



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 51187

(13) C2

(51) 7 A61K35/74, A61K39/07, A61P35/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАННЯ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ АУТОВАКЦИНОТЕРАПІЇ

1

(21) 2002010695

(22) 28.01.2002

(24) 15.12.2004

(46) 15.12.2004, Бюл. №12, 2004р.

(72) Потебня Григорій Платонович, Тарутінов Валерій Іванович, Лісовенко Галина Степанівна, Скляр Світлана Юріївна, Шпильова Світлана Іванівна, Черемшенко Надія Леонідівна, Кохановська Любов Миколаївна, Чехун Василь Федорович

(73) ІНСТИТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПАТОЛОГІЇ ОНКОЛОГІЇ І РАДІОБІОЛОГІЇ ІМ. Р.Є. КАВЕЦЬКОГО НАН УКРАЇНИ

(56) SU A 1723116 30.03.1992

2

RU C 2067616 10.10.1996

JP A 61081788 25.04.1986

(57) Спосіб комплексного лікування хворих раком молочної залози, що включає медикаментозну та/або променеву терапію і хірургічне втручання, який відрізняється тим, що через тиждень після хірургічного втручання проводять імунізацію вакциною, одержаною на основі аутологічних пухлинних клітин, оброблених фільтратом культуральної рідини штаму B.subtilis B-7025 шляхом 3-разового підшкірного введення в дозі 3-4 мл по наростаючій з інтервалом 5 днів з наступною 1-разовою ревакцинацією через 3 місяці.

Винахід, що заявляється стосується медицини, а саме онкології і може бути використаний для лікування хворих раком молочної залози.

В останній час у всьому світі спостерігається підвищення захворюваності і смерті від раку молочної залози (РМЗ), який займає перше місце серед злоякісних новоутворень у жінок. В Україні показник захворюваності РМЗ за 2000 рік становив 54,1 випадків на 100000 жіночого населення. Смертність за останні 10 років поступово підвищується, що робить актуальною проблему розробки нових методик протипухлинної терапії, спрямованих на підвищення ефективності лікування.

Налічується декілька десятків тисяч варіантів і лікувальних підходів до індивідуальної терапії пацієнтів з цієї патології. Сучасна терапія РМЗ - це багатоконпонентне, етапне лікування, яке передбачає індивідуальний підбір адекватного комплексу препаратів.

Однак РМЗ залишається найбільш частою причиною смерті серед онкологічних захворювань у жінок репродуктивного віку. В зв'язку з цим актуальним є пошук нових методів лікування, які підвищили б ефективність виживання і покращили б якість життя лікованих пацієнток. Злоякісний характер захворювання вимагає від хірурга мамолога-онколога проведення термінового аналізу максимального числа параметрів стану хворої та

призначення комплексного лікування. Комплексне лікування включає хірургічне втручання, променеву терапію та медикаментозне лікування - хіміо- і гормонотерапію, а також допоміжні методи (магнітотерапія, гіпертермія, імунотерапія, ензимотерапія, лазерна терапія та ін.). Хіміотерапія передбачає в першу чергу прямий цитотоксичний вплив на пухлину і є одним із головних компонентів комплексного лікування. Схеми моно- чи поліхіміотерапії (ПХТ) підбираються з врахуванням органотропності хіміопрепаратів, індивідуальної чутливості самої пухлини до них, станом гомеостатичних систем організму та рядом прогностичних факторів. На сьогодні запропоновано безліч схем ПХТ-СМФ, СТФ, АМ та ін., назви яких формуються за першими літерами латинської назви хіміопрепаратів. Медикаментозне лікування може бути неoad'ювантним (проводиться до операції) чи ад'ювантним (проводиться після операції). Застосування неoad'ювантної хіміотерапії при лікуванні РМЗ дозволяє розширити показання для органозберігаючого лікування або виконати його при великих розмірах пухлини, переводу неоперабельних форм в операбельні (при T4), а також забезпечити максимальну абластику, яку проводять на другому етапі при радикальній операції.

Але існують і негативні сторони неoad'ювантної терапії. Розвиток побічних ефектів при

(13) C2

(11) 51187

(19) UA

застосуванні хіміопрепаратів, які мають високу токсичність негативно позначаються на стані хворих під час та після проведення курсів хіміотерапії. При цьому суттєво погіршується якість їх життя.

