

О.І. Дронов¹
С.В. Земсков¹
О.М. Грабовий²
П.П. Бакунець³
М.В. Земскова³

¹Національний медичний
університет імені
О.О. Богомольця

²Національний інститут раку

³Київська міська клінічна
лікарня № 10, Київ, Україна

Ключові слова: рак підшлункової
залози, hENT1, ад'ювантна
терапія, гемцитабін, тегафур.

ЕФЕКТИВНІСТЬ РІЗНИХ РЕЖИМІВ АД'ЮВАНТНОЇ ХІМІОТЕРАПІЇ У ХВОРИХ НА РАК ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ З НИЗЬКОЮ ЕКСПРЕСІЄЮ hENT1 У ПУХЛИННИХ КЛІТИНАХ

Обґрунтування і мета: білок hENT1 — один із ключових ферментів метаболізму пухлинних клітин раку підшлункової залози (РПЗ) з варіабельною експресією: високою ($\approx 40\%$) та низькою ($\approx 60\%$). Висока експресія hENT1 є біомаркером ефективності застосування гемцитабіну (Г) у режимі монотерапії. Актуальним залишається питання підбору цитостатиків для підвищення ефективності лікування хворих на РПЗ із низькою експресією hENT1. Мета дослідження — оцінити ефективність комбінації тегафур + гемцитабін (ТГ) порівняно з монотерапією гемцитабіном (МГ) в ад'ювантному лікуванні радикально оперованих пацієнтів із РПЗ у II–III стадії з низькою експресією hENT1. **Об'єкт і методи:** проаналізовано безрецидивну та загальну виживаність (БРВ і ЗВ) 20 радикально оперованих хворих на РПЗ, яких розділено на 2 групи залежно від режиму ад'ювантного лікування: МГ або комбінація ТГ. Застосовано: морфологічний, імуногістохімічний, статистичний методи дослідження. **Результати:** медіана БРВ у групах пацієнтів після МГ і ТГ становила відповідно 9 та 15 міс ($p < 0,05$). Медіана ЗВ у групі ТГ на час проведення дослідження не була досягнута, тоді як після лікування МГ становила 17 міс. **Висновки:** при застосуванні комбінації ТГ в ад'ювантному лікуванні хворих на РПЗ із низькою експресією hENT1 відмічено підвищення БРВ порівняно із застосуванням МГ. Для остаточного визначення ефекту комбінації ТГ в ад'ювантному лікуванні пацієнтів з РПЗ із низькою експресією hENT1 у пухлинних клітинах необхідні масштабніші дослідження.

ВСТУП

Рак підшлункової залози (РПЗ) належить до найбільш тяжких форм онкологічної патології, що зумовлено відсутністю патогномічних симптомів, діагностикою на розповсюджених стадіях хвороби та злоякісним клінічним перебігом через раннє метастазування та відсутність чутливості пухлин до хіміо- та радіотерапії. Серед усіх злоякісних пухлин людини частота РПЗ становить 2,8% у чоловіків та 3,2% — у жінок. У структурі онкологічної захворюваності РПЗ займає 7-е місце в Європі, а смертності — 5-е місце в Європі, 4-е місце у США, 6-те та 9-те місце (відповідно у чоловіків та жінок) в Україні. У лікуванні хворих на РПЗ відзначають певні успіхи завдяки радикальному хірургічному підходу та впровадженню ад'ювантної хіміотерапії (ХТ), проте смертність пацієнтів із цією патологією за останні 20 років майже не змінилася [1].

Згідно з міжнародними рекомендаціями NCCN, ASCO та ESMO, для ад'ювантного лікування при РПЗ (місцево-розповсюджений або метастатичний рак) пропонується гемцитабін (Г) у режимі монотерапії. Як свідчать дані літератури [2, 3], монотерапія Г (МГ)

є досить ефективною, медіана безрецидивної виживаності (МБРВ) після такого лікування сягала 13,4 міс порівняно з 6,9 міс у хворих без застосування цього препарату. Медіана загальної виживаності (МЗВ) також була більшою і становила відповідно 22,1 проти 20,2 міс. Як ад'ювантне лікування при РПЗ також рекомендовано монотерапію препаратами з групи фторпіримідинів (флуороурацил (ФУ), капецитабін та ін.), проте МЗВ хворих після ад'ювантного лікування ФУ була меншою і становила 19,7 міс [4, 5].

