

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ НЕОАД'ЮВАНТНОЇ ПРОТИПУХЛИННОЇ ТЕРАПІЇ ПРИ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ. АСПЕКТИ АНГІО- ТА МОРФОГЕНЕЗУ

К.О. Галахін, С.Ю. Складар, Є.Р. Денека

Інститут онкології, Київ

Резюме. У статті наведені особливості терапевтичного потоморфозу раку молочної залози при застосуванні доопераційної селективної внутрішньоартеріальної поліхіміотерапії та дистанційної променевої терапії. Проведений аналіз васкуляризації стромы раку молочної залози як ключового фактора патогенезу і прогнозу захворювання.

Ключові слова: молочна залоза, рак, неоад'ювантна терапія, терапевтичний патоморфоз.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НЕОАД'ЮВАНТНОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ.

АСПЕКТЫ АНГИО- И МОРФОГЕНЕЗА

К.А. Галахин, С.Ю. Складар, Е.Р. Денека

Резюме. В статье показаны особенности терапевтического патоморфоза рака молочной железы при применении дооперационной селективной внутриартериальной полихимиотерапии и дистанционной лучевой терапии. Проведен анализ васкуляризации стромы рака молочной железы как ключевого фактора патогенеза и прогноза заболевания.

Ключевые слова: молочная железа, рак, неоад'ювантная терапия, терапевтический патоморфоз.

EFFICACY ESTIMATION OF NEOADJUVANT ANTITUMOROUS THERAPY IN CASES OF BREAST CANCER. ANGIO- AND MORPHOGENESIS ASPECTS

K.O. Galakhin, S.Yu. Sklyar, E.R. Deneka

Summary. Peculiarities of therapeutic pathomorphosis of breast cancer in preoperative use of selective intra-arterial polychemotherapy and distant radiotherapy described. Analysis of the status of vascularization of breast cancer stroma as key factor of pathogenesis and prognosis of the disease.

Key words: breast, cancer, neoadjuvant therapy, therapeutic pathomorphosis.

Адреса для листування:

Галахін Костянтин Олександрович
03022, Київ, вул. Ломоносова, 33/43
Інститут онкології АМН України

Рак молочної залози (РМЗ) займає провідне місце в структурі онкологічної захворюваності жіночого населення більшості економічно розвинутих країн світу. Рівень захворюваності на РМЗ в Україні за останні 40 років збільшився більше ніж у 3 рази — з 17,6 до 59,0 на 100 тис. населення. За даними Національного канцер-реєстру України в 2002 р. зареєстровано 15 273 випадки злоякісних новоутворень молочної залози, що складає 58,9 на 100 тис. населення. Таким чином проблема підвищення ефективності комплексного лікування та розробки лікувальних програм при РМЗ залишається найбільш актуальною в клінічній онкології та в організації онкологічної допомоги жіночому населенню України. Базовим методом лікування хворих на РМЗ залишається хірургічний, однак сучасне лікування передбачає використання перед операцією поліхіміотерапії (ПХТ) та променевої терапії (ПТ) для досягнення максимально можливої девіталізації злоякісних клітин шляхом виникнення терапевтично індукованих некрозів або припинення функціональної активності цих клітин через пошкодження ядерного апарату з «переходом» їх в стан апоптозу або

патологічних мітозів, що призводить до зменшення дольового вмісту ракової паренхіми та підвищення умови абластики під час хірургічного втручання. Доцільність використання неоад'ювантної протипухлинної терапії при місцево-поширеній формі РМЗ на сучасному етапі вже не потребує дискусій [1]. Використання доопераційного опромінення в режимі дрібних фракцій при лікуванні пацієток з РМЗ майже на місяць подовжує термін до операції, часто супроводжується кардіопульмональними порушеннями та ускладнює загоювання післяопераційної рани. Застосування внутрішньовенної системної ПХТ при місцево-поширеному процесі часто потребує високодозового режиму, що підвищує загальну токсичність, призводить до мієлосупресії і внаслідок цього — до перерв у лікуванні, вісцерального ураження паренхіматозних органів з розвитком метаболічних пошкоджень. Пошук шляхів мінімізації загальних ускладнень протипухлинного лікування призвів до використання онкологами рентгеноендоваскулярної селективної внутрішньоартеріальної поліхіміотерапії (рВАПХТ), яка дозволяє, завдяки цілеспрямованій доставці

