

МОЖЛИВОСТІ ІНДИВІДУАЛІЗАЦІЇ АД'ЮВАНТНОЇ ПОЛІХІМІОТЕРАПІЇ ПРИ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

В.Є. Чешук

Національний медичний університет, Київ

Резюме. Проведено аналіз результатів культивування експлантатів пухлин раку молочної залози в середовищі RPMI-1640 з додаванням цитостатиків (флуороурацилу, циклофосфаміду, доксорубіцину, епірубіцину). За результатами чутливості експлантатів пухлини до цитостатиків хворим призначали ад'ювантну хіміотерапію. Наведено дані 2-річного спостереження хворих.

Ключові слова: рак молочної залози, експлантати пухлини, цитостатики, чутливість клітин пухлини до цитостатиків.

ВОЗМОЖНОСТИ ИНДИВИДУАЛИЗАЦИИ АД'ЮВАНТНОЙ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

В.Е. Чешук

Резюме. Проведен анализ результатов культивирования эксплантатов опухолей рака молочной железы в среде RPMI-1640 с добавлением цитостатиков (флуороурацила, циклофосфамида, доксорубицина, эпирубицина). По результатам чувствительности эксплантатов опухоли к цитостатикам больным назначали ад'ювантную химиотерапию. Приведены данные 2-годичного наблюдения больных.

Ключевые слова: рак молочной железы, эксплантаты опухоли, цитостатики, чувствительность клеток опухоли к цитостатикам.

FEATURES OF PERSONALIZED ADJUVANT POLYCHEMOTHERAPY UNDER BREAST CANCER

V.E. Cheshuk

Summary. the analysis of results finding by cultivation explant of breast cancer in RPMI-1640-medium with adding of cytostatics (fluorouracil, cyclophosphamid, doxorubicin and epirubicin). By the results of sensitivity explanted tumor to cytostatics adjuvant chemotherapy was prescribed to patients. Materials of 2-years observation cited.

Key words: breast cancer, tumor explant, cytostatics, sensitivity of cancer cells to cytostatics.

Адреса для листування:

Чешук Валерій Євгенович

01004, Київ, бульв. Тараса Шевченка, 13

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, кафедра онкології

ВСТУП

Результати лікування хворих на рак молочної залози (РМЗ) значною мірою залежать від рівня діагностики захворювання і проведення адекватного ад'ювантного лікування. Хірургічне втручання як самостійний метод лікування втрачає свої позиції [1] і спрямоване на видалення пухлини для отримання інформації про неї. Враховуючи здебільшого системний характер РМЗ, більше уваги приділяють ад'ювантній комплексній терапії [2, 3].

Відомо, що у багатьох хворих при первинному виявленні пухлини вже наявні мікрометастази чи поодинокі пухлинні клітини [4], і саме цим обумовлена необхідність проведення ад'ювантного лікування з використанням хіміотерапії для продовження безрецидивного періоду та тривалості життя хворих [5].

Встановлено, що завдяки проведенню ад'ювантної поліхіміотерапії (АПХТ) подовжується тривалість життя хворих з наявністю метастазів пухлини в лімфатичних вузлах [6] завдяки пригніченню росту мікрометастазів та сприянню загибелі клітин пухлини, які потрапили в кровообіг під час операції [7].

За даними досліджень, проведених різними авторами [8, 9], було зроблено висновок, що для покращання виживаності хворих з РМЗ І стадії, відсутністю експресії гормональних рецепторів в пухлині, низьким ступенем диференціації пухлини та іншими несприятливими чинниками доцільно проводити профілактичну хіміотерапію [10].

У хворих на РМЗ після оперативного лікування на підставі врахування традиційних прогностичних чинників виділяють абсолютні та відносні показання до проведення АПХТ. Абсолютними показаннями є: наявність метастазів у лімфатичних вузлах та відсутність експресії гормональних рецепторів естрогену та прогестерону в клітинах пухлини. Відносними критеріями для призначення АПХТ є: вік хворих, розмір пухлини, гістологічний ступінь злоякісності.