Для входження у клітину та ініціювання цитотоксичної дії Г потребує наявності у мембрані клітин білка hENT1 (human equilibrative nucleoside transporter 1). Продемонстровано [6], що hENT1 відсутній у нормальному залозистому епітелії підшлункової залози (ПЗ), але його виявляють у пухлинних клітинах (ПК), лімфоцитах, нормальних клітинах острівців Лангерганса. У хворих на РПЗ, які одержували лікування Г, медіана виживаності становила 13 міс за умови високої експресії hENT1 — від 10 до 100% імунопозитивних ПК. Натомість у пацієнтів без експресії цього маркера у ПК медіана була значно меншою — 4 міс. Згідно з дослідженнями останніх років, близько 60% пухлин ПЗ характеризуються низькою

експресією hENT1, через що позитивний ефект МГ відзначають лише у 40% хворих [7]. Тому для підвищення ефективності лікування пацієнтів із РПЗ застосовують комбінацію двох цитостатиків — Г та препаратів із групи фторпіримідинів. Представником цієї групи є тегафур (Т) — фурановий нуклеозид, що є препаратом-попередником ФУ, але порівняно з останнім він менш мієлотоксичний. Активну участь у перетворенні Т на ФУ у ПК бере тимідинфосфорилаза. Концентрація цього ферменту у ПК значно перевищує таку в нормальних клітинах, відповідно, й утворення активного метаболіта ФУ у них є більшим [8]. Отже, наведені дані переконливо свідчать, що проблема ефективного лікування хворих на РПЗ залишається актуальною та потребує подальших ґрунтовних досліджень з використанням такого молекулярно-біологічного маркера, як hENT1, який задіяний у механізмах лікувального ефекту Г, а також можливої диверсифікації схем ХТ залежно від експресії hENT1.

Мета дослідження полягала в застосуванні та визначенні ефективності МГ і комбінації Т із Г (ТГ) в ад'ювантному лікуванні радикально оперованих хворих на РПЗ II–III стадії з низькою експресією hENT1 у ПК.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідження залучено 20 хворих на РПЗ II–III стадії, які отримували лікування у Київському центрі хірургії печінки, підшлункової залози та жовчних проток імені В.С. Земскова (Київська міська клінічна лікарня № 10). Усім пацієнтам було проведено радикальне хірургічне лікування: 13 — панкреатодуоденальна резекція, 7 — дистальна резекція зі спленектомією. Усі хворі дали згоду на проведення лікування і використання операційного матеріалу та результатів терапії з дослідницькою метою.

Операційний матеріал піддавали морфологічному та імуногістохімічному (ІГХ) дослідженню. Для оцінки структури видалених пухлин і ступеня диференціювання РПЗ користувалися класифікацією ВООЗ пухлин травної системи [9]. За гістологічною будовою всі видалені пухлини ПЗ були протоковими аденокарциномами різного ступеня диференціювання. Для ІГХ визначення експресії hENT1 використано гістологічні зрізи товщиною 4 мк, виготовлені з парафінових блоків пухлин після фіксації операційного матеріалу в 10% розчині нейтрального формаліну. Для ІГХ дослідження hENT1 застосовано MkAT Rabbit Anti-Human hENT1 Monoclonal Antibody, клон SP120 (Spring BioScienceCo., США) відповідно до протоколу виробника та систему детекції EnVision™ FLEX (Dako, Данія). Гістологічні зрізи додатково забарвлювали гематоксиліном Gill. Позитивним контролем слугували імунопозитивні лімфоцити, негативним — результати ІГХ реакції без застосування первинних MkAT. Для оцінки результатів дослідники керувалися такими критеріями: відсутня (0) або незначна (1+) експресія — інтенсивність забарвлення клітин менша, ніж у позитивному контролі; помірна

експресія (2+) — інтенсивність забарвлення ідентична позитивному контролю; висока експресія (3+) — інтенсивність забарвлення більша, ніж у позитивному контролі. Низькою експресією hENT1 вважали забарвлення < 50% ПК з інтенсивністю 3+, високою — забарвлення 3+ > 50% ПК. У хворих, залучених у дослідження, експресія біомаркера була низькою, тобто у досліджених пухлинах відзначали < 50% ПК зі ступенем експресії hENT1 3+.

