

**Смоланка І.І., Скляр С.Ю., Югрінов О.Г., Ковальчук Є.Н.**  
**ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ НЕОАД'ЮВАНТНО ПРОТИПУХЛИННО ТЕРАПІ ПРИ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА**  
**РАК МОЛОЧНО ЗАЛОЗИ. АСПЕКТИ АНГІО- ТА МОРФОГЕНЕЗУ**

**Національний інститут раку МОЗ України, м. Київ**

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ НЕОАД'ЮВАНТНО ПРОТИПУХЛИННО ТЕРАПІ ПРИ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА РАК МОЛОЧНО ЗАЛОЗИ. АСПЕКТИ АНГІО- ТА МОРФОГЕНЕЗУ – Вивчено два методи передопераційного лікування хворих на рак молочно залози, що мають подвійну спрямованість – на судини мікроциркуляторного русла і пухлинні клітини, які починаючи з часу проведення операції, зменшують ризик гематогенного метастазування. Клінічно доцільним є проведення більше трьох курсів системно поліхіміотерапі. Найбільший девіталізуючий, протирецидивний та протиметастатичний ефект слід очікувати від комбінації системно та регіонарно ПХТ.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НЕОАД'ЮВАНТНОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ. АСПЕКТЫ АНГИО- И МОРФОГЕНЕЗА – Изучено методы предоперационного лечения больных раком молочной железы, которые имеют сочетанное влияние на микроциркуляторное русло опухоли и на клетки опухоли. Наиболее целесообразно представляется проведение больше трех курсов предоперационной полихимиотерапии для получения выраженного девитализирующего, противорезидивного и антиметастатического эффекта.

EVALUATION OF EFFICACY OF NEOADJUVANT ANTI-TUMOR THERAPY IN TREATMENT OF PATIENTS WITH BREAST CANCER. ASPECTS OF ANGIO- AND MORPHOLOGIC – Peculiarities of therapeutic pathomorphosis of breast cancer in preoperative use of selective intra-arterial polychemotherapy and distant radiotherapy are shown. Special attention is paid to the analysis of the status of vascularization of breast cancer stroma as a key factor of pathogenesis and prognosis of the disease.

**Ключові слова:** рак молочно залози, морфологія пухлини, хіміо-променева терапія.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, морфология опухоли, химиолучевая терапия.

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

**ВСТУП** Рак молочно залози (РМЗ) займає провідне місце в структурі онкологічно захворюваності серед жіночого населення більшості економічно розвинутих країн світу. Рівень захворюваності на РМЗ в Україні за останні 40 років (1968-2008 рр.) зріс у показниках від 17,6 до 60,4 на 100 тис. населення, або більше ніж у 3 рази. За уточненими даними Національного канцер-реєстру України, у 2007 р. зареєстровано 15 469 нових випадків РМЗ, загальна кількість померлих від нього серед жіночого населення становила 7556 [1]. Таким чином, проблема підвищення ефективності комплексного лікування та розробки лікувальних програм при РМЗ залишається найбільш актуальною в клінічній онкології та в організації онкологічно допомоги серед жіночого населення України. Базовим методом лікування РМЗ залишається хірургічний, однак сучасне лікування передбачає використання перед операцією неoad'ювантно терапі для досягнення максимально можливо девіталізації злякисних клітин шляхом виникнення терапевтично індукованих некрозів або припинення функціонально активності через пошкодження ядерного апарату, з "переходом" х в стан апоптозу або патологічних мітозів, що призводить до зменшення дольового вмісту раково паренхіми та підвищує умови абластики під час хірургічних втручань. Доцільність використання неoad'ювантно протипухлинно терапі при місцевопоширених формах РМЗ на сучасному етапі вже не потребує дискусії [2]. Використання доопераційного опромінення в режимі дрібних фракцій при лікуванні РМЗ майже на 3 місяці затримує операцію, часто супроводжується кардіопульмоногенними порушеннями та ускладнює загоєвання післяопераційної рани. Застосування внутрішньовенно, системно ПХТ при місцевопоширених процесах часто потребує високодозних режимів, які підвищують загальну ток-

сичність, призводять до мієлосупресії, а внаслідок цього до перерв у лікуванні, вісцеральних уражень паренхіматозних органів з розвитком метаболічних пошкоджень. Пошук шляхів мінімалізації загальних ускладнень протипухлинного лікування призвів онкологів до використання селективно внутрішньоартеріально поліхіміотерапі (ВАПХТ), яка дозволяє завдяки цілеспрямованій доставці хіміопрепаратів безпосередньо у власну систему кровопостачання молочно залози, активно впливати на пухлину, з "терапевтичним переводом" з неоперабельного в операбельний стан. За останнє десятиріччя на підставі морфологічних досліджень стану ангіо(васкуло)генезу різних гістотипів РМЗ доведено, що в разі високої щільності, васкуляризація відіграє ключову роль в прогресі хвороби і є суттєвим фактором прогнозу [3-6].

