

С.М. Пушкар,
Т.П. Якімова,
Н.В. Білозір

Інститут медичної радіології
ім. С.П. Григор'єва
АМН України, Харків,
Харківська медична академія
післядипломної освіти

Використання таксотеру як індуктора апоптозу у неoad'ювантній хемопротерапії за давнених форм місцево-поширеного раку грудної залози

The use of Taxotere as apoptosis inductor in neoadjuvant chemoradiotherapy for advanced local breast cancer

Цель работы: Целью работы стало определение эффективности применения в качестве индуктора апоптоза толерантных доз препарата «Таксотер» при неoad'ювантній химиолучевой терапии в классическом режиме при лечении местно-распространенного рака грудной железы (РГЖ) ІВ–ІІВ стадии.

Материалы и методы: Были проведены клинико-морфологические обследования 59 женщин в возрасте 30–65 лет, больных РГЖ ІВ–ІІВ стадии. Больные были разделены на 2 группы: 1-я (19 человек) наряду с неoad'ювантній лучевой терапией (ЛТ) в классическом режиме фракционирования (СОД 60 Гр) получала препарат «Таксотер» в толерантных дозах; 2-я (40 человек) — только неoad'ювантній лучевую терапию в классическом режиме (СОД 60 Гр). На гистологических препаратах резецированной опухоли изучен лучевой патоморфоз и апоптозный индекс опухолевых клеток. Степень общей токсичности организма, а также выраженность местных лучевых реакций определяли по шкале ВОЗ.

Результаты: Химиолучевая терапия с использованием таксотера не увеличивала степень местных лучевых реакций, гематологических и негематологических признаков общей интоксикации по сравнению с неoad'ювантній ЛТ в классическом режиме. Средние показатели лучевой регрессии опухоли у больных 1-й группы составляли 75–90 % против 40–50 % во 2-й группе. У 2 из 19 больных 1-й группы наблюдалась полная (100 %) регрессия опухоли. Высокий уровень «отзыва опухоли на лечение» подтверждался достоверным увеличением патологических митозов и дистрофических изменений в опухолевых клетках.

Выводы: Разработанный метод использования толерантных доз таксотера при неoad'ювантній ЛТ в классическом режиме — эффективный и перспективный метод для проведения полноценного комбинированного лечения местно-распространенных форм РГЖ.

Ключевые слова: местно-распространенный рак грудной железы, неoad'ювантній лучевая терапия, индукция апоптоза, таксотер.

Objective: To determine the efficacy of tolerant doses of Taxotere as an inductor of apoptosis at neoadjuvant chemoradiation therapy in the generally accepted regimen when treating stage 2B-3B local breast cancer (BC).

Material and Methods: Fifty-nine women aged 30-65 with stage 2B-3B BC underwent clinical morphological investigation. The patients were divided into 2 groups: group 1 (19 subjects) was administered Taxotere at tolerant doses in addition to neoadjuvant radiation therapy (RT) in a generally accepted fractionation mode (TFD 60 Gy), group 2 (40 patients) was administered only radiation therapy in a generally accepted mode (TFD 60 Gy). Radiation pathomorphism and apoptosis index were studied on histological specimens of the resected tumors. The degree of total organism toxicity as well as local radiation reactions was determined using the WHO scale.

Results: Chemoradiation therapy with the use of Taxotere did not increase the degree of local radiation reactions, hematological and non-hematological signs of general intoxication when compared with neoadjuvant RT in the generally accepted mode. Mean indices of radiation regression of the tumor in patients of group 1 were 75-90% vs 40-50% in group 2. Total tumor regression was observed in 2 of 19 patients of group 1. High degree of the tumor response to the treatment was proven by significant increase of pathological mitoses and dystrophic changes in the tumor cells.

Conclusion: The developed method of administration of tolerant doses of Taxotere in addition to neoadjuvant RT in the generally accepted mode is an effective and promising method of multimodality treatment for local BC.

Key words: local breast cancer, neoadjuvant radiation therapy, apoptosis induction, Taxotere.