Хворих на РПЗ розподілено на 2 групи, які були однорідними за статевим та віковим складом, стадією РПЗ, типом виконаної операції, післяопераційними ускладненнями (рандомізацію проводили методом конвертів). Група 1 складалася з 10 хворих, пролікованих за радикальною програмою до 2012 р. (ретроспективний аналіз клінічних даних); група 2 — з 10 пацієнтів, які одержали лікування у 2012–2013 рр. (проспективний аналіз клінічних даних). Ад'ювантну ХТ призначали всім хворим. ХТ у пацієнтів групи 1 проводили Г за стандартною схемою (1 г/м² площі тіла на 1; 8; 15-й день із перервою 14 днів), усього 6 циклів. Хворим групи 2 призначали Т за 7 днів до першої інфузії стандартного лікування Г та додавали щоденно Т *per os* з 1-го по 22-й день у добовій дозі 1200 мг. Г хворим цієї групи вводили на 8; 15 та 22-й день. Проведено 6 циклів ТГ.

Одержані результати піддавали статистичній обробці. Виживаність хворих визначали за методом Каплана — Мейєра, розбіжності між кривими виживаності аналізували за допомогою log-rank-тесту. Достовірною вважали різницю при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Клінічну характеристику хворих подано у табл. 1. Як свідчать дані, практично не було різниці між групами за коливанням віку, його медіаною, стадією пухлинного процесу; у групі 2 чоловіків було більше, ніж жінок. Усі видалені пухлини мали однакову гістологічну будову — протокова аденокарцинома з різним ступенем диференціації (G1–G4). Кількість хворих із різним ступенем диференціації раку була однаковою в обох групах, так само як і кількість пацієнтів із дистальною чи проксимальною резекцією РПЗ.

Під час проведення ХТ фіксували її побічні ефекти, використовуючи критерії СТСАЕ (Common Terminology Criteria for Adverse Events) [10] (табл. 2). Загалом найчастішими побічними явищами ХТ були анемія III ступеня (рівень гемоглобіну в крові < 80 г/л) і фебрильна нейтропенія III ступеня (нейтрофільних гранулоцитів < $1 \cdot 10^9$ /л, одноразове підвищення температури до 38,3 °С увечері або підвищення температури до 38,0 °С протягом першої години після введення цитостатика) — 4 і 3 випадки відповідно. У хворих групи 1 відзначено менше побічних ознак: 1 — анемія III ступеня, 1 — панцитопенія III ступеня (загальне зменшення кількості всіх клітин крові на 50–75% від вікової норми), 1 — макулярний висип II ступеня. У хворих групи 2 найчастіше відзначали анемію та фебрильну нейтропенію III ступеня — по 3 випад-

Таблиця 1

Загальна клінічна характеристика груп хворих на РПЗ

Показники	Група 1 (МГ) n = 10	Група 2 (ТГ) n = 10
Вік хворих, роки		
Середній вік	57	61
Медіана віку	62	65
Коливання віку	49–74	52–73
Стать хворих		
Чоловіки	6	8
Жінки	4	2
Стадія РПЗ		
II	3	4
III	7	6
Гістологічна будова РПЗ		
Протокова аденокарцинома	10	10
Ступінь диференціації РПЗ		
G1/G2	4	5
G3/G4	6	5
Тип хірургічної резекції ПЗ		
Дистальна	3	4
Проксимальна	7	6
Периопераційна гемотрансфузія	2	1
Тяжкі післяопераційні ускладнення	2	1

