

В.В. Зайчук<sup>1</sup>  
 Р.И. Верещако<sup>1</sup>  
 В.Е. Чешук<sup>1</sup>  
 О.В. Пономарева<sup>2</sup>  
 О.М. Караман<sup>2</sup>  
 О.И. Сидорчук<sup>1</sup>  
 И.Н. Мотузюк<sup>1</sup>  
 Г.П. Потебня<sup>2</sup>  
 З.Д. Савцова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Национальный  
 медицинский университет  
 им. А.А. Богомольца  
 МЗ Украины

<sup>2</sup>Институт  
 экспериментальной патологии,  
 онкологии и радиобиологии  
 им. Р.Е. Кавецкого  
 НАН Украины, Киев, Украина

**Ключевые слова:** рак молочной железы, противоопухолевая аутовакцина, эффективность лечения, выживаемость без прогрессирования заболевания.

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ СОЧЕТАНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АУТОВАКЦИНЫ СО СТАНДАРТНЫМ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМ ЛЕЧЕНИЕМ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (АНАЛИЗ ДАННЫХ 10-ЛЕТНЕГО НАБЛЮДЕНИЯ)

В течение ряда лет внимание исследователей привлекает применение в комплексном лечении больных раком молочной железы (РМЖ) иммунотерапии, целью которой является профилактика прогрессирования заболевания путем уничтожения остаточных злокачественных клеток. В 2000–2003 гг. в Украине проведены клинические испытания противоопухолевой аутовакцины (ПАВ), изготовленной из клеток резецированных опухолей путем их обработки продуктами жизнедеятельности *B. subtilis* 7025. **Цель:** оценка эффективности применения ПАВ в комплексном лечении больных РМЖ на основании показателей 5- и 10-летней выживаемости (общей (ОВ) и без прогрессирования заболевания (ВБП)) и развития рецидивов и метастазов в зависимости от стадии заболевания, гистологического типа опухоли, динамики Т-клеточной реакции *in vivo* (реакция гиперчувствительности замедленного типа) в ответ на введение ПАВ. **Объект и методы:** проанализированы результаты лечения 176 больных РМЖ стадии IIA–IIB. Всем пациенткам проведена радикальная операция; адъювантное лечение применяли в соответствии с национальными стандартами. Контрольную группу составили 119 больных, получивших стандартное лечение, основную — 57 пациенток, которые, кроме последнего, получили в адъювантном режиме ПАВ (3-кратное введение с интервалом 7 сут, ревакцинация спустя 1 и 3 мес). Статистический анализ данных проводили с помощью программ StatSoft STATISTICA 6.1 и GraphPad Prism, версия 6.05, используя метод Каплана — Мейера, двусторонний log-rank тест, метод нестратифицированной регрессии Кокса. **Результаты:** при РМЖ стадии IIA положительный эффект ПАВ в отношении как ВБП, так и ОВ проявился на уровне тенденций. Эффект включения ПАВ в лечение пациенток с РМЖ стадии IIB был статистически достоверным, снижая относительный риск (ОР) более чем на 50%; медиана ВБП превышала таковую в контрольной группе более чем в 3 раза. Вакциноterapia пациенток с инфильтрирующим дольковым РМЖ не оказывала статистически достоверного влияния на ВБП и ОВ, тогда как ее проведение при инфильтрирующем протоковом РМЖ достоверно улучшало эти показатели. Более высокая 10-летняя ВБП, увеличение ее медианы и снижение риска прогрессирования заболевания (ОР < 1,0) имеют место при повышении реакции гиперчувствительности замедленного типа > 20% от исходного уровня. **Вывод:** использование ПАВ может быть рекомендовано в комплексном лечении больных РМЖ IIA и IIB стадии.

Рак молочной железы (РМЖ) занимает первое место в структуре заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований в странах Европы, в том числе в Украине. Во всем мире частота РМЖ имеет тенденцию к повышению: за последние 30 лет этот показатель в развитых странах возрос более чем на 20% — болезнь поражает почти каждую десятую женщину; количество новых случаев заболевания превышает 1 млн в год [1–4]. Несмотря

на рост заболеваемости, смертность от РМЖ во многих странах снижается (особенно среди пациенток молодого и среднего возраста) благодаря более ранней диагностике, обоснованию факторов индивидуального прогноза и совершенствованию на этой основе методов лечения. Тем не менее более чем у 50% больных РМЖ в разные сроки после выявления и первичного лечения развивается локальный рецидив или генерализованный метаста-

тический процесс, что является не только медицинской, но и экономической проблемой. Известно, что лечение пациенток с рