

Наукові огляди

УДК 618.19-006.6-085.28-07

Л.І.Бізер, Р.В.Сенютович, В.П.Унгурян, В.В.Шульгіна

АПОПТОЗ ПРИ НЕОАД'ЮВАНТНІЙ ХІМІОТЕРАПІЇ МІСЦЕВОПОШИРЕНОГО РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ. ПРОГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ

Кафедра онкології, променевої діагностики та променевої терапії (зав. – проф. Р.В.Сенютович)
Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

Резюме. Дані літератури свідчать про більший ступінь регресії пухлин молочної залози після проведення неоад'ювантної хіміотерапії при збільшенні апоптичного індексу та зниженні рівня Ki-67. Значення експресії p53 та його мутацій у прогнозі ефективності

неад'ювантної хіміотерапії місцевопоширеного раку молочної залози є суперечливим.

Ключові слова: рак, молочна залоза, неоад'ювантна хіміотерапія, апоптоз.

Прогнозування ефективності неоад'ювантної хіміотерапії (НАХТ) і вибір найбільш раціональної схеми хіміотерапії – актуальна проблема онкології.

В останні роки серед молекулярних чинників онкогенезу увагу дослідників викликає експресія та мутація гена – супресора p53.

Linn S.C. et al. [11] вивчали регулювальну роль p53 в апоптозі і мутантного p53, що має вплив на резистентність до хіміотерапії та впливає на терміни виживання хворих. Цікаво, що експерименти *in vitro* показали, що мутантний p53 може активізувати промоутер гена MDR1, який кодує Р-гр. Підвищення Р-гр пов'язане *in vitro* і *in vivo* з перехресною резистентністю до хімотерапевтичних препаратів. Кореляція між p53 і експресією Р-гр виявлена у всіх 50 хворих на рак молочної залози ($p=0,003$; Fisher's exact test). Експресія Р-гр, нагромадження в ядрі p53 і ко-експресія p53 та Р-гр частіше спостерігаються при місцевопоширеному раку молочної залози ніж в операбельних хворих на рак молочної залози ($p=0,0004$, $p=0,048$; $p=0,002$ відповідно. Fisher's exact test). Коекспресія p53 і Р-гр були добрим прогностичним показником виживання при багатоваріантному аналізі ($p=0,004$) у хворих на місцевопоширений рак молочної залози (одноваріантний аналіз: $p=0,0007$). Нагромадження p53 в ядрі часто пов'язано з експресією Р-гр при первинному раку молочної залози і одночасна експресія p53 і Р-гр зумовлені коротшим виживанням пацієнтів з місцевопоширеним раком молочної залози.

Anelli A. et al. [1], оцінювали зміни p53 у 73 хворих на місцевопоширений рак молочної залози (ШІВ), які отримували НАХТ (три цикли паклітаксел (175 мг/м^2) і доксорубіцин (60 мг/м^2) через 21 день. Отримано 83,5 % загальної регресії, зокрема 15,1 % повних регресій. При оцінці результатів виявлена статистично значима кореляція між регресією та експресією p53. У 25 осіб із повною регресією двоє хворих класифіковані як p53 негативні ($p=0,004$). З 11 осіб, в яких отримано

повну патологічну ремісію, один пацієнт був p53 негативним ($p=0,099$). Зменшена експресія p53 вказує на більш високу ймовірність регресії пухлини. Результати експресії p53 можуть бути застосовані для виявлення хворих, яким необхідне призначення більш сильних схем лікування.

Hinnis A.R. et al. [10], проаналізували тактику лікування в 165 випадках раку молочної залози з тривалістю виживання 12-127 місяців, медіана 38 місяців. Усі хворі отримували хіміотерапію і/або гормональну терапію і переважно T₂ з позитивними лімфатичними вузлами, III стадії з позитивними (E-PR) рецепторами в 50 % пацієнтів. Виживання, висока проліферація, експресія p53 корелювали з III стадією і відсутністю ER. Низька проліферація, зниження експресії p21 і bcl-2 пов'язані з ранніми стадіями захворювання і наявністю ER.

Проліферативна активність клітинних елементів пухлини є одним з основних показників біологічної поведінки пухлини. Донедавна показником проліферативної активності вважали число фігур мітозу на визначене число клітин. За даними джерел літератури, більш достовірними являються показники, що визначаються з допомогою маркерів проліферації, зокрема Ki-67, PCNA.