Протягом останніх десятиріч рак грудної залози (РГЗ) посідає провідні позиції у структурі онкозахворюваності серед жінок не тільки в нашій країні, а й в усьому світі [1, 2]. Понад 1 млн нових випадків РГЗ реєструється у світі щороку без тенденції до стабілізації показників. За 10 років захворюваність на РГЗ в Україні щороку зростала на 1–2 % і досягла

60,9 % на 100 тис. жіночого населення, при цьому висока питома вага припадає на місцево-поширені форми захворювання (від 35,9 до 44,9 %) [3, 4]. Попри високоінформативні сучасні методи діагностики, кількість жінок із за давненими первинно-неоперабельними формами РГЗ залишається високою, що свідчить про необхідність розробки нових високоефек-

тивних технологій у складі комплексного лікування таких хворих.

Відомо, що найвищий антибластомний ефект можна отримати при дії на пухлину радіаційним фактором у поєднанні з різного роду радіосенсибілізаторами. З цією метою була розроблена схема застосування нового цитотоксичного препарату «Таксотер», введення якого перед променевою терапією (ПТ) індукує апоптоз пухлинних клітин.

Таксотер належить до групи таксанів — антинеопластичних агентів, які спричиняють порушення клітинного поділу. У цьому беруть участь два головні механізми посилення радіочутливості. Один з них — це арешт клітин у G_2 -і М-фазі мітозу з їх загибеллю; другий — це реоксигенація радіорезистентних гіпоксичних клітин з наступним апоптозом. Кінцевий результат здійснюється шляхом активації генів p-53 та Bcl-2. За даними ряду авторів, таксани можуть посилювати радіочутливість пухлинних клітин з підвищенням її від 1,1 до 3,0 од. [5]. Введення у схему передопераційної ПТ таксотеру з групи таксанів було спрямоване на підвищення радіочутливості пухлинних клітин.

У літературі описано приклади позитивного застосування цього препарату, як у випадку монотерапії, так і із застосуванням ад'ювантного режиму ТАС (таксотер, доксорубіцин і циклофосфамід) при різних формах операбельного РГЗ [6, 7]. Значне подовження безрецидивного періоду при застосуванні таксотеру було й у хворих на рак: шлунку, голови і шиї, легень, простати [8–13]. Показано, що таксотер — єдиний лікарський засіб у групі таксанів з позитивним впливом на виживаність як при гормонопозитивному, так і при гормононегативному РГЗ. Але лікування таксотером у монорежимі в межах терапевтичних доз (75–100 мг/м² 4–6 курсів) супроводжується інтоксикацією II–III ступеня, що зашкоджує завершенню терапевтичного курсу в повному обсязі. Застосування препарату в толерантних дозах дозволяє запобігти ризикові розвитку загальнотоксичних реакцій, а у поєднанні з одночасно здійснюваною ПТ — підвищити ефективність лікування. Зважаючи на викладене вище, розробка нових методик і режимів неоад'ювантної хемопроме-

невої терапії за давнених форм РГЗ набуває наукової і практичної значущості. На підставі аналізу даних вітчизняної та зарубіжної літератури про механізми дії таксотеру на пухлинні клітини ми розробили лікувальний план хемопроменевої терапії хворих з первинно-неоперабельним РГЗ.

Мета роботи полягала у визначенні ефективності толерантних доз таксотеру як індуктора апоптозу при неоад'ювантній хемопроменевої терапії у класичному режимі місцево-поширеного РГЗ (ІІБ–ІІІБ ступеня).

Методика дослідження

Клініко-морфологічні дослідження проведено на 59 особах віком 30–65 років, хворих на РГЗ ІІБ–ІІІБ стадії (T2–3N0–1M0–1–T1–4N0–3M0).

Досліджуваних пацієнтів було розподілено на 2 групи. Перша складалася з 19 жінок, хворих на РГЗ ІІБ–ІІІБ стадії, у яких до складу неоад'ювантного традиційного променевого лікування було введено малі дози таксотеру перед початком 5–6 тижневих циклів ПТ. Традиційну ПТ проводили малими фракціями у режимі 2,0 Гр × 5 фракцій на тиждень за програмою: на зону онкоосередку — СОД 60 Гр, на аксиллярну — СОД 45 Гр, за наявності конгломерату лімфовузлів додавали 20 Гр безперервно або через 2–3 тижні з таким же режимом фракціонування; на надпідключичну і на парастернальну ділянки — СОД 40 Гр.