Мета роботи – дослідити мікроскопічні особливості лікувального патоморфозу РМЗ з встановленням порівняльно ефективності різних режимів ПХТ та ПТ, застосованих на передопераційному етапі лікування.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Проведено морфологічний аналіз операційного матеріалу 287 хворих з вузловими формами РМЗ ІІБ-ІІІБ, які отримали протипухлинне лікування – поліхіміотерапію (ПХТ) та променево терапію (ПТ) – в якості неoad'ювантного методу. Досліджена також група контролю – 40 хворих на РМЗ, які перед операціями не отримували будь-яких антибластомних методів лікування. Лікувальний патоморфоз РМЗ вивчено в пухлинах молочно залози, які з морфологічних позицій співставлялися з т.з. "інфільтруєчими карциномами", коли розвиток пухлинно інвазії вже не дозволяє точно встановлювати походження раку з дольок або протоків. Для мікроскопічного дослідження бралися зразки (шматочки) з 3-х зон пухлини – периферійно, проміжно та центрально, з яких виготовляли парафінові блоки за загальноприйнятою у морфологічних дослідженнях методикою Г.А. Меркулова. З парафінового блока на санному мікротомі виготовляли зрізи товщиною 5-6 мк з трьох рівнів блока (верхній, середній, нижній). Такий методичний підхід дозволив отримати інформацію про стан васкуляризації пухлини молочно залози. При мікроскопічному дослідженні гістопрпаратів РМЗ, забарвлених гематоксилін-еозином та пікрофуксином, проведена морфометрія відвідних (дренажних) судин стромі РМЗ з визначенням середньоарифметичного показника  $x$  вмісту за формулою:

$$\text{ЩВ} = n_1 + n_2 + n_3 / 3;$$

де ЩВ – щільність васкуляризації;

$n_1$  – найбільша сумарна кількість мікросудин в гістологічному зрізі, який виготовлено з периферійно зони пухлини в 1 полі зору мікроскопа (станд. зб.  $x$  120);

$n_2$  – аналогічні умови аналізу мікросудин в проміжній зоні пухлини;

$n_3$  – аналогічні умови аналізу мікросудин з центральної зони пухлини.

В усіх зрізах підрахунок судин проводили у тому полі зору мікроскопа, де  $x$  кількість була максимальною. Квантифікаційний аналіз мікросудин в пухлинах проводили при стандартному збільшенні мікроскопа ( $x$ 200). Мікроскопічний аналіз і мікрофотозйомку пухлин молочно залози виконували за допомогою світлового мікроскопа "POLYVAR-2". Аналіз гістологічних препаратів пухлин молочно залози дозволив встановити певні закономірності лікувального патоморфозу, тобто структурну перебудову  $x$  під дією зовнішнього чинника.

В 1-й групі хворих на РМЗ (контроль) характерною ознакою була велика кількість мікросудин пухлини, які забезпечують метаболізм та трофіку ракових клітин для підтримання життєздатності.

В 2-й групі хворих, у яких перед операцією використовували ПТ, значна кількість мікросудин залишилась інтактною структурою із збереженими просвітами для кровообігу в пухлинній паренхімі, а також у стромі пухлини. Метою передопераційного опромінення за інтенсивною методикою до сумарно вогнищевої дози (СВД) 18-21 Гр є нанесення вітальних та субвітальних пошкоджень, спрямованих на мітотично-активні клітини пухлини, що несуть загрозу дисемінації та імплантації під час хірургічної операції та після не, сприяють метастазуванню. Морфологічні дослідження показують, що ПТ призводить до значного пошкодження тканин найактивніших периферичних зон росту. Одночасно зміни осередків пухлин виражені незначно. Фіброзні зміни суттєво не виражені, що пояснюється коротким терміном між закінченням ПТ та проведенням операції (24-72 год). При вивченні архітектоники мікроскопічно будови відмічені послаблення та втрата контактів між пухлинними клітинами, внаслідок чого пласти ракової паренхіми дисоціюються на окремі комплекси та поодинокі клітини. В х 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 х містять ядра зі структурно збереженою будовою. В стромі пухлин реєструється помірна гідрофілія, реологічні зміни в судинах характеризують патологію агрегатного стану клітин крові – стаз, сладж, мікротромбоз, однак більшість судин мікроциркуляторного русла залишається інтактними.

