опухолей женской половой системы [11]. Возраст женщин обеих групп составил от 26 до 62 лет, в среднем 33,7 года.

В препаратах, обработанных ИГХ-методом и дополнительно окрашенных гематоксилином Майера [12], изучали интенсивность экспрессии белка Ki-67. Положительной считали реакцию, проявлявшуюся коричневой окраской ядер. При оценке ИГХ-реакции основывались на интенсивности окрашивания и распределении иммуноположительных клеток согласно рекомендациям других авторов по шкале: "-" – экспрессия отсутствует, "+" – слабая экспрессия, "++" – умеренная экспрессия, "+++" – интенсивное окрашивание [2, 13].

По экспрессии Ki-67 определяли индекс пролиферативной активности (ИПА). ИПА определяли в 4–9 случайных полях зрения с большим увеличением микроскопа (об. х40), где подсчитывали общее число опухолевых клеток (не менее 1000) и иммунопозитивных клеток к Ki-67 с последующим вычислением их процентного отношения.

**Результаты и их обсуждение.** Перед началом терапии экспрессия Ki-67 выявлялась у всех больных, а ИПА колебался от 7,31 до 93,4 %, составляя в среднем 47,4 %. И в пластах околоопухолевой ткани выявлялись 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, где было подозрение на наличие микроинвазии, почти все ядра клеток были

Ki-67-положительными, с высокой интенсивностью реакции.

Локализация и интенсивность ИГХ-реакции к Ki-67 в участках инвазивного роста варьирует 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 ороговения Ki-67-положительные клетки чередовались с Ki-67-отрицательными.

Снижение пролиферативной активности в процессе облучения (1-я группа) статистически достоверно 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 попытке анализа ответа опухоли в зависимости от возраста больных при местно-распространенном раке шейки матки достоверных отличий выявлено не было ( $p > 0,05$ ).

Еще более выраженное снижение пролиферативной активности опухоли выявлено в группе, подвергшейся химиолучевой терапии. При этом показатель ИПА составил 24,72 % и статистически достоверно отличался не только от исходного уровня, но и от уровня в группе лучевой терапии ( $p < 0,05$ ). В этой группе также не было выявлено достоверных отличий при попытке анализа ответа опухоли в зависимости от возраста ( $p > 0,05$ ).

В обеих 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 пациенток, где непосредственный эффект лечения оценивался как улучшение или его вообще не было ( $p < 0,01$ ).

Активность пролиферативных процессов в опухоли также влияла на продолжительность безрецидивного периода у больных раком шейки матки. Средняя продолжительность безрецидивного периода составила в 1-й группе ( $14,8 \pm 2,9$ ) мес, во 2-й – ( $24,6 \pm 3,4$ ) мес. Показатели безрецидивной выживаемости были выше во 2-й группе больных. Частота рецидивов в 1-й группе была достоверно выше, чем в группе женщин, получивших химиолучевую терапию ( $p < 0,01$ ).

## Выводы

При изучении показателей пролиферативного потенциала по уровню экспрессии Ki-67 было установлено его снижение в ходе проводимой терапии. В группе больных, получавших только лучевую терапию, индекс пролиферативной активности снизился с 47,4 до 40,31 %; в группе больных, получавших химиолучевую терапию, данный показатель снизился до 24,72 %.