Протягом усього лікування раз на тиждень за 24 год до опроміювання внутрішньо вводили таксотер (разова доза 20 мг крапельно на 400,0 мл фізіологічного розчину). Премедикацію робили дексаметазоном перорально двічі на день у разовій дозі 8 мг (16 мг на добу) упродовж 3 діб. Таксотер вводили на 2-гу добу після початку премедикації.

Другу групу складала хворі на РГЗ ІІБ–ІІІБ стадії (40 жінок), які одержували тільки традиційну ПТ малими фракціями у вищенаведеному режимі (СОД 60 Гр).

Передопераційну променевою та хемопроменевою терапію у хворих на РГЗ ІІБ–ІІІБ стадій проводили на гамма-терапевтичних апаратах РОКУС-АМ, РОКУС-М.

Для оцінки безпосередніх результатів протипухлинної терапії, яку застосовували хворим на РГЗ, досліджували динаміку змін розмірів пухлини, або протипухлинного ефекту (повна або часткова регресія, стабілізація процесу, прогресування хвороби), вивчали вираженість променевих реакцій і ускладнень [10]. По закінченні хемопроменевого лікування і після операційного втручання вивчали променевий патоморфоз на гістологічному рівні. Враховували резидуальний об'єм пухлинної тканини, стан дистрофічних змін у пухлинних клітинах, їх мітотичну активність [14, 15].

Рівень спонтанного апоптозу визначали у біопсійному матеріалі нативних пухлин (92 випадки), а індукований апоптоз — у пухлинних клітинах резектованих новоутворів. Крім того, враховували макроскопічні характеристики, такі як величина пухлини, кількість уражених метастазами лімфатичних вузлів.

Для морфологічного дослідження після оперативного втручання брали шматочки ракової пухлини та лімфатичних вузлів, фіксували в 10 %-ому формаліні, а після целюдинової або парафінової проводки забарвлювали гематоксилином та еозинном за методом Ван-Гізона.

Кількісну оцінку апоптичних клітин у пухлинах проводили з використанням апоптичного індексу, який

характеризує кількість клітин з морфологічними ознаками апоптозу. Після депарафінування парафінових зрізів та промивки фосфатно-солевим буфером (рН – 7,0) їх забарвлювали барвником Hoechst 33342 (5 мг/мл) впродовж 20 хв при кімнатній температурі. За допомогою флуоресцентного мікроскопа рахували кількість клітин з характерною для апоптозу «структурою» — конденсацією і фрагментацією ядра, фрагментацією клітин з утворенням дискретних апоптичних тіл. Результати виражали у відсотковому відношенні клітин з флуоресцентними фрагментами ДНК апоптично змінених клітин на 100 досліджених клітин у полі зору.

Для уточнення локалізації процесу, оцінки місцевого поширення пухлини, динаміки процесу та візуалізації безпосередніх результатів при проведенні хемопроменевої терапії використовували метод ультразвукової діагностики (апарат для УЗД — Siemens G-50).

Ступінь загальної токсичності визначали за шкалою ВООЗ (нудота, слабкість, головний біль, периферична нейротоксичність, цитопенія).

Результати та їх обговорення

Незважаючи на досить важкий контингент хворих, заплановане хемопроменеве лікування (СОД 60,0 Гр) з таксотером було виконано у повному обсязі.

Безпеку щодо розвитку токсичних реакцій при обраній дозі таксотеру (4–6 курсовий прийом таксотеру по 20 мг 1 раз на тиждень проти 100 мг/м² у такому ж режимі) підтверджувала відсутність виражених реакцій з боку периферичної крові, неврологічних, дерматологічних та алергічних проявів.

У всіх пацієнток на різних етапах курсу хемопроменевої терапії відзначали короткочасні прояви негематологічної токсичності I ступеня. Основними скаргами хворих у день прийому таксотеру було відчуття жару, гіперемії обличчя, паління у долонях або стопах. Ступінь визначеності даних симптомів був незначним, і їх прояви купірувалися самостійно.

У середині курсу хемопроменевої терапії хворі скаржилися на слабкість, втому, періодичні парестезії у кінцівках.