хіміопрепаратів безпосередньо у власну систему кровопостачання молочної залози, активно впливати на пухлину, навіть з «терапевтичним переводом» її з неоперабельного в операбельний стан. Починаючи з 1990 р. в Інституті онкології АМН України розпочато застосування рВАПХТ як методу неoad'ювантного антибластомного впливу на РМЗ з ангіографічним анатомічним доступом до судин молочної залози (катетеризація внутрішньої, бокової і поверхневої грудних артерій, підлопаткової артерії та грудної гілки грудоакроміальної артерії за методикою О.Г. Югрінова [3, 4]) та дослідженням лікувального патоморфозу пухлини [5]. В останнє десятиріччя на підставі результатів морфологічних досліджень стану ангіо- та васкулогенезу різних гістотипів РМЗ доведено, що, наявність високої щільності васкуляризації відіграє ключову роль в прогресуванні хвороби і є суттєвим (вирішальним) фактором її несприятливого прогнозу [6–10].

Мета роботи — за результатами дослідження мікроскопічних особливостей лікувального патоморфозу РМЗ визначити ефективність різних режимів ПХТ та ПТ, застосованих на передопераційному етапі лікування.

Проведено морфологічний аналіз операційного матеріалу 282 хворих з вузловими формами РМЗ ІІБ–ІІІБ: 40 хворих на РМЗ, яким перед операцією не призначали антибластомних методів лікування (1-ша група, контроль) та 247 хворих, які отримали один із режимів неoad'ювантної терапії (2–7-ма групи). Лікувальний патоморфоз РМЗ вивчено в пухлинах молочної залози, які з морфологічних позицій відносилися до т.з. «інфільтруючих карцином», коли ступінь розвитку пухлинної інвазії вже не дозволяє точно встановлювати походження раку з дольок або протоків. Дослідження операційного матеріалу проведено у відділі патологічної анатомії Інституту онкології АМН України (керівник — проф. К.О. Галахін). Для мікроскопічного дослідження бралися зразки (шматочки) із трьох зон пухлини — периферійної, проміжної та центральної, які фіксувалися в 10% розчині формаліну з подальшою проводкою матеріалу і виготовленням парафінових блоків за загальноприйнятою у морфологічних дослідженнях методикою Г.А. Меркулова. На санному мікромомі виготовлялися зрізи товщиною 5–6 мк з трьох рівнів окремого парафінового блока — верхнього, середнього та нижнього. Такий методичний підхід дозволив отримати інформацію про стан васкуляризації пухлини молочної залози. При мікроскопічному дослідженні гістопрепаратів РМЗ, забарвлених гематоксиліном, еозином та пікрофуксином, проведена морфометрія відвідних (дренажних) судин строми пухлини з визначенням показника щільності васкуляризації за формулою:

$$\text{ЩВ} = (n_1 + n_2 + n_3)/3;$$

де ЩВ — щільність васкуляризації;

n_1 — найбільша кількість мікросудин у гістологічному зрізі, який виготовлено з периферійної зони пухлини, в одному полі зору мікроскопу (станд. зб. $\times 120$);

n_2 — теж у зрізі проміжної зони пухлини;

n_3 — теж у зрізі центральної зони пухлини.

Для усіх зрізів у підрахунок включали результат дослідження того поля зору мікроскопа, в якому кількість судин була найбільшою. Мікросудини в осередках ракової паренхіми не досліджувались, оскільки дистрофічні та некротичні зміни, що детерміновані неoad'ювантною ХТ не дозволяють їх чітко візуалізувати. Квантифікаційний аналіз мікросудин в пухлинах проводився при стандартному збільшенні мікроскопа ($\times 200$). Мікроскопічний аналіз і мікрофотозйомка пухлин молочної залози виконувався за допомогою світлового мікроскопа «POLYVAR-2». Морфометрія ракових клітин і судин в пухлині проводилася за методологією Г.Г. Автанділова.

Аналіз гістологічних препаратів пухлин молочної залози дозволив встановити певні закономірності лікувального патоморфозу, тобто їх структурну перебудову під дією зовнішнього чинника.

У хворих на РМЗ 1-ї групи (контроль) характерною ознакою була наявність великої кількості мікросудин пухлини, що забезпечують метаболізм та трофіку ракових клітин для підтримання життєздатності.