Таблиця 2

Побічні ефекти ХТ за критеріями СТСАЕ

Побічні ефекти	Група 1 (МГ), n (%)	Група 2 (ТГ), n (%)
Фебрильна нейтропенія III ступеня	0	3 (30)
Анемія III ступеня	1 (10)	3 (30)
Панцитопенія III ступеня	1 (10)	1 (10)
Діарея III ступеня	0	1 (10)
Гематурія II ступеня	0	1 (10)
Протеїнурія II ступеня	0	1 (10)
Інфекція сечових шляхів III ступеня	0	1 (10)
Макулярний висип II ступеня	1 (10)	1 (10)

ки. У цій групі зафіксовано також панцитопенію III ступеня, гематурію II ступеня, протеїнурію II ступеня (білок у сечі 2+, добовий дебіт білка в сечі 1,0–3,4 г), інфекцію сечових шляхів III ступеня, діарею III ступеня (випорожнення ≥ 7 разів на день) та макулярний висип II ступеня (ураження 10–30% поверхні шкіри, що супроводжується свербінням та печінням). В однієї пацієнтки відмічали всі зазначені побічні ефекти, які проявлялися один за одним, що вимагало редукування доз хіміопрепаратів, перерви курсів ХТ і госпіталізації. У 2 хворих анемія була компенсована шляхом призначення препаратів заліза та одноразовим введенням еритропоетину в дозі 30 тис. од. та 25% редуцією дози хіміопрепаратів. Стимулятори мієлопоезу з метою корекції нейтропенії не застосовували. Інфекція сечових шляхів III ступеня потребувала призначення антибіотиків і протигрибкових препаратів.

Незважаючи на проведенне лікування, після ХТ детектували клінічні ознаки прогресування пухлинної хвороби, які проявлялися локальними рецидивами в зоні кукси ПЗ (30% хворих), метастазами у печінці (40% пацієнтів), перитонеальним карциноматозом та асцитом (40% хворих) (рис. 1).

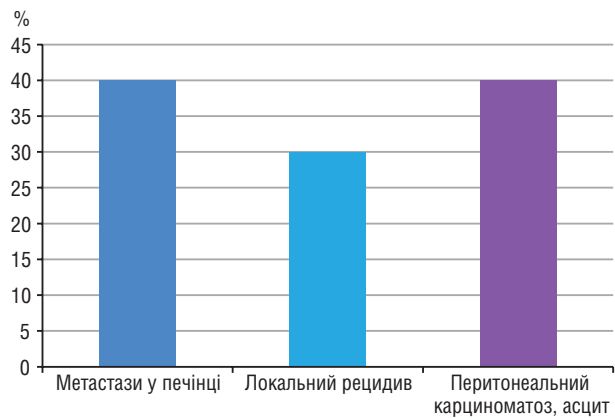


Рис. 1. Частота (%) клінічних ознак пролонгації пухлинного процесу у хворих на РПЗ після хірургічного лікування та ад'ювантної ХТ. Частота ознак перевищує 100%, тому що у деяких хворих було по 2 ознаки

Аналіз виживаності хворих показав, що МЗВ у групі 1 становила 17 міс, тоді як у групі 2 на час проведення цього аналізу ще не була досягнута. Аналіз кривих виживаності за Капланом — Мейером показав, що безрецидивна виживаність (БРВ) була різною. Про це свідчить МБРВ, яка у хворих групи 2 (лікування ТГ) становила 15 міс, що було достовірно більше (log-rank $p = 0,046$), ніж у хворих групи 1 (МГ) — 9 міс (рис. 2).