Ступінь гематологічної токсичності оцінювали за показниками периферичної крові (лейкоцити, гранулоцити). У хворих, які одержували хемопроменеву терапію з таксотером, вірогідно знижувалася кількість лейкоцитів (від 2,0 до 3,0 × 10⁹/л), гранулоцитів (від 1,0 до 1,9 × 10⁹/л) з розвитком лейко- та нейтропенії I–II ступеня протягом усього періоду обстеження.

У цілому загальна токсичність не перевищувала II ступінь. Так, токсичність I ступеня було

відзначено у 78,9, а II — у 21,1 % хворих, які отримували хемопроменеву терапію з толерантними дозами таксотеру.

У групі пацієнтів з місцево-поширеним РГЗ, які одержували неоад'ювантну ПТ у класичному режимі (СОД 60 Гр), загальна токсичність спостерігалася у межах вищенаведеного обсягу, що свідчило про відсутність помітної додаткової токсичності. За даними літератури, лікування таксотером (доцетакселом) у терапевтичній дозі (100 мг/м² 1 раз через 3 тижні впродовж 4–6 курсів) призводить до більш вираженої токсичності. У 70,5 % пацієнток розвивалася мієлодепресія з III і IV ступенем нейтропенії, а у 13,6 % хворих — нейтропенічний сепсис [16–18].

Під час лікування, особливо наприкінці і після закінчення курсу ПТ, незважаючи на пролонговану програму, у хворих розвивалися місцеві променеві реакції шкіри різного ступеня тяжкості. Так, еритроматозний дерматит розвивався у всіх хворих обох груп; вологий дерматит — у 34 % осіб 1-ї, та у 36 % 2-ї групи. Локальний набряк діагностовано в 35–37 % від загальної кількості хворих, тобто поєднання таксотеру з ПТ не впливало на ускладнення місцевого кровообігу.

Безпосередні результати лікування оцінювали за ступенем регресії пухлини. Для зручності оцінки динаміки процесу під впливом передопераційної хемопроменевої терапії були індивідуально розраховані об'єми пухлин для кожної хворої за формулою (L × M × N × 0,66). Об'єм пухлинних утворів у хворих дослідженої групи становив 2,7–158,2 см³, медіана — 76 см³.

За даними УЗД у 1-й групі хворих у процесі хемопроменевої терапії з таксотером вже у середині лікувального циклу регресія пухлини була в межах 60–100 % (табл. 1).

У більшості пацієнтів (42,2 %) цієї групи пухлини регресували в середньому на 85 % (80–89 %). У 26,4 % пацієнток ступінь регресії становив у середньому 93 % (90–95 %), а у 2 (10,5%) мала місце повна (100%) регресія пухлини, лише в 1 випадку спостерігалася її мінімальна величина — 60 %. У 60 % обстежених хворих на РГЗ 1-ї групи відзначалася щільна фіксація з передньою грудною стінкою, яка після закін-

Ступінь регресії пухлини у хворих на РГЗ
при проведенні хемопроменевої (1-ша група) і променевої терапії (2-га група)
Degree of the tumor regression in patients with BC
at chemoradiation therapy (group 1) and radiation therapy (group 2)

Хворі на РГЗ	Кількість хворих	Регресія, % від вихідного рівня						
		40	50	60	70–75	80–89	90–95	100
Комплексна ХПТ з таксотером (1-ша група), % від загальної кількості хворих	19	—	—	5,2	15,7	42,2	26,4	10,5
ПТ дрібними фракціями (2-га група), % від загальної кількості хворих	40	35	60	—	5	—	—	—

чення лікувального курсу у 78 % випадків практично не візуалізувалася. У більшості хворих (63 %) мала місце 100 %-ва регресія метастазів у пахвових лімфатичних вузлах.

У цілому при застосованому режимі лікування кількість хворих з високим рівнем регресії (80–100 %) була вірогідно вищою ($p = 0,00$), ніж у групі з класичною ПТ.

Все це дозволило перевести пацієнток з неоперабельним РГЗ, які пройшли курс хемопроменевого лікування у неоад'ювантному режимі, в операбельний стан та виконати їм радикальне хірургічне втручання.