Сучасні цитостатичні препарати і нові лікарські форми давно відомих цитостатиків мають ряд безумовних переваг, у першу чергу відносну селективність дії, більшу ефективність і меншу токсичність. Значна кількість схем хіміотерапії для лікування хворих на РМЗ спрямована на пошук найбільш ефективних комбінацій препаратів.

Слід підкреслити, що після в ключення до схем АПХТ РМЗ антрациклінових антибіотиків доксорубіцину та фармарубіцину (схеми САФ, АС, САМФ та ін.) безпосередні та віддалені результати лікування були кращими [11–15]. Включення таксанів, віналкалоїдів, антиметаболітів (гемцитабін) до складу АПХТ є перспективним для підвищення ефективності лікування [16, 17].

На жаль, далеко не завжди проведення хіміотерапевтичного лікування забезпечує досягнення стійкої і тривалої ремісії захворювання, що зумовлено існуванням нечутливих до хіміотерапії клітин пухлини. Виникнення метастазів у різні терміни після АПХТ свідчить про нездатність сучасної хіміотерапії знищити всі мікрометастази [18].

Здебільшого (60%) протипухлинна хіміотерапія є результативною, але в тих випадках, коли результат незначний або взагалі відсутній, на перший план виступають ускладнення лікування та симптоми прогресування захворювання. Про шкідливий вплив АПХТ при лікуванні хворих з резистентними до цитостатиків формами РМЗ свідчить виявлення у кістковому мозку метастатичних клітин після курсу хіміотерапії, яких до лікування не було [19].

Враховуючи це, особливої уваги заслуговує індивідуалізація лікування хворих на РМЗ для підвищення його ефективності. В міру удосконалення хіміотерапії методологічні підходи до індивідуалізації лікування змінювалися і доповнювалися, однак основним принципом залишається прогнозування ефективності лікування.

Є методи для визначення чутливості злоякісних пухлин до цитостатиків на основі оцінки результатів інкубації хіміопрепаратів з культурами та гомогенатами пухлинних клітин [20–22]. Аналізуючи в цілому ефективність прямих методів, до яких також відносять оцінку дії протипухлинних препаратів на фрагменти пухлини [23, 24], за їх допомогою можна прогнозувати чутливість пухлин до широкого спектра цитостатиків. Цей напрямок слід розвивати, незважаючи на труднощі культивування пухлин молочних залоз і досить тривалі терміни отримання результатів (протягом 7–8 діб).

Під час хіміотерапевтичного лікування використовують метод визначення чутливості до протипухлинних препаратів шляхом оцінки ступеня інактивації тіолів під дією цитостатиків у сироватці крові. Виявлено пряму залежність між ступенем чутливості пухлини до цитотоксичних препаратів і ступенем інактивації тіолів [25, 26]. Оцінку чутливості пухлин РМЗ до хіміопрепаратів і моніторинг хворих під час проведення хіміотерапії застосовують для підвищення ефективності лікування [27].

Вирішуючи питання про вибір критеріїв для призначення хіміотерапії хворим на РМЗ, слід відзначити їх різну інформативність. Однак потрібно виключити можливість призначення хіміотерапевтичного лікування хворим з резистентністю клітин пухлини до цитостатиків, оскільки воно є небезпечним з огляду на пригні-

чення протипухлинної резистентності організму та стимуляції росту резистентних клонів і швидкому розвитку рецидивів та метастазів [1, 18, 27].

Розроблений нами спосіб визначення показань до хіміотерапії РМЗ [28] шляхом оцінки чутливості злоякісних клітин до протипухлинних препаратів — під час культивування експлантатів пухлин в середовищі RPMI-1640 з додаванням цитостатиків потребує проведення подальших клініко-експериментальних досліджень.