Хворим 2-ї групи перед операцією проводили ПТ за інтенсивною методикою (сумарна вогнищева доза (СВД) — 18–21 Гр) з метою нанесення вітальних та субвітальних пошкоджень, спрямованих на мітотично-активні клітини пухлини, що несуть загрозу дисемінації та імплантації під час та після хірургічної операції, а також сприяють метастазуванню. У цих хворих значна кількість мікросудин залишилась інтактною структурою із збереженими просвітами для кровообігу в пухлинній паренхімі, а також у стромі пухлини. Результати морфологічних досліджень свідчать, що ПТ призводить до значного пошкодження тканин найактивніших периферичних зон росту, однак зміни осередків пухлин та фіброзні зміни виражені незначно. Це пояснюється коротким терміном між закінченням ПТ та проведенням операції (24–72 год). При вивченні архітектоніки мікроскопічної будови пухлини відмічені послаблення та втрата контактів між її клітинами, внаслідок чого пласти ракової паренхіми дисоціюються на окремі комплекси та поодинокі клітини. В їх ядрах виникають явища апоптозу та патологічних мітозів, що свідчить про нездатність таких клітин до подальшої репродукції. Характерними є також дрібноосередкові некрози пухлинних клітин, однак більшість їх містять ядра зі структурно збереженою будовою. В стромі пухлин реєструється помірна гідрофілія, реологічні зміни в її судинах (стаз, сладж-феномен, мікротромбоз) є проявом патології агрегатного стану клітин крові, однак

більшість судин мікроциркуляторного русла залишається інтактними.

Хворим 3-ї групи на передопераційному етапі лікування призначали ПТ на молочну залозу за методикою дрібних фракцій (СВД — 40–45 Гр), хірургічне втручання виконували через 3–4 тиж після закінчення ПТ. Слід визначити, що у цих хворих розвивається післяпроменевий фіброз з дифузним розростанням сполучної тканини, кількість новоутворених судин зменшується, однак пухлинні осередки із збереженими мікросудинами майже не підпадають під вплив іонізуючої радіації. Зміни структури ракової пухлини реєструються у вигляді більш поширених некрозів пухлинної паренхіми, непухлинна строма втрачає фібрилярну будову, в ній розвивається гістіо-лімфоїдна інфільтрація, в судинах строми відбуваються зміни клітин крові, аналогічні таким при режимі крупного фракціонування.

Таким чином, при застосуванні ПТ за інтенсивною методикою зміни структури пухлинної паренхіми реєструються в основному як некрози у ділянці найактивніших зон росту, оскільки фіброзні зміни не встигають сформуватися через невеликий інтервал часу між закінченням ПТ та операцією. При застосуванні ПТ за методикою дрібних фракцій спостерігається активний розвиток сполучної тканини на місці некротичних змін паренхіми та строми ракової пухлини. Однак серед фіброзної тканини залишається деяка кількість новоутворених судин та життєздатних пухлинних комплексів навколо них.

При застосуванні в якості неоад'ювантного протипухлинного впливу внутрішньовенної системної ПХТ (СПХТ) (5–7-ма група хворих) в пухлинних клітинах реєструються ознаки хімічноіндукованих пошкоджень: фігури апоптозу, патологічні мітози, дрібно осередкові некрози із втратою ядер, однак домінують пухлинні клітини, що знаходяться в структурно збереженому стані. Мають місце ознаки гіперкоагуляції крові в

судинах строми, такі як і при застосуванні двох режимів ПТ (стаз, сладж-феномен, мікротромби), однак вони за кількістю або поширеністю уражених мікросудин суттєво не відрізняються від променевоіндукованих.

З точки зору класичної теорії J. Folkman [6] відносно значної ролі ангиогенезу для росту і розвитку злоякісних пухлин постає питання щодо необхідності застосування антиангіогенних засобів терапевтичного впливу на мікросудини з блокуванням розвитку та пригніченням життєздатності ракових клітин, а саме антинеоваскулярної рВАПХТ.