У групі хворих, які одержали тільки неоад'ювантну ПТ у режимі класичного фракціонування, частина пухлини, яка регресувала по закінченні радикального курсу ПТ, не перевищувала 50 % від вихідного рівня, тобто виявлялися тільки мінімальні значення часткової регресії первинного осередку. При цьому у 35% хворих «відгук пухлини на лікування» не досягав рівня часткової регресії і становив 40–45 %. У цих хворих спостерігалася проростання у шкіру, зони некротично зруйнованої шкіри, які після курсу ПТ, хоча й значно зменшувалися, але вкупі з мінімальною регресією пухлини зашкоджували виконанню хірургічного лікування. Цим хворим призначали додатковий курс хемотерапії.

Явищ «відсутності регресії», стабілізації або прогресування злоякісного осередку ми не спостерігали в жодній з груп.

Як показали наші дослідження порівняльної морфологічної характеристики клітин РГЗ при різних методиках комбінованої терапії, застосування тільки ПТ дрібними фракціями призводить до помірного пошкодження пухлин. Хемопроменева терапія з індукцією апоптозу таксотером збільшує показники променевого ушкодження. Це відбилося в зниженні мітотич-

ного індексу у 2 рази і було вірогідним як до показників у нативній пухлині, так і в групі з ПТ дрібними фракціями. При індукції апоптозу таксотером кількість патологічних мітозів, як і ступінь дистрофічних змін пухлинних клітин, теж значно збільшувалася (на 1/3 та у 3 рази відповідно) порівняно з показниками у нативній пухлині.

У групі з хемопроменевою терапією клітинні стромальні реакції зменшуються відносно показників у перших двох групах (нативні пухлини і новоутвори після фракційного опромінювання), що свідчить про зниження бар'єрних функцій пухлинного ложа. Остання обставина створює сприятливі умови для проникнення у новоутвір циторедуктивних препаратів, у даному разі таксотеру, що підтверджується дуже низьким рівнем мітотичного індексу з великою часткою патологічних мітозів і високими показниками редукції пухлинної тканини (75–100 %).

Вивчення апоптозного індексу у хворих на РГЗ показало, що він значно змінюється залежно від гістотипу пухлини. Мінімальний низький рівень апоптозу у клітинах нативних пухлин був визначений при медулярному раці ($0,85 \pm 0,07$ %), максимальний — при тубулярному ($3,758 \pm 0,350$ %) та плоскоклітинному ($3,84 \pm 0,22$ %). Слід зазначити, що аналогічна залежність рівня апоптозу від гістотипу пухлини зберігалася й при застосуванні схеми передопераційної хемопроменевої терапії з таксотером.

Передопераційне опромінювання в класичному режимі дрібними фракціями хворих на РГЗ практично не впливало на рівень апоптозного індексу, який в середньому (40 хворих) дорівнював $4,25 \pm 0,41$ проти $3,38 \pm 0,27$ % в 92 нативних пухлинах — $p = 0,008$ (табл. 2).

Апоптозний індекс у пухлині хворих на РГЗ після проведення хемопроменевої терапії з таксотером і класичної ПТ

Apoptosis index in BC after chemoradiation treatment with Taxotere and traditional RT

Група хворих	N	$\bar{x} \pm S_x$	p
До лікування (нативна пухлина)	92	3,38 ± 0,27	
Класична променева терапія	40	4,25 ± 0,41	0,008 *
Хемопроменева терапія з таксотером	19	10,50 ± 0,71	0,00*, **

* — вірогідно відносно нативної пухлини;

** — відносно класичної ПТ.

У групі хворих з ІІБ-ІІІБ стадією захворювання (19 жінок), які отримували передопераційну хемопроменеву терапію з індуктором апоптозу таксотером, апоптозний індекс вірогідно підвищувався у понад 3 рази ($10,5 \pm 0,71\%$) порівняно з відповідним показником у нативній пухлині ($p=0,00$). У двох випадках при патоморфологічному обстеженні мікропрепаратів виявлено повну регресію новоутвору.

Гістіоцитоз синусів лімфатичних вузлів при ПТ зростає, що може свідчити про активацію імунної системи та порушення пухлинної тканини. Цей показник був найвищим у хворих, які одержували ПТ на фоні індукції апоптозу.