Мета дослідження: визначити можливості індивідуалізації АПХТ з урахуванням особливостей культивування експлантатів пухлин РМЗ в середовищі RPMI-1640 з цитостатиками.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У хворих на РМЗ, які перебували на лікуванні в клініці кафедри онкології Національного медичного університету (м. Київ) у 2000 р., після хірургічного втручання брали матеріал пухлини для дослідження. Оперативне лікування в обсязі мастектомії було проведено 15 хворим і органозберігаючої операції — 5 хворим. Всього було обстежено 20 хворих у віці від 32 до 74 років. У 12 хворих на РМЗ встановлено стадію T1N0M0, у 4 — T1N1M0 та по одній хворій — T2N2M0, T4N2M1, T2N2M1, T2N1M0 (табл. 1).

Визначення чутливості пухлинних клітин до цитостатиків проводили за нашою методикою [28] в лабораторії імунології та алергології ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України (керівник проф. Н.М. Бережна).

Визначали чутливість до цитостатиків: флуороурацилу (ФУ) (15 мг/кг), циклофосфаміду (ЦФ) (3 мг/кг), доксорубіцину (АБ) (30 мг/м²), епірубіцину (ФР) (60 мг/м²). Окремо вивчали особливості росту контрольної культури (КК) експлантатів пухлин без цитостатиків.

Аналіз результатів культивування експлантатів пухлин проводили на основі виявлення сфероїдів та за морфологічною 9-бальною шкалою оцінки росту клітин *in vitro* [29].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Згідно з даними аналізу результатів культивування експлантатів пухлин РМЗ було встановлено, що характер росту клітин в умовах дії протипухлинних препаратів проявляється в пригніченні росту, стимуляції його та відсутності впливу цитостатиків на ріст експлантатів. На основі виявлених особливостей росту експлантатів пухлин при порівнянні з КК було виділено 3 групи. Отримані результати були опубліковані раніше [30] і представлені в табл. 2. У 9 хворих 1-ї групи відзначали пригнічення росту експлантатів, у 7 пацієнтів 2-ї групи — стимуляцію росту експлантатів РМЗ, у 4 хворих 3-ї групи характер росту експлантатів під дією цитостатиків не відрізнявся від КК.

Хворим в післяопераційний період проводили ад'ювантне лікування — хіміотерапію або гормональну терапію з урахуванням результатів куль-

Таблиця 1

Характеристика досліджуваних хворих

№ хворої	Вік, років	Стадія (TNM)	Ступінь диференціації	Гістологічна форма пухлини
1	64	T1N0M0	G2	Інфільтративний протоковий рак
2	50	T1N0M0	G2	Інфільтративний часточковий рак
3	54	T1N0M0	G2	Інфільтративний часточковий рак
4	64	T1N0M0	G2	Інфільтративний протоковий рак
5	63	T1N0M0	G2	Інфільтративний часточковий рак
6	46	T1N0M0	G2	Інфільтративний часточковий рак
7	41	T1N0M0	G2	Інфільтративний криброзно-скіррозний рак
8	56	T1N0M0	G1	Інфільтративний протоковий рак
9	64	T1N1M0	G2	Інфільтративний часточковий рак з метастазами в 2 лімфатичних вузлах
10	33	T1N1M0	G2	Інфільтративний часточковий рак з метастазами в 3 лімфатичних вузлах
11	64	T1N1M0	G2	Інфільтративний протоковий рак з метастазами в 2 лімфатичних вузлах
12	51	T4N2M1	G3	Інфільтративний часточковий рак з метастазами в лімфатичних вузлах, печінці, легенях
13	42	T1N0M0	G2	Інфільтративний протоковий рак
14	75	T1N0M0	G3	Інфільтративний протоковий рак
15	52	T2N1M1	G2	Інфільтративний протоковий рак з метастазами в лімфатичних вузлах, печінці
16	61	T1N1M0	G2	Інфільтративний протоковий рак з метастазами в 2 лімфатичних вузлах
17	54	T1N0M0	G2	Інфільтративний часточковий рак
18	65	T1N0M0	G2	Інфільтративний протоковий рак
19	60	T2N1M0	G1-G2	Інфільтративний протоковий рак з метастазами в 10 лімфатичних вузлах
20	49	T2N2M0	G2	Інфільтративний часточковий рак з метастазами в 7 лімфатичних вузлах

ування експлантатів пухлин кожної пацієнтки. Для хіміотерапевтичного лікування застосовували схеми CMF та CAF, для гормональної терапії — антиестрогени (тамоксифен) і в одному випадку — омнодрен.