Заслужовують увагу результати мікроскопічного аналізу пухлин молочної залози після неоад'ювантного впливу на них селективної рВАПХТ у хворих 4-ї групи. Аналіз морфологічних змін, зумовлених протипухлинним ефектом рВАПХТ у хворих на РМЗ, в Україні здійснено вперше. В цьому випадку комплекс патоморфологічних змін складається з васкулярно-паренхіматозних порушень. Судинні зміни виглядають таким чином: сладж-феномен (аглотинація клітин крові), мікротромби (клітинні, фібринові, змішані) із стенозом або обтурацією судинних просвітів, фібриноїдні некрози судинних стінок з виходом плазми в периваскулярні простори (плазморагії) з подальшим розвитком склерозу судинних стінок та облітерацією просвітів мікросудин. В пухлинній паренхімі, насамперед в ділянках, які межують з осередками порушеної васкуляризації, виникають поширені некрози колікваційного («вологого») типу. Це свідчить про вихід молекул хіміопрепаратів за межі судин з подальшою реалізацією ушкоджуючого впливу на ракові клітини. Для з'ясування порівняльної ефективності всіх застосованих методів неоад'ювантної протипухлинної терапії проведено відповідний квантифікаційний аналіз клітин пухлини, які не підпали під антибластомний вплив ХТ або ПТ, а також проявили природну резистентність до їх дії (табл. 1).

Таблиця 1
Морфометрична оцінка антибластомного впливу на РМЗ передопераційних методів протипухлинного лікування

Група хворих	Кількість хворих	Режим неоад'ювантної терапії	Дольовий вміст резидуальної структурно збереженої пухлинної паренхіми, $M \pm m\%$	Достовірність відмінностей показника між групами хворих, $p < 0,05$
1-ша	40	не проводили	$78,6 \pm 7,7$	1–2, 1–3, 1–4, 1–6, 1–7
2-га	33	ПТ за методикою крупних фракцій (СВД — 18–21 Гр)	$47,5 \pm 3,6$	2–3, 2–4, 2–5
3-тя	39	ПТ за методикою дрібних фракцій (СВД — 40–45 Гр)	$35,2 \pm 2,8$	3–4
4-та	69	рВАПХТ	$26,2 \pm 6,4$	4–5
5-та	72	СПХТ (1 курс)	$70,8 \pm 8,9$	
6-та	10	СПХТ (2 курси)	$50,4 \pm 6,8$	
7-ма	19	СПХТ (3 курси)	$33,0 \pm 3,1$	

Примітка. Підрахунок кількості ракових клітин проводився в структурно збережених пухлинних осередках, які не підпали під вплив хіміотерапії або проявили хіміорезистентність. Такі клітини залишалися зі структурно збереженими ядрами, не мали ознак пошкодження, патологічних мітозів або апоптозу.

Таблиця 2

Стан васкуляризації РМЗ у хворих після застосування неoad'ювантної протипухлинної терапії, абс. число (%)

Група хворих	Режим неoad'ювантної терапії	Щільність васкуляризації	
		Гіперваскуляризація	Гіповаскуляризація
1-ша	не проводили	34 (85)	6 (15)
3-тя	ПТ за методикою дрібних фракцій (СВД — 40–45 Гр)	25 (64,1)	14 (35,9)
7-ма	СПХТ (3 курси)	5 (26,3)	14 (73,7)
4-та	рВАПХТ	12 (17,4)	57 (82,6)

Отримані результати демонструють наявність певних закономірностей щодо визначення вірогідних розбіжностей в оцінці ефективності застосованих методів неoad'ювантної терапії хворих на РМЗ. Головними з них є наступні: ПТ в режимі дрібних фракцій та більшою СВД проявляє кращу морфологічну ефективність, ніж при застосуванні режиму крупних фракцій та меншої СВД, але збільшує термін до проведення операції, що може стати причиною дисемінації процесу із структурно збережених життєздатних пухлинних осередків, новоутворених судин та пухлинних комплексів навколо них. Системна ПХТ (3 курси) не поступається за ефективністю ПТ при значеннях СВД 40–45 Гр, але також збільшує термін до видалення злоякісної пухлини. З одного боку рВАПХТ проявляє найбільший девіталізуючий вплив на ракові клітини, а з другого — дозволяє раніше перевести неоперабельні форми РМЗ в операбельні, що запобігає дисемінації та скорочує термін до операції. Все це в цілому підвищує ефективність лікування хворих на РМЗ.

Для з'ясування ролі ангіогенезу РМЗ в групах хворих з найбільш ефективними результатами антибластомної терапії (1-ша, 3-тя, 4-та і 7-ма, див. табл. 1) визначена щільність васкуляризації (табл. 2).