Dowsett M. et al. [8], які досліджували вплив передопераційного застосування аримідексу (анастрозолу), тамоксифену та аримідексу в поєднанні з тамоксифеном ($n=330$) на зміни Ki-67 через два та 12 тижнів лікування. Зниження експресії Ki-67 після двох та 12 тижнів виявилось значно більшим у хворих, що отримували анастрозол ніж у хворих, які приймали тамоксифен ($p=0,004$ і $p<0,001$), але не відрізнялось у групах, що приймали тамоксифен чи комбінацію препаратів ($p=0,600$ та $p=0,912$). Дані дослідження вказують, що вказані зміни (хоч і короткочасні) можуть визначити результат неоад'ювантної хіміотерапії.

Chakravarthy A.V. et al. [4] провели дослідження хворих, що отримували паклітаксел (три цикли кожних три тижні по 175 мг/м^2 та двічі на тиждень по 30 мг/м^2) з паралельною променевою терапією з подальшим хірургічним лікуванням. Із

38 пацієнтів у 13 (34 %) отримано повну регресію. Не виявлено різниці в початковому рівні Ki-67 між особами з клінічною регресією (35 %) та без неї (28 %; $p=0,45$). Базовий або початковий рівень мітотичного індексу вищий у пацієнтів з повною регресією, ніж в осіб без регресії (27 проти 10, $p=0,003$).

Burcombe R. et al. [3] здійснювали оцінку Ki-67 та індексу апоптозу (AI) у 27 осіб, що отримували НАХТ за схемою FEC (5-фторурацил, епірубіцин, і циклофосфамід). Аналізувалися біопсії тканин перед початком НАХТ, на 21-й день циклу і після хірургічного видалення пухлини. Пацієнти з клінічною регресією мали більш низькі індекси Ki-67 (11,4 % проти 27,0 %, $p=0,02$) і значне зменшення відсотка Ki-67, ніж у пацієнтів, в яких клінічна регресія не отримана (50,6 % проти – 5,3 %, $p=0,04$). Середнє значення Ki-67 на 21-й день більш низьке в осіб із повною патологічною відповіддю (30,3 % проти 14,1 %, $p=0,046$). Підвищення AI (апоптичний індекс) на 21-й день у пацієнтів із патологічними регресіями спостерігали в 5,30 % проти 1,68 % ($p=0,12$). Підвищений AI на 21-й день статистично значимий чинник прогнозу патологічної регресії ($p=0,049$). Вагомий чинник прогнозування патологічної регресії визначався більш високими індексами Ki-67 на 21-й день і AI у зразках тканин одержаних після хірургічного лікування ($p=0,06$ і $0,06$, відповідно).

Stearns V. et al. [13] провели аналіз у пацієнтів з гістологічно підтвердженою T(3) або T(4) інвазивною карциномою молочної залози. Перші 20 осіб отримували три цикли доксорубіцину 90 мг/м² в поєднанні з трьома циклами паклітакселу 250 мг/м² та 9 осіб, що отримували по 4 цикли доксорубіцину 60 мг/м² та паклітакселу 175 мг/м². Високий базовий рівень апоптозу та проліферації пов'язані з кращою клінічною регресією ($p=0,006$ і $0,003$, відповідно). Серед 14 досліджуваних осіб апоптоз підвищений у жінок, які мали часткову клінічну регресію після першого циклу, але не виявлено підвищення апоптозу у хворих без повної клінічної регресії. У пацієнтів із позитивними естрогеновими рецепторами відмічали значно гіршу регресію ($p=0,004$).

Tiezzi D.G. et al. [15] оцінювали співвідношення між AI та клінічною регресією в 44 хворих на рак молочної залози, що отримували НАХТ. Клінічну регресію (КР) отримали в 37 пацієнтів (84 %) та в 7 осіб регресії не спостерігалось. AI становив 0,84 у групі хворих з КР та 0,01 у групі осіб без регресії ($p=0,006$). У групі хворих з КР експресія p53 була позитивною у 41,6 % осіб перед та у 22,2 % після хіміотерапії (різниця=16,6 %; $p=0,03$). Жодних змін дослідники не виявили в групі осіб без клінічної регресії. Доведена кореляція між збільшенням AI та клінічною регресією у хворих на місцевопоширений рак молочної залози.