Ад'ювантна терапія проводиться в післяопераційному періоді, як правило на 7-8 добу у вигляді кількох курсів на протязі 6 місяців, інколи до 1-2 років. Проведення її обґрунтовується необхідністю впливу на клінічно не визначені мікрометастази пухлин, наявність яких не можна виключити після вилучення первинного осередку. Однак на практиці різні схеми ПХТ хоч і мають позитивний клінічний ефект, але повністю не можуть запобігти їхньому розвитку. Головною надією на ліквідацію ракових клітин, які залишаються та тих, що заново утворюються є імунологічний захист організму.

Отже будь-який курс ПХТ не знищує усі пухлинні клітини, а можливість до збільшення доз не є безмежною. До того ж збільшення дози вище оптимального рівня не покращує виживання, а суттєво погіршує якість життя хворих. Слід врахувати, що протипухлинні препарати діють не тільки на пухлинні клітини, але й на нормальні, на органи та імунну систему, котрі забезпечують боротьбу з раковими клітинами, що залишилися після впливу протипухлинної терапії, та з тими, що утворюються *de novo*. Отже реабілітація органів та імунної системи зокрема, є першочерговою необхідністю після проведення курсів ПХТ, променевої терапії та оперативного втручання, яке само по собі також викликає імунодепресію організму хворої.

Тимким чином, для підвищення ефективності комплексного лікування хворих РМЗ, як з неоад'ювантним так і з ад'ювантним компонентом терапії доцільно використовувати допоміжні засоби необхідні для відновлення імунної системи, підвищення протипухлинної резистентності та покращення якості життя лікованих пацієнток, що досить суттєво і на що звертають особливу увагу в схемах сучасної терапії.

Відомий спосіб комплексного лікування хворих РМЗ при III ст. з застосуванням імунотерапії неспецифічними імуностимуляторами (левамизол, ембріональний тимус, зимозан, спленін і т.п.) [1]. Застосування неспецифічної імунотерапії на фоні спеціальної протипухлинної хіміотерапії покращує результати лікування та підвищує імунореактивність хворих РМЗ, знижує число ускладнень, пов'язаних з проведенням комплексного протипухлинного лікування, дозволяє провести спеціальне лікування в повному обсязі.

Відомий спосіб комплексного лікування хворих РМЗ, що включає неоад'ювантну хіміотерапію та магнітотерапію, тобто прогрів пухлини випромінювачем високочастотного електромагнітного поля для підсилення ефективності медикаментозного лікування [2]. Застосування способу неоад'ювантної термохіміотерапії дозволяє скоротити кількість курсів хіміотерапії, підвищити швидкість і ступінь регресії пухлини, знизити токсичність хіміопрепаратів.

Найбільш близьким аналогом до способу, що заявляється, є спосіб комплексного лікування хворих РМЗ [3], який полягає в тому, що при II та III стадіях захворювання проводять медикамен-

тозну та/або променеву терапію до/або після хірургічного втручання. Можливі й допоміжні методи лікування (гіпертермія, імунотерапія, ензимотерапія, лазерна терапія та ін.), з урахуванням стадії та патогенетичних форм захворювання.

При проведенні комплексного лікування у відповідності з наведеними вище ознаками способу досягнуто суттєвого зростання 5-річного виживання лікованих пацієнтів. Але, як відомо, хіміопроменева терапія є цитоагресивним методом впливу, котра чинить цитотоксичний ефект не тільки на пухлину, а й на клітини нормальних тканин всього організму хворого, зокрема на проліферацію клітин імунної системи. А пригнічення проліферації клітин імунної системи знижує ефективність імунної відповіді.

Тому логічним виникає необхідність пошуку засобу лікування, який би підсилив захисні сили організму за рахунок проведення специфічної імунотерапії.

Пошук методів комплексного лікування онкологічних хворих з використанням специфічної імунотерапії в післяопераційному періоді є дуже актуальним. Інтенсивно досліджуються протипухлинні вакцини та їх ефективність при різних онкологічних процесах. Одержані на сьогодні клінічні дані вказують на дуже великий спектр протипухлинних вакцин, котрі використовуються в клінічній практиці.

Позитивні результати при застосуванні протипухлинних вакцин зареєстровані при лікуванні хворих колоректальним раком, меланомою, раком нирок та при інших локалізаціях [4-6].