## Литература

1. *Королев В.С.* Особенности заболеваемости и смертности женщин трудоспособного возраста от рака шейки матки / В.С. Королев, В.Я. Горбунов, Н.Н. Слюсарь // *Здравоохранение Российской Федерации.* – 1999. – № 1. – С. 29–31.
2. *Дорохова О.В.* Діагностичне та прогностичне значення експресії маркерів при диспластичних і 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.
3. Assessment of Ki-67 antigen immunostaining in squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix: Correlation with the histological grade and human papillomavirus type / W. Al-Saleh, P. Delvenne, R. Greimers [et al.] // *Am. J. Clin. Pathol.* – 1995. – Vol. 104. – P. 154–160.
4. p16INK4a expression correlates with degree of cervical neoplasia: a comparison with Ki-67 expression and detection of high-risk HPV types / S.N. Agoff, P. Lin, J. Morihara [et al.] // *Mod. Pathol.* – 2003. – Vol. 16. – P. 665–673.
5. *Brown D.C.* Ki-67 protein: the immaculate deception? / D.C. Brown, K.C. Gatter // *Histopathology.* – 2002. – Vol. 40. – P. 2–11.
6. Ki-67 antigen staining as an adjunct to identifying cervical intraepithelial neoplasia / C.J. Dunton, K.H. Van Hoesen, A.J. Kovatich [et al.] // *Gynecol. Oncol.* – 1997. – Vol. 64. – P. 451–455.
7. *Sahebbali S.* Ki-67 immunocytochemistry in liquid based cervical cytology: useful as an adjunctive tool? / S. Sahebbali, C.E. Depuydt, K. Segers [et al.] // *J. Clinical Pathology.* – 2003. – Vol. 56. – P. 681–686.
8. *Фролова И.И.* Иммуногистохимические исследования дискератоза и неопластических изменений экзоцервикса при гинекологической патологии / И.И. Фролова, Г.М. Местергази, В.Е. Радзинский [и др.] // *Архив патологии.* – 2002. – № 6. – С. 23–26.
9. *Panjkovic M.* Ki-67 expression in squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix / M. Panjkovic, T. Ivkovic-Kapicil // *Arch. Oncol.* – 2006. – Vol. 14. – P. 23–25.
10. Protein p16 as a marker of dysplastic and neoplastic alterations in cervical epithelial cells / G. Volgareva, L. Zavalishina, Y. Andreeva [et al.] // *BMC Cancer.* – 2004. – Vol. 4, № 1. – P. 51–58.
11. Международная гистологическая классификация опухолей. Гистологическая классификация опухолей женского полового тракта. – Женева, 1994.
12. *Петров С.В.* Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / С.В. Петров, Н.Т. Райхлин. – Казань, 2004. – 288 с.
13. *Dabbs D.J.* Diagnostic immunohistochemistry / Dabbs D.J. – Churchill Livingstone, 2006. – 828 p.

**В.Д. Марковський, Ю.О. Вінник, К.О. Ключко, О.М. Плітень, В.В. Гаргін**

## ВПЛИВ ПЕРЕДОПЕРАЦІЙНОЇ ТЕРАПІЇ НА ПРОЛІФЕРАТИВНУ АКТИВНІСТЬ ПЛОСКОКЛІТИННОГО РАКУ ШИЙКИ МАТКИ

Проведений аналіз впливу передопераційної терапії (променева або хіміопротонна терапія) на проліферативну активність плоскоклітинного раку шийки матки шляхом вивчення експресії білка Ki-67. При вивченні показників проліферативного потенціалу за рівнем експресії Ki-67 було встановлено його зниження в ході проведеної терапії. В групі хворих, що отримували тільки променеву тера-

---

пю, індекс проліферативної активності знизився з 47,4 до 40,31 %, в групі хворих, що отримували хіміопроменеу терапію, даний показник знизився до 24,72 %. Аналіз інтенсивності реакції з Ki-67 показав, що вивчення цього показника може служити прогностичним критерієм подальшої поведінки пухлини шийки матки, виявлення групи хворих з високим ризиком подальшої прогресії. Даний маркер може служити показником ефективності проведеного лікування.

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

**V.D. Markovsky, Yu.A. Vinnik, E.A. Klyuchko, O.N. Pliten, V.V. Gargin**

**EFFECT OF PREOPERATIVE THERAPY ON THE PROLIFERATIVE ACTIVITY OF SQUAMOUS CELL CARCINOMA OF CERVIX**

The aim of this work was to analyze the influence of preoperative therapy (radiotherapy or chemo-radiotherapy) on the proliferative activity of squamous cervical cancer by studying the expression of Ki-67 protein. The study of indicators of proliferative potential in the level of expression of Ki-67 was found to decrease in the course of his therapy. In the group of patients treated with radiotherapy alone proliferation activity index decreased from 47.4 to 40.31%, in the group of patients treated with chemo-radiotherapy this figure dropped to 24.72%. Analysis of the intensity of the reaction with Ki-67 showed that this study can serve as indicator predictor of future behavior of the cervical tumor identifying patients at high risk of further progression. This marker may be an indicator of treatment efficacy.

**Key words:** neck of uterus, cancer, proliferation.

*Поступила 08.04.14*