Увагу дослідників також привертає онкоген, що запобігає клітинній смерті bcl-2. Так, Buchholz T.A. et al. [2] вивчали 82 зразки раку

молочної залози у пацієнтів, що отримували НАХТ доксорубіцином імуногістохімічним методом. 61 % пухлин виявилися позитивними для bcl-2, 85 % – позитивні для bax, і 16 % – позитивні для NF- κ B. Усі bcl-2 позитивні пухлини були також bax позитивними ($p<0,0001$) і всі позитивні пухлини NF- κ B – були як bcl-2 позитивними ($p=0,001$), так і bax позитивними ($p=0,113$). В 11 із 82 пацієнтів (13 %) отримано клінічно повну регресію (pCR) при хіміотерапії. В осіб із pCR не було NF- κ B позитивних пухлин 0% (0 з 13) порівняно з негативними NF- κ B зразками пухлин у 13 % (11 із 69 пацієнтів; $p=0,130$); bcl-2 позитивні – 4 % (2 із 49 хворих) порівняно з bcl-2 негативними зразками 27 % (9 із 33 пацієнтів; $p=0,004$); і bax позитивні – 6 % (4 із 69 осіб) при порівнянні з bax негативними пухлинами 58 % (у 7 із 12 осіб; $p<0,001$). Дослідники показали кореляцію NF- κ B в ядрі з експресією bcl-2 і bax, паралельне дослідження NF- κ B/bcl-2 при НАХТ доксорубіцином може бути пов'язане з гіршою клінічною регресією в пацієнтів.

Miller W.R. et al. [12] провели оцінку перед НАХТ та через три місяці після лікування у хворих на рак молочної залози, що отримували кожен день летрозол 2,5 мг (12 осіб) і 10 мг (12 осіб), або тамоксифен 20 мг (24 особи). Клінічну регресію в 17 із 24 пацієнтів (71 %) отримано при лікуванні летрозолом, також відмічено зниження мітозу в усіх оцінюваних випадках.

Висновок

Неoad'ювантна хіміотерапія раку молочної залози є ефективною. Відсутність певних стандартів оцінки маркерів апоптозу обмежують їх використання в клінічній практиці.

Перспективи подальших досліджень. Необхідне подальше вивчення різних показників апоптозу на перебіг захворювання, результати лікування та виживання хворих.

Література

1. Anelli A. Correlation of p53 status with outcome of neoadjuvant chemotherapy using paclitaxel and doxorubicin in stage IIIB breast cancer / A.Anelli, R.R.Brentani, A.P.Gadella // *Ann. Oncol.* – 2003. – V. 14, № 3. – P. 428-432.
2. Buchholz T.A. The nuclear transcription factor κ B/bcl-2 pathway correlates with pathologic complete response to doxorubicin-based neoadjuvant chemotherapy in human breast cancer / T.A.Buchholz, A.K.Garg, N.Cahkravarti // *Clin. Cancer Res.* – 2005. – V. 11, № 23. – P. 8398-8402.
3. Burcombe R. Evaluation of Ki-67 proliferation and apoptotic index before, during and after neoadjuvant chemotherapy for primary breast cancer / R.Burcombe, G.D.Wilson, M.Dowsett // *Breast Cancer Res.* – 2006. – V. 8, № 3. – P. 31-33.
4. Chakravarthy A.B. Neoadjuvant concurrent paclitaxel and radiation in stage II/III breast cancer / A.B.Chakravarthy, M.C.Kelley, B.McLaren // *Clin. Cancer Res.* – 2006. – V. 12, № 5. – P. 1570-1576.