Через 2 роки спостереження з 20 хворих померли 2 (10%) внаслідок прогресування метастазів в печінці, в 1 пацієнтки виник рецидив захворювання, причиною розвитку якого був мультицентричний ріст пухлини в молочній залозі і тому операція носила умовно-радикальний характер (квадрантектomia). Після операції тривалість життя 2 хворих з метастазами в печінці складала 9 і 12 міс відповідно. В решти пацієнток відзначено стійку ремісію захворювання.

Таким чином, загальна 2-річна виживаність хворих становила 90%, безрецидивна — 75%. Смерть двох хворих з наявністю віддалених метастазів на початку лікування свідчить про низьку ефективність терапії при вираженій інтоксикації

внаслідок масивного ураження пухлинним процесом. Як видно з результатів культивування, пухлини були малочутливими до цитостатиків, а в одному випадку (№ 12) відзначено стимуляцію росту пухлини під дією протипухлинних препаратів.

Розроблений нами спосіб визначення показань до хіміотерапії хворих на РМЗ може бути рекомендований для застосування в клінічній практиці при плануванні ад'ювантного лікування. Вважаємо за доцільне подальше вивчення віддалених результатів лікування хворих на РМЗ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Стенина М.Б. (2002) Перспективы и направления развития лекарственной терапии рака молочной железы. *Практ. онкол.*, 3(4): 44–54.
2. Diel I.J., Kaufman M., Costa S.D., Goerner R. (1996) Micrometastatic breast cancer cells in bone marrow at primary surgery: prognostic value in comparison with nodal status. *J. Natl. Cancer Inst.*, 88: 1652–8.
3. Aapro M.S. (1987) Clonogenic assays in the evaluation of antitumor chemotherapy. *Schweiz. Med. Wochenschr.*, 117: 1266–1269.

Таблиця 2

Результати культивування експлантатів пухлин РМЗ, об'єм лікування в групах хворих та дані 2-річного спостереження

№ з/п хворої	Група	TNM	Результати культивування, бал					Об'єм лікування	Результат лікування
			КК	ФУ	АБ	ЦФ	ФР		
1	1-ша	T1N0M0	2	*	1	1	1	Без АПХТ	ВДПХ
2		T1N0M0	5	*	3	1	6	Без АПХТ	ВДПХ
5		T1N0M0	6	*	6	2	1	1 курс CMF	ВДПХ
11		T1N1M0	2	1	*	2	2	6 курсів CMF	ВДПХ
13		T1N0M0	2	2	*	1	1	6 курсів CMF	ВДПХ
15		T2N1M0	2	2	*	1	1	3 курса CMF	ЛК
17		T1N0M0	2	1	*	1	1	Без АПХТ	ВДПХ
20		T2N2M0	2	1	*	1	1	1 курс CAF, 4 курси CMF	ВДПХ
18		T1N0M0	2	2	*	1	1	Без АПХТ	ВДПХ
3	2-га	T1N0M0	1	*	5	1	1	2 курси CMF	Рецидив пухлини
4		T1N0M0	1	*	6	6	5	Без АПХТ	ВДПХ
6		T1N0M0	1	*	5	5	5	Без АПХТ	ВДПХ
8		T1N0M0	1	*	1	6	1	Без АПХТ	ВДПХ
12		T4N2M1	1	2	*	2	2	Без АПХТ	ЛК
14		T1N0M0	2	2	*	2	5	Без АПХТ	ВДПХ
16		T1N1M0	1	2	*	2	2	4 курси CMF	ВДПХ
7	3-тя	T1N0M0	1	*	1	1	1	6 курсів CMF	ВДПХ
9		T1N1M0	1	*	1	1	1	Без АПХТ	ВДПХ
10		T1N1M0	1	*	1	1	1	1 курс CAF, 5 курсів CMF	ВДПХ
19		T2N1M0	1	1	*	1	1	1 курс CAF, 4 курси CMF	ВДПХ

* Дослідження не проводили; ВДПХ — відсутні дані щодо прогресування хвороби; ЛК — летальний кінець.