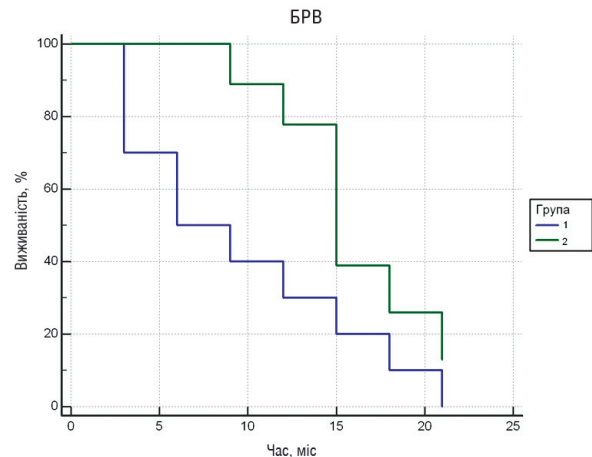


Рис. 2. БРВ хворих на РПЗ залежно від методу лікування

Підсумовуючи вищевикладене й аналізуючи дані літератури, слід зазначити, що застосування фторпіримідинів, зокрема Т, пригнічує активність внутрішньоклітинного ферменту тимідилатсинтази, що в свою чергу збільшує транспорт Г всередину ПК і викликає більший цитостатичний ефект [7, 11, 12]. Тому комбінація вказаних хіміопрепаратів (ТГ) була ефективнішою при ад'ювантному лікуванні хворих на РПЗ порівняно з МГ. Токсичність запропонованої комбінації цитостатиків у групі 2 дещо перевищує таку в групі 1. Однак у цілому профіль токсичності можна вважати передбачуваним. Усім хворим групи 2 проведено 6 запланованих циклів ХТ, а побічні ефекти зникли після симптоматичної терапії.

Розглядаючи РПЗ як одну з найбільш агресивних форм онкологічної патології (5-річна виживаність надзвичайно низька — 6%, після хірургічної резекції підвищується лише до 20%), можна стверджувати,

що стратегія підвищення виживаності й максимального збільшення термінів розвитку рецидивів є необхідною та актуальною. Зазначеного можна досягти за рахунок не лише адекватно проведеного радикального оперативного лікування, але й при вдалому підборі хіміопрепаратів, особливо їх комбінацій, що стало передумовою для інтенсифікації досліджень у цьому напрямі [13]. На користь цього свідчать дослідження, в яких лікування хворих із застосуванням комбінації Г з ФУ, оксаліплатином та іринотеканом (FOLFIRINOX) призводило до підвищення виживаності пацієнтів із метастатичним РПЗ порівняно із застосуванням тільки Г [14]. Враховуючи спрямованість сучасної медицини на персоналізоване лікування, набуває особливого значення знання біомолекулярних маркерів, за експресією яких можна судити про біологічні особливості ПК, у тому числі hENT1, з яким пов'язаний транспорт цитостатиків та їх метаболізм. При ад'ювантному лікуванні хворих на РПЗ визначення експресії цього маркера є необхідним з огляду на існування значної індивідуальної варіабельності експресії hENT1 у ПК, від якої залежить чутливість/резистентність раку цієї локалізації.

ВИСНОВКИ

1. При застосуванні комбінації ТГ в ад'ювантному лікуванні хворих на РПЗ із низькою експресією hENT1 відмічено підвищення БРВ порівняно із застосуванням МГ.
2. Вказана комбінація цитостатиків викликає дещо вищу частоту побічних ефектів, проте вони є передбачуваними і зникають при проведенні симптоматичного лікування.
3. Для подальшого вивчення ефекту комбінації ТГ та інших цитостатиків в ад'ювантному лікуванні хворих на РПЗ із низькою експресією hENT1 у ПК необхідні масштабніші дослідження.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Шалимов СА, Осинский ДС, Черный ВА и др. Рак поджелудочной железы. Современное состояние проблемы. Киев: Основа, 2007. 320 с.
2. Oettle H, Post S, Neuhaus P, et al. Adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients undergoing curative-intent resection of pancreatic cancer: a randomized controlled trial. JAMA 2007; 297: 267–77.
3. Neuhaus P, Riess H, Post S, et al. CONKO-001: Final results of the randomized, prospective, multicenter phase III trial of adjuvant chemotherapy with gemcitabine versus observation in patients with resected pancreatic cancer (PC) [abstract]. J Clin Oncol 2008; 26 (May 20 suppl): LBA4504.
4. Neoptolemos JP, Stocken DD, Friess H, et al. A randomized trial of chemoradiotherapy and chemotherapy after resection of pancreatic cancer. N Engl J Med 2004; 350: 1200–10.
5. Koay EJ, Truty MJ, Cristini V, et al. Transport properties of pancreatic cancer describe gemcitabine delivery and response. J Clin Invest 2014; 124 (4): 1525–36.
6. Spratlin J, Sangha R, Glubrecht D, et al. The absence of human equilibrative nucleoside transporter 1 is associated with reduced survival in patients with gemcitabine-treated pancreas adenocarcinoma. Clin Cancer Res 2004; 10: 6956–61.
7. Kondo N, Murakami Y, Uemura K, et al. Combined analysis of dihydropyrimidine dehydrogenase and human equilibrative nucleoside transporter 1 expression predicts survival of pancreatic carcinoma patients treated with adjuvant gemcitabine plus S-1 chemotherapy after surgical resection. Ann Surg Oncol 2012; 19, Suppl 3: S646–55.