5. Demiray M. Response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer could be predictable by measuring a novel serum apoptosis product, caspase-cleaved cytokeratin 18: a prospective pilot study / M.Demiray, E.E.Ulukaya, M.Arslan // *Cancer Invest.* – 2006. – V. 24, № 7. – P. 669-676.
6. Diaz N. Activation of stat3 in primary tumors from high-risk breast cancer patients is associated with elevated levels of activated SRC and survivin expression / N.Diaz, S.Minton, C.Cox // *Clin. Cancer Res.* – 2006. – V. 12, № 1. – P. 20-28.
7. Dowsett M. Proliferation and apoptosis as markers of benefit in neoadjuvant endocrine therapy of breast cancer / M.Dowsett, I.E.Smith, S.R.Ebbs // *Clin. Cancer Res.* – 2006. – V. 1, № 12. – P. 1024-1030.
8. Dowsett M. Short-term changes in Ki-67 during neoadjuvant treatment of primary breast cancer with anastrozole or tamoxifen alone or combined correlate with recurrence-free survival / M.Dowsett, I.E.Smith, S.R.Ebbs // *Clin. Cancer Res.* – 2005. – V. 11, № 2. – P.51-58.
9. Ghebeh H. The B7-H1 (PD-L1) T lymphocyte-inhibitory molecule is expressed in breast cancer patients with infiltrating ductal carcinoma: correlation with important high-risk prognostic factors / H.Ghebeh, S.Mohammed, A.Al-Omair // *Neoplasia.* – 2006. – V. 8, № 3. – P. 190-198.
10. Hinni A.R. Survivin is an independent predictor of short-term survival in poor prognostic breast cancer patients / A.R.Hinnis, J.C.Luckett, R.A.Walker // *Br. J. Cancer.* – 2007. – V. 96, № 4. – P. 639-645.
11. Linn S.C. p53 and P-glycoprotein are often co-expressed and are associated with poor prognosis in breast cancer / S.C.Linn, A.H.Honkoop, K.Hoekman // *Br. J. Cancer.* – 1996. – V. 74, № 1. – P. 63-68.
12. Miller W.R. Pathological features of breast cancer response following neoadjuvant treatment with either letrozole or tamoxifen / W.R.Miller, J.M.Dixon, L.Macfarlane // *Eur. J. Cancer.* – 2003. – V. 39, № 4. – P. 462-468.
13. Stearns V. A prospective randomized pilot study to evaluate predictors of response in serial core biopsies to single agent neoadjuvant doxorubicin or paclitaxel for patients with locally advanced breast cancer / V.Stearns, B.Singh, T.Tsangaris // *Clin. Cancer Res.* – 2003. – V. 9, № 1. – P. 124-133.
14. Takada M. A close association between alteration in growth kinetics by neoadjuvant chemotherapy and survival outcome in primary breast cancer / M.Takada, A.Kataoka, M.Toi // *Int. J. Oncol.* – 2004. – V. 25, № 2. – P. 397-405.
15. Tiezzi D.G. Apoptosis induced by neoadjuvant chemotherapy in breast cancer / D.G.Tiezzi, J.M.De Andrade, F.J.Candido dos Reis // *Pathology.* – 2006. – V. 38, № 1. – P. 21-27.

**АПОПТОЗ ПРИ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ
МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ.
ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ**

Л.И.Бизер, Р.В.Сенютович, В.П.Унгуриан, В.В.Шульгина

Резюме. Данные литературы свидетельствуют о большей степени регрессии опухолей молочной железы после проведения неoadьювантной химиотерапии при увеличении апоптотического индекса и понижении уровня Ki-67. Значение экспрессии p53 и его мутаций в прогнозе эффективности неадьювантной химиотерапии местнораспространенного рака молочной железы противоречивое.

Ключевые слова: рак, молочная железа, неoadьювантная химиотерапия, апоптоз.

**APOPTOSIS WITH NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY OF LOCALLY
SPREAD BREAST CANCER, A PROGNOSTIC VALUE**

L.I.Bizer, R.V.Seniutovich, V.P.Ungurian, V.V.Shulgina

Abstract. Bibliographical data are indicative of a greater degree of regression of breast cancer tumors upon terminating neoadjuvant chemotherapy in case of an increased apoptotic index and a decreased level of Ki-67. The importance of p53 expression and its mutations in the prognosis of the efficacy of neoadjuvant chemotherapy of locally spread breast cancer is discrepant.

Key words: cancer, mammalian gland, neoadjuvant chemotherapy, apoptosis.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. І.С.Давиденко

Buk. Med. Herald. – 2008. – Vol. 12, № 3. – P.90-92

Надійшла до редакції 4.04.2008 року