- Hermanek P., Hutter R.V.P., Sobin L.H., Wittekind Ch. (1999) Classification of isolated tumor cells and micrometastasis. *Cancer*, 86: 2668–73.
- Білинський Б.Т., Шнарик Я.В. (2001) Сучасні проблеми медикаментозної терапії раку грудної залози. Галицька видавнича спілка, Львів, 160 с.
- Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group (1992) Systemic treatment of early breast cancer by hormonal, cytotoxic, or immune therapy. 133 randomised trials involving 31,000 recurrences and 24,000 death among 75,000 women. *Lancet*, 339: 71–85.
- Colleoni M., Bonetti M., Coates S. et al. (2000) Early start of adjuvant chemotherapy may improve treatment outcome for premenopausal breast cancer patients with tumors not expressing estrogen receptors. *J. Clin. Oncol.*, 18: 584–590.
- Goldhirsch A., Glick G.H., Gelber R.D., Coates A.S., Senn H.J. (2001) Meeting highlights: international consensus panel on the treatment of primary breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 19: 3817–3827.
- Fisher B., Dignam J., Mamounas E. et al. (1996) Sequential methotrexate and fluorouracil for the treatment of node-negative breast cancer patients with estrogen receptor-negative tumors: Eight-year results from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-13 and first report of findings from NSABP B-19 comparing methotrexate and fluorouracil with conventional cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil. *J. Clin. Oncol.*, 14: 1982–1992.
- Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group (1998) Polychemotherapy for early breast cancer: an overview of randomized trials. *Lancet*, 352: 930–942.
- Lauchbury A.P., Habboubi N. (1993) Epirubicin and doxorubicin: a comparison of their characteristics, therapeutic activity and toxicity. *Cancer Treat. Rev.*, 19: 197–228.
- Levine M.N., Bramwell V.H., Pritchard K.I. et al. (1998) Randomized trial of intensive cyclophosphamide, epirubicin, and fluorouracil chemotherapy compared with cyclophosphamide, methotrexate and fluorouracil in premenopausal women with node-positive breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 16: 2651–2658.
- Mouridsen H.T., Andersen J., Andersson M. et al. (1999) Adjuvant anthracycline in breast cancer: improved outcome in premenopausal patients following substitution of methotrexate in the CMF combination with epirubicin. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 18: Abstr. 254.
- French Adjuvant Study Group (2000) Benefit of a high-dose epirubicin regimen in adjuvant chemotherapy for node-positive breast cancer patients with poor prognostic factors: 5-year follow-up results of French Adjuvant Study Group 05 randomized trial. *J. Clin. Oncol.*, 19: 599–601.
- Nabholtz J.M., Pienkowski T., Mackey J. et al. (2002) Phase III trial comparing TAC (docetaxel, doxorubicin,