8. Щепотин ИБ, Киркилевский СИ, Колесник ЕА. Фторпиримидины в химиотерапии опухолей желудочно-кишечного тракта. Харьков: ФООП Мартиняк, 2009. 97 с.
9. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, et al. WHO Classification of Tumours of the Digestive System (IARC WHO Classification of Tumours), 2010. Edition: 4.
10. Common Terminology Criteria for Adverse Events. Version 4.03. National Cancer Institute. USA. 2010.
11. Nakahira S, Nakamori S, Tsujie M, et al. Pretreatment with S-1, an oral derivative of 5-Fluorouracil, enhances gemcitabine effects in pancreatic cancer xenografts. Anticancer Res 2008; 28: 179–186.
12. Saif MW, Lee Y, Kim R. Harnessing gemcitabine metabolism: a step towards personalized medicine for pancreatic cancer. Therapeutic Adv Med Oncol 2012; 4 (6): 341–6.
13. Fensterer H, Schade-Brittinger C, Müller H-H, et al. Multi-center phase II trial to investigate safety and efficacy of gemcitabine combined with cetuximab as adjuvant therapy in pancreatic cancer (ATIP). Ann Oncol 2013; 24: 2576–81.
14. Seufferlein T. Systemic treatment of advanced pancreatic cancer—step by step progress Gut 2013; 62: 660–1.

EFFICACY OF VARIOUS REGIMENS OF ADJUVANT CHEMOTHERAPY IN PATIENTS WITH PANCREATIC CANCER WITH LOW EXPRESSION hENT1 IN TUMOR CELLS

A.I. Dronov, S.V. Zemskov, A.N. Grabovoy,
P.P. Bakunets, M.V. Zemskova

Summary. Background and aim: hENT1 plays a key role in cellular metabolism. High expression hENT1 (40% of patients with pancreatic cancer (PC)) correlates with tumor response to gemcitabine. About 60% of all cases of PC represent low expression of hENT1. Combination of fluoropyrimidines and gemcitabine is recommended for palliative treatment of PC. The aim of our study is to investigate the efficacy of tegafur + gemcitabine (TG) combination in adjuvant treatment of patients after curative resection of PC with low grade expression of hENT1 in comparison with gemcitabine monotherapy (GM). **Object and methods:** GM group consisted of 10 patients with low hENT1 expression; TG group consisted of 10 patients. **Methods:** clinical, morphological, immunohistochemical, statistical. **Results:** median of time to progression (TTP) in GM group and TG group were 9 and 15 months corresponding ($p < 0.05$). Median overall survival (OS) in GM group was 17 months and median OS in TG group was not yet reached by the time of the analysis. **Conclusion:** clear trend in TTP increase in PC patients with low grade hENT1 expression treated with TG in adjuvant setting was seen. Large scale study is needed to prove our results and hypothesis.

Key Words: pancreatic cancer, hENT1, adjuvant therapy, gemcitabine, tegafur.

Адреса для листування:

Земсков С.В.
03150, Київ, вул. Антоновича, 150, кв. 13.
Тел.: (095) 285-70-00

Одержано: 28.05.2014