Таким чином, у групі пацієнток з індукцією апоптозу таксотером високий рівень регресії пухлин (70–100 %) підтверджувався найнижчими показниками мітотичного індексу в пухлині, найвищими показниками активності гістіоцитів у лімфатичних вузлах, високим рівнем патологічних мітозів та 3-разовим збільшенням індексу апоптозу при порівняльному аналізі показників у обстежених групах.

ВИСНОВКИ

1. Хемопроменева терапія у неoad'ювантному режимі з індукцією апоптозу таксотером дозволяє досягнути високого рівня «відгуку пухлини на лікування» з повною, стовідсотковою регресією у 10,5 % випадків і частковою, у межах 60–75 % регресії пухлини у 19,7 % хворих, та 80–95 % ефекту у 69,8 % пацієнток.

2. Застосування таксотеру в толерантній дозі з ПТ не впливає на збільшення загальної токсичності та місцевих променевих ушкоджень.

3. Запропонований режим неoad'ювантного лікування хворих з первинно-неоперабельним РГЗ дозволив перевести пацієнток у опе-

рабельний стан і виконати їм радикальне хірургічне втручання.

4. Лікувальний ефект після неoad'ювантної хемопроменевої терапії підтверджується показниками морфофункціонального патоморфозу на гістологічному рівні.

Література

1. Бондарь Г.В., Седаков И.Е., Смирнов В.Н. и др. // *Международ. мед. журн.* — 2003. — Т. 9, вып.4. — С. 94–98.
2. Meric-Bernstam F. // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* — 2004. — Vol. 9, № 100. — P. 1823–1832.
3. Седаков И.Е. // *Медико-социальные проблемы сям'и.* — 2003. — № 8, вып.4. — С. 55–61.
4. Федоренко З.П., Гулак Л.О., Горох Є.Л. та ін. // *Бюл. Нац. канцер-реєстру України.* — 2005. — № 6. — С. 97.
5. Cyarles A.G., Han T.Y., Lin Y.Y. // *Cancer Chemother. Pharmacol.* — 2001. — Vol. 47, № 5. — P. 444–450.
6. Хабхольц Ж-М., Руба А. // *The Oncologist.* — 2001. — Vol.6, № 3. — P. 5–12.
7. В.Ф. Семиглазов, В.В. Семиглазов, В.Г. Иванов *Адьювантная системная терапия рака молочной железы: Метод. рекомендации.* — СПб, 2004. — 14 с.
8. Nabholz J-M., Tonkin K, Smylic U. et al. // *Exp. Opin. Pharmacother.* — 2000. — Vol. 187, № 1. — P.187–206.
9. Bigazoli L., Cufer T., Bruning P. et al. // *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* — 2000. — № 19. — P. 282–290.
10. Maurel J., Gervantes A., Conill C. et al. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 2005. — Vol.62, № 1. — P. 91–96.
11. Suzuki M., Nishimura Y., Nakamatsu K. et al. // *Jpn. J. Clin. Oncol.* — 2003. — Vol. 3, № 6. — P. 297–301.
12. Gamane G., Tumori M., Nishiki M. et al. // *Gan to kagaku Ryoho.* — 2002. — Vol. 29, № 6. — P. 921–925.
13. Wirth L.J., Lucca J., Oster P. et al. // *Clin. Cancer Res.* — 2003 — Vol.9, № 5. — P. 1698–1704.
14. Якимова Т.П. *Морфологические критерии оценки эффективности лучевого лечения и прогноза при раке молочной железы: Информ. письмо.* — К., 1986. — 2 с.
15. Якимова Т.П., Таран Н.М. // *УРЖ.* — 1995. — Т. IV, вып. 3. — С. 223–227.
16. Karasawa K., Katsui K., Seki K. et al. // *Breast Cancer.* — 2003. — Vol. 10, № 3. — P. 268–274.
17. Goble S., Bear H.D. // *Surg. Clin. North Am.* — 2003. — Vol. 83, № 4. — P. 943–971.
18. Amat S., Bougnoux P., Penault-Llorka F. et al. // *Br. J. Cancer.* — 2003. — Vol. 88, № 9. — P. 1339–1345.

Надходження до редакції 05.02.2007.

Прийнято 26.02.2007.

Адреса для листування:
Пушкар Сергій Миколайович,
пр-т Леніна, 52, кв. 34, Харків, 61072, Україна