Відомі експериментальні та клінічні дані про ефективності профілактики рецидивів та метастазів за допомогою вітчизняної протипухлинної аутовакцини, виготовленої з пухлинних клітин та продуктів метаболізму штаму *B.subtilis* АБ-56 [7, 8]. Відмічено стимулюючий вплив протипухлинної вакцини на функції клітинного і гуморального імунітету. Використання такої аутовакцини після радикальної операції у онкологічних хворих [9-11] суттєво підвищує показники загального і без рецидивного подовження життя.

В основу винаходу, що заявляється, поставлено задачу удосконалення способу комплексного лікування раку молочної залози шляхом включення специфічної імунізації, щоб забезпечити відновлення пошкодженого імунітету, підвищення протипухлинної резистентності та збільшення тривалості і, що дуже важливо, покращення якості життя лікованих пацієнток, на що особливо звертається увага в міжнародних дослідженнях.

Поставлена задача вирішується тим, що при комплексному лікуванні хворих РМЗ з неоад'ювантним компонентом медикаментозної та/або променевої терапії в післяопераційний період проводять специфічну імунізацію вакциною з вищою імуногенністю, одержаною на основі аутологічних пухлинних клітин, оброблених фільтратом культуральної рідини штаму *B.subtilis* В-7025, шляхом 3-разового підшкірного введення вакцини в дозі 3-4мл по наростаючій, з інтервалом 5 днів з наступною 1-разовою ревакцинацією через 3 місяці. Застосування протипухлинної аутовакцини з вищою

імуногенністю дозволяє зменшити дозу введення вакцини для зменшення білкового навантаження при імунізації хворих.

Використання медикаментозної та/або променевої терапії до хірургічного втручання приводить до зменшення розмірів первинного пухлинного осередку, або переводу неоперабельних форм РМЗ в операбельні (при T4), а також забезпечення максимальної абластики, яку проводять на етапі радикальної операції.

Застосування специфічної імунізації при комплексному лікуванні хворих РМЗ з неoad'ювантним компонентом терапії сприяє відновленню протипухлинного імунітету, який значно пригнічується після хімопроменевої терапії та хірургічного втручання, яке саме по собі викликає імунодепресію організму.

Суть способу комплексного лікування раку молочної залози з неoad'ювантним компонентом терапії полягає в тому, що до операції проводять курс поліхіміотерапії та/або променевої терапії, а після операції включають специфічну імунізацію вакциною, виготовленою при обробці аутологічних пухлинних клітин фільтратом культуральної рідини штаму B.subtilis B-7025, шляхом 3-разового підшкірного введення вакцини в дозі 3-4 мл по нарастаючій з інтервалом в 5 днів та наступною одноразовою ревакцинацією через 3 місяці. В разі необхідності можливе також проведення курсу ад'ювантної ПХТ, але не раніше як через 6 місяців після операції.

Аутовакцину стандартизували по білку, визначали його по методу [12], сумарна доза становила 190 мг. Кількість вакцини для імунізації підбирали і контролювали за допомогою реакції гіперчутливості уповільненого типу (РГУТ), яка свідчить про формування клітинного імунітету. Позитивна РГУТ розцінюється як сприятлива прогностична ознака і корелює з активністю Т-лімфоцитів-хелперів, котрі приймають участь в генерації специфічних протипухлинних лімфоцитів. Слід також відмітити, що позитивна відповідь РГУТ співпадає з заявленими нами дозами вакцини, котрі застосовували при імунізації хворих.

Клінічні випробування способу, що заявляється проводили у відділенні молочної залози Інституту онкології АМН України. Вивчення ефективності результатів комплексного лікування РМЗ з неoad'ювантним і ад'ювантним компонентом медикаментозної та/або променевої терапії при використанні специфічної імунотерапії проаналізовано у 41 хворої з ІІА, ІІБ та ІІІА, ІІІБ стадіями захворювання. З них в до операційний період проліковано: 18 хворих - поліхіміотерапією, 10 хворих поліхіміо-променевою терапією, 13 хворих - променевою терапією, а після проведення радикальної операції всіх цих хворих проімунізовано аутовакциною. В контрольній групі були аналогічні хворі (45 хворих), яких не імунізували, а проводили їм ад'ювантні курси ПХТ по схемі CMF.

Вказані групи були однорідними за віком, стадіями захворювання, наявністю супроводжуючої патології, видами оперативних втручань. Всі пухлини були аденокарциномами і в більшості зустрічались ІІБ та ІІІБ стадії. Отже хворі в досліджуваних групах були з найбільшим поширенням

злоякісного процесу, тобто з найгіршим прогнозом для виживання.