При застосуванні на передопераційному етапі лікування опромінення молочно залози за методикою дрібних фракцій до СВД 40-45 Гр (3 група), хірургічні втручання виконують через 3-4 тижні після закінчення ПТ. Слід визначити, що в цьому випадку завжди розвивається післяпроменевої фіброз з дифузним розростанням сполучно тканини, кількість новостворених 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 гістіолімофа дна інфільтрація, в судинах строми відбуваються зміни клітин крові, аналогічні відміченим при режимі крупного фракціонування.

Таким чином, при застосуванні ПТ до 18-21 Гр 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 до 40-45 Гр за подібною методикою спостерігається активний розвиток сполучно тканини на місці некротичних змін перенхіми та строми ракової пухлини. Однак серед фіброзно тканини залишається де-яка кількість новостворених судин та життєздатних пухлинних комплексів навколо них.

При застосуванні в якості неоад'ювантного протипухлинного впливу системно внутрішньовенно ПХТ (4-6 групи) 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, також як і при застосуванні двох режимів ПТ (стаз, сладж, мікротромби), однак вони за кількістю або поширеністю уражених мікросудин суттєво не відрізняються від променево індукованих.

З точки зору класично теорії J. Folkman [3], відносно значно ролі ангіогенезу 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 антинеоваскуляру ВАПХТ.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА Х ОБГОВОРЕННЯ**

Заслужують увагу результати мікроскопічного аналізу пухлин молочно залози після неоад'ювантного впливу на них селективно ВАПХТ (7 група). 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, фібрино дні некрози судинних стінок з виходом плазми в периваскулярні простори (плазморагі) з подальшим розвитком склерозу судинних стінок і облітерацією просвітів мікросудин. В пухлинній паренхімі, насамперед, в ділянках, які межують з осередками порушено васкуляризації, виникають поширені некрози коліквацийного ("вологого") типу, що свідчить про вихід молекул хіміопрепаратів за межі судин з подальшою реалізацією пошкоджувального впливу на ракові клітини. Для з'ясування порівняльно ефективності всіх застосованих методів неоад'ювантно протипухлинно терапії проведено відповідний квантифікаційний аналіз клітин пухлини, які не підпали під антибластомний вплив ХТ або ПТ, а також проявили природну резистентність до х ді (табл. 1).

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

Режими неоад'ювантно ХТ	Групи хворих	Кількість хворих	Дольовий вміст резидуально структурно збережено пухлинно паренхіми M±m, %	P – коеф. ймовірності вірогідних міжгрупових розбіжностей
Контроль (тільки операція)	1	40	78,6±7,7	P <sub>1,2</sub> < 0,05
ПТ – 18-21 Гр (крупні фракції)	2	33	47,5±3,6	P <sub>1,3</sub> < 0,05 P <sub>1,4</sub> < 0,05
ПТ – 40-45 Гр (дрібні фракції)	3	39	35,2±2,8	P <sub>1,5</sub> > 0,05 P <sub>1,6</sub> < 0,05 P <sub>1,7</sub> < 0,05
ВАПХТ	4	74	26,2±6,4	P <sub>2,3</sub> < 0,05 P <sub>2,4</sub> < 0,05
СПХТ (1 курс)	5	72	70,8±8,9	P <sub>2,5</sub> < 0,05 P <sub>3,4</sub> < 0,05
СПХТ (2 курси)	6	10	50,4±6,8	P <sub>4,5</sub> < 0,05 P <sub>4,7</sub> > 0,05
СПХТ (3 курси)	7	19	33,0±3,1	

Примітка. Підрахунок кількості ракових клітин проводили 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.

Отримані результати демонструють наявність певних закономірностей щодо визначення вірогідних розбіжностей в оцінці ефективності застосованих методів неoad'ювантно терапі хворих на РМЗ. Головними з них є наступне: ПТ в режимі дрібних фракцій та збільшенні СВД проявляє кращу морфологічну ефективність, ніж при застосуванні режиму крупних фракцій та менших СВД, але затримує строки 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 ПТ при

СВД 40-45 Гр, але також затримує строки видалення злоякісно пухлини. ВАПХТ проявляє з одного боку найбільший девіталізуючий вплив на ракові клітини, а з другого – дозволяє швидше перевести неоперабельні форми РМЗ в операбельні, що запобігає дисемінації та скорочує строки до операції. Все це в цілому підвищує ефективність лікування РМЗ.

Для з'ясування ролі ангиогенезу (васкуляризації) РМЗ відібрані групи (1,3,4,7 – див. табл. 1), де отримані найбільш ефективні результати антибластомно терапі. Дані зведені в табл. 2.

**Таблиця 2. Стан васкуляризації РМЗ після застосування неoad'ювантно протипухлинно терапі**

Методи лікування	Групи хворих (n)	Щільність васкуляризації (абс.ч., %)	
		гіперваскуляризація	гіповаскуляризація
Операція (контроль)	1 (40)	34 ( 85 %)	6 ( 15 %)
ПТ – 40-45 Гр (дрібні фракції)	3 (39)	25 (64,1 %)	14 (35,9 %)
СПХТ (3 курси)	7 (19)	5 (26,3 %)	14 (73,7 %)
ВАПХТ	4 (74)	12 (18,7 %)	52 (81,3 %)

Примітка. Стан “гіперваскуляризації” визначався за критерієм (> 15 мікросудин), а гіповаскуляризації – за критерієм (< 10 мікросудин) в стромі пухлини, що знаходяться в 1 полі зору мікроскопа (станд. зб. x 120).

При мікроскопічному дослідженні пухлин, що були під впливом ВАПХТ, реєструвалися суттєві васкулярні порушення мікроциркуляторного русла. Цілеспрямована доставка хіміопрепаратів до пухлини гематогенним шляхом призводить до стазу крові, розвитку “сладж”-феномену зі “склеюванням” (аглютинацією) клітинних елементів крові, утворення фібринових ниток. При дослідженні післяопераційного матеріалу (через 3-4 тижні після проведення ВАПХТ) реєструють обтурацію просвітів судин і множинні тромби в стані організації.

Звертають увагу дві суттєві особливості стану ангио (васкуло)генезу РМЗ. По-перше, в групі контролю переважають карциноми, які знаходяться в стані гіперваскуляризації, що свідчить про васкулярно-трофічне забезпечення життєдіяльності пухлинних клітин на високому метаболічному рівні. В 85 % випадків без антибластомного впливу (тільки операція) хірургічні втручання були виконані у хворих з пухлинами високого ступеня васкуляризації (гіперваскуляризації). По-друге, завдяки використанню в неoad'ювантному режимі не менше 3-х курсів СПХТ або ВАПХТ вже на доопераційному етапі лікування хворих на РМЗ досягається “терапевтичний переворот” пухлини із стану гіперваскуляризації в стан гіповаскуляризації. При застосуванні системно ПХТ гіперваскуляризація виявлена у 26,3 %, при ВАПХТ – тільки у 18,7 %, що у 3-4 рази менше, ніж у групі контролю, та у 2-3 рази, ніж в групі при застосу-

ванні ПТ. Це вказує на значно більший вплив ПХТ на зменшення кількості новоутворених судин в пухлині при РМЗ.

**ВИСНОВОК** Ці два методи передопераційного лікування мають подвійну спрямованість – на судини мікроциркуляторного русла і пухлинні клітини, що, починаючи з часу проведення операції, зменшує ризик гематогенного метастазування. Клінічно доцільним є проведення більше 3 курсів системно поліхіміотерапі. Найбільший девіталізуючий, протирецидивний та протиметастатичний ефект слід очікувати від комбінації системно та регіонарно ПХТ.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Федоренко З.П., Гулак Л.О., Горох Є.Л. та ін. Рак в Україні, 2006-2007. Захворюваність, смертність, виживаність, показники діяльності онкологічно служби // Бюлетень Нац. канцер-реєстру України. К. – 2008. – № 6. – С. 97.
2. Семиглазов В.Ф., Семиглазов В.В., Клетсель А.Е. Неoad'ювантно и ад'ювантно лечение рака молочной железы // М.: МИА, 2008. – 287 с.
3. Штегер Г. Ад'ювантная, неoad'ювантная и паллиативная химиотерапия рака молочной железы // Onco view (онкологическое обозрение). – 2006. – № 2. – С. 10-17.
4. Folkman J. What is the evidence that the tumors are angiogenesis-dependent? // J. Nat. Cancer Inst. – 1990. – Vol. 82. – P. 4-6.
5. Wu J. Apoptosis and angiogenesis: two promising tumor markers in breast cancer // Anticancer Res. – 1996. – № 4b. – P. 2233-2240.
6. Engels K., Fox S., Whitehouse R et al. Distinct angiogenic patterns are associated with high-grade in situ ductal carcinomas of the breast // J. Pathol. – 1997. – Vol. 2. – P. 207-212.