- cyclophosphamide) with FAC (5-fluorouracil, doxorubicin, cyclophosphamide) in the adjuvant treatment of node positive breast cancer patients: interim analysis of the BCIRG 0001 study. In: Program and abstracts of the American Society of Clinical Oncology 38th Annual Meeting, Orlando, Florida, May 18–21: Abstr. 141.
16. NSABP Investigators (2001) The effect of primary tumor response of adding sequential Taxotere to Adriamycin and cyclophosphamide: preliminary results from NSABP protocol B-27. *Breast Cancer Res. Treat.*, 69(210): Abstr. 5.
 17. Evans T., Gould A., Foster E., Crown J.P., Leonard R., Mansi J.L. (2002) Phase III randomized trial of Adriamycin and docetaxel versus A and cyclophosphamide as primary medical therapy in women with breast cancer: an ACCOG study. In: Program and abstracts of the American Society of Clinical Oncology 38th Annual Meeting, Orlando, Florida., May 18–21: Abstr. 136.
 18. Семиглазов В.Ф. (2000) Адьювантная химиотерапия рака молочной железы. В кн.: Материалы IV Рос. онкол. конф., 21–23 ноября 2000 г., Москва, с. 12–16.
 19. Braun S., Kantenich C., Janni W. et al. (2000) Lack of effect of adjuvant chemotherapy on the elimination of single dormant tumor cells in bone marrow of high-risk breast cancer patients. *J. Clin. Oncol.*, 18: 80–86.
 20. Takamura Y., Kobayashi H., Taguchi T., Motomura K., Inajy H., Hogushi S. (2002) Prediction of chemotherapeutic response by collagen gel droplet embedded culture–drug sensitivity test in human breast cancers. *Int. J. Cancer*, 98(3): 450–455.
 21. Eltabbakh G.H., Piver M.S., Hempling R.E., Recio F.O., Lele S.B. et al. (1998) Correlation between extreme drug resistance assay and response to primary paclitaxel and cisplatin in patients with epithelial ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.*, 70(3): 392–397.
 22. Graham C.H., Kolayashi H., Stankiewicz K., Man S., Kapitan S.J., Kerbel R.S. (1994) Rapid acquisition of multicellular drug resistance after a single exposure of mammary tumor cell to antitumor alkylating agents. *J. Natl. Cancer. Inst.*, 86: 975–983.
 23. Perez-Soler R., Kemp B., Wu Q.P., Mao L., Gomes J. et al. (2000) Response and determinants of sensitivity to paclitaxel in human non small cell lung cancer tumor heterotransplanted in nude mice. *Clin. Cancer Res.*, 6(12): 4932–4938.
 24. Alexandre J., Bleuzen P., Bonnetterre J. et al. (2000) Factors Predicting for Efficacy and Safety of Docetaxel in a Compassionate-Use Cohort of 825 Heavily Pretreated Advanced Breast Cancer Patients. *J. Clin. Oncol.*, 18: 562–573.
 25. Кулик Г.И., Шпилюева С.И., Тарутинов В.И., Скляр С.Ю., Чехун В.Ф. (2000) Использование сыворотки крови больных раком молочной железы в качестве тест-объекта для определения индивидуальной чувствительности опухоли к противоопухолевым препаратам. В кн.: VII Рос. нац. конгресс «Человек и лекарство». Тез. докл., 2000, Москва, с. 265.
 26. Кулик Г.И., Шпилюева С.И., Чехун В.Ф. (2002) Основные принципы лекарственного лечения больных раком молочной железы. В кн.: Злоякісні новоутворення. Вип. 2. Матеріали респ. конф., Київ, с. 83–89.
 27. Fisher B., Dignam J., Tan-Chiu E. et al. (2001) Prognosis and treatment of patients with breast tumors of one centimeter or less and negative axillary lymph nodes. *J. Natl. Cancer Inst.*, 93: 112–120.
 28. Пат. 50595 А UA, МКИ G01N33/48, C12N5/00 Спосіб визначення показань до хіміотерапії раку молочної залози. Чешук В.Є., Бережна Н.М., Ковальчук О.В., Козленко О.В. — № 2002021682; Заявл. 28.02.2002; Опубл. Бюл. №10, 15.10.2002.
 29. Якимович Л.В., Бережная Л.М., Семенова-Кобхарь Р.А., Коноваленко В.Ф., Толстомятов Б.А. (1988) Использование метода диффузионных камер для выявления больных со злокачественными образованиями, подлежащих иммунотерапии рекомбинантным интерлейкином-2. Информ. письмо, Киев, 10 с.
 30. Чешук В.Е., Захарцева Л.М., Бережная Н.М. (2002) Изучение чувствительности эксплантатов рака молочной железы к химиопрепаратам. *Онкология*, 4(4): 263–268.