При мікроскопічному дослідженні пухлин, що були під впливом рВАПХТ, реєструються суттєві васкулярні порушення мікроциркуляторного русла. Цілеспрямована доставка хіміопрепаратів до пухлини гематогенним шляхом призводить до стазу крові, розвитку сладж-феномену зі «склеюванням» (аглотинацією) клітинних елементів крові, утворення фібринових ниток. При дослідженні післяопераційного матеріалу (через 3–4 тиж після проведення рВАПХТ) реєструється обтурація просвітів судин і множинні тромби в стані організації.

Звертають на себе увагу дві суттєві особливості стану ангіо- та васкулогенезу РМЗ. По-перше, у хворих 1-ї групи (контрольної) переважають карциноми, які знаходяться в стані гіперваскуляризації, що свідчить про васкулярно-трофічне забезпечення життєдіяльності пухлинних клітин на високому метаболічному рівні. У 85% пацієнтів цієї групи без попереднього антибластомного впливу були виконані хірургічні втручання за наявності пухлин високого ступеня васкуляризації (гіперваскуляризації). По-друге, завдяки використанню в

неoad'ювантному режимі СПХТ (3 курси) або рВАПХТ вже на доопераційному етапі лікування хворих на РМЗ досягається «терапевтичний перехід» пухлини із стану гіперваскуляризації в стан гіповаскуляризації. При застосуванні СПХТ гіперваскуляризація виявлена у 26,3% хворих, при рВАПХТ — тільки у 17,4%, що у 3–4 рази менше, ніж за відсутності неoad'ювантної терапії, та у 2–3 рази менше, ніж у разі призначення ПТ. Це свідчить про значно більший вплив рВАПХТ на процес новоутворення судин в пухлині молочної залози.

Таким чином, ці два методи передопераційного лікування мають подвійну спрямованість — на судини мікроциркуляторного русла РМЗ і пухлинні клітини — що, починаючи з часу проведення операції, зменшує ризик гематогенного метастазування. Рентгеноендоваскулярна ВАПХТ є ефективним методом регіонарної протипухлинної терапії, при відсутності відповідного рентгеноендоваскулярного обладнання клінічно доцільним є проведення 3–4 курсів СПХТ. Найбільший девіталізуючий, протирецидивний та протиметастатичний ефект слід очікувати у випадку комбінації системної та регіонарної ПХТ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бондар Г.В., Сєдаков І.Е., Шлопов В.Г. (2005) Первинно-неоперабельний рак молочної залози. Каштан, Донецьк, 348 с.
2. Семиглазов В.Ф. (2002) Соотношение хирургического и системного лечения рака молочной железы. Вопросы онкологии, 48(4–5): 505–507.
3. Югринов О.Г., Черный В.А., Шепотин И.Б., Галахин К.А. (1990) Эндоваскулярная хирургия и селективная внутриартериальная химиотерапия опухолей основных локализаций. В кн.: Тезисы докладов VIII съезда онкологов УССР. Донецк, 201–204.
4. Скляр С.Ю., Югринов О.Г., Галахин К.О., Тельний В.В. (2003) Спосіб лікування місцево-поширених форм раку молочної залози. Патент України на винахід №2003021670 від 17.11.2003, Бюл. № 11.
5. Галахин К.А., Югринов О.Г., Курик Е.Г., Мельник Н.Н. (2000) Химотерапевтический патоморфоз злокачественных опухолей. Укр. хімотерапевт. журн., 4: 8–13.
6. Folkman J. (1990) What is the evidens that the tumors are angiogenesis-dependent? J. Nat. Cancer Inst., 82: 4–6.
7. Wu J. (1996) Apoptosis and angiogenesis: two promising tumor markers in breast cancer. Anticancer Res., 4b: 2233–2240.
8. Engels K., Fox S., Whitehouse R et al. (1997) Distinct angiogenic patterns are associated with high-grade in situ ductal carcinomas of the breast. J. Pathol., 2: 207–212.
9. Benson J., Osborne M. (1998) Breast cancer therapy. Lancet, 9096: 145–150.
10. Magennis D. (1998) Angiogenesis: a new prognostic marker for breast cancer. Brit. J. Biomed. Science, 3: 214–220.