Основними критеріями ефективності лікування були якість і тривалість життя лікованих пацієнток. Вивчені 5-річні результати ефективності лікування хворих РМЗ при використанні протипухлинної вакцини в комплексному лікуванні з неoad'ювантним і ад'ювантним компонентом медикаментозної та променевої терапії. Відмічено статистично достовірне збільшення показників 5-річного виживання на 12,1% та покращення якості життя на 70,2% [13] у групі хворих, які отримували аутовакцину у післяопераційному періоді при неoad'ювантному компоненті комплексного лікування без ад'ювантних курсів ПХТ по схемі CMF у порівнянні з аналогічною групою хворих, яким проводились ад'ювантні курси ПХТ по схемі CMF.

Суть способу пояснюють приклади (1-2) конкретного виконання:

Приклад 1. Хвора Ск-ва, історія хвороби №4409, діагноз - рак правої молочної залози ІІІА стадії (T2N2M0). З 01.08 по 12.09.1994 та з 19.10 по 21.11.1994 року знаходилась в науково-дослідному відділенні пухлин молочної залози Інституту онкології АМН України, де після курсу неoad'ювантної хіміотерапії за схемою CMF (тривалість 8 діб), та курсу до операційної променевої терапії (СВД на праву молочну залозу 45Гр, зони регіонарного метастазування 36Гр), була прооперована (операція - радикальна мастектомія по Холстеду) та одержала в післяопераційному періоді курс гормонотерапії тамоксифеном (10мг 2 рази на день) на протязі 2 років. ПГЗ - інфільтруючий аденоканцер, після променевої і хіміотерапії. Метастази раку в лімфатичні вузли. Через тиждень після операції пацієнтка була проімунізована аутовакциною триразово, підшкірно в дозі (3,0; 3,5; 4,0мл) з інтервалом 5 днів. Через три місяці була проведена одноразова ревакцинація в дозі 4мл.

За час проведення вакцинації загальна кількість лейкоцитів периферійної крові не змінювалась, відмічалось підвищення фагоцитарного індексу з 5,88 до 7,32%; практично не змінилась відносна кількість лімфоцитів, Т- та В-клітин (51% і 6% до лікування, 50% і 5% після лікування, відповідно), індивідуальна чутливість до тимогену (38% та 39%); зменшилась абсолютна кількість лімфоцитів: Т-, В- та О-клітин (до лікування - 2,5Г/л, 1,25Г/л, 0,15Г/л, 1,06Г/л, після лікування - 1,77Г/л, 0,88Г/л, 0,09Г/л, 0,79Г/л, відповідно); підвищився рівень циркулюючих імунних комплексів (з 80од.оп.пл. до 103од.оп.пл.), тобто спостерігалась активація і нормалізація імунної відповіді. На протязі курсу аутовакцинотерапії у хворої не відмічено погіршення загального стану, місцевих реакцій, підвищення температури. Хвора на 25.02. 2001р. знаходилась під наглядом без проявів прогресування хвороби.

Приклад 2. Хвора Шк-т, історія хвороби №5655, діагноз - рак молочної залози ІІІБ стадії (T4N2M0). Отримала курс променевої терапії (тривалість курсу 22 доби) СВД на молочну залозу та шляхи лімфовідтоку 45Гр. Після цього пацієнтка була прооперована (операція - радикальна мастектомія по Пейті) та отримала в післяопераційному періоді тільки один курс хіміотерапії за схемою

CMF. Після закінчення курсу хвора була проімунізована аутовакциною триразово підшкірно в дозі (3,0; 3,5; 4,0 мл) з інтервалом 5 днів. Через три місяці була проведена одноразова ревакцинація в дозі 4мл.

В процесі лікування визначали імунологічні показники до операції і після імунізації. Відмічена нормалізація основних субпопуляцій лімфоцитів крові: до операції Т-активні ($CD3^+DR^+$) - 7,8%, після імунізації - 10,4% (норма - 10,0%); В-активні ($CD3^+DR^+$) до операції - 8,9%, після імунізації - 11,9% (норма - 15,0%); Т-хелпери ($CD4$) до операції - 54,7%, після імунізації - 43,9% (норма - 40,0%); В-лімфоцити ($CD 19$) до операції - 7,9%, після імунізації 12,1% (норма - 15,0%). Продукція гамма-інтерферону мононуклеарами до операції 18,6 МЕ, після імунізації - 28,0МЕ (норма - 32МЕ). Хвора на 25.02.2001р. знаходилась під наглядом без проявів прогресування хвороби.

Проведені дослідження свідчать про те, що включення протипухлинної аутовакцини в схему з неoad'ювантним компонентом лікування хворих РМЗ сприяє більш якісному протіканню післяопераційного періоду у порівнянні з результатами лікування хворих традиційними методами.

Отже для підвищення ефективності неoad'ювантної медикаментозної та променевої терапії доцільно застосовувати специфічну імунізацію вакциною, яка необхідна для відновлення імунної системи, підвищення протипухлинної резистентності, збільшення тривалості та покращення якості життя лікованих пацієнток, а також зменшення курсів хіміо- та/або променевої терапії в післяопераційний період.

Таким чином, розроблений спосіб комплексного лікування хворих РМЗ з використанням в післяопераційному періоді специфічної імунізації хворих аутовакциною може зайняти значне місце в загальному комплексі протипухлинних засобів.

Література

1. Кислицына В.С. Неспецифическая иммуностимуляция в процессе комплексного лечения больных раком молочной железы IIIБ стадии. Автореф. канд.дис. Киев, 1988. 17с.
2. Яремчук А.Я., Чешук В.Е., Аникусько Н.Ф. Неoad'ювантная химиотерапия в составе комплексного органосохраняющего лечения больных раком молочной железы. Онкология 1999; 4: 309-311.

3. Тарутінов В.І. Рак молочної залози. Лікування та діагностика 1998; 2 (10): 22-27.

4. Hoover HC Jr, Brandhorst JS, Peters LC, Surdyke MG, Takeshita Y, Madariaga J, Muenz LR, Hanna MG Jr. Adjuvant active specific immunotherapy for human colorectal cancer: 6.5-year median follow-up of a phase III prospectively randomized trial. J Clin Oncol 1993; 11(3): 390-399.

5. Berd D, Kairys J, Dunton C, Mastrangelo MJ, Sato T, Maguire HC Jr Autologous, hapten-modified vaccine as a treatment for human cancers. Semin Oncol 1998; 25(6): 646-653.

6. Mulders P, Tso CL, Gitlitz B, Kaboo R, Hinkel A, Frand S, Kiertscher S, Roth MD, deKernion J, Figlin R, Belldgrun A. Presentation of renal tumor antigens by human dendritic cells activates tumor-infiltrating lymphocytes against autologous tumor: implications for live kidney cancer vaccines. Clin Cancer Res 1999; 5(2): 445-454.

7. Затула Д.Г. Микроорганизмы, рак и противоопухолевый иммунитет. Киев: Наукова думка 1985. 213с.

8. Потебня Г.П., Загадарчук Н.Л., Савцова З.Д., Литвиненко О.О. Протипухлинна активність вакцин, одержаних за допомогою фільтрату культуральної рідини Vac.mesentericus АБ-56 або антибіотика АБ-56. Клінічна хірургія 1998; 1: 37-38.

9. Колесник Е.А., Потебня Г.П., Кикоть В.А., Черный В.А., Лисовенко Г.С., Семерников В.А. Противоопухолевая аутовакцина в лечении больных распространенным колоректальным раком. Онкология 1999; 2:104-109.

10. Потебня Г.П., Смоланка И.И., Лисовенко Г.С., Ромашко Н.И., Семерников В.А., Колесник Е.А. Эффективность иммунотерапии аутовакциной в лечении больных раком легкого. Онкология 2000; 2(3): 191-194.

11. Потебня Г.П., Тарутінов В.І., Скляр С.Ю., Лисовенко Г.С., Шпилева С.И., Кохановская Л.Н. Применение аутовакциноотерапии при комбинированном лечении рака молочной железы. X з'їзд онкологів України, матер. (Крим, 10-12 жовтня 2001р.). Київ 2001: 119.

12. Bligh K.G., Dyer WJ. A rapid method of total lipids extraction and purification. Canad J Biochem Physiol 1959; 37 (8): 911-917.

13. Manual for clinical research in breast cancer. 3rd Edition. EORTC Breast Cancer Cooperative group. 1st European Breast Cancer Conference, Florence, 29 September - Oktober 1998 (Ed. J.A.van Dongen). EORTC, Brussels, 1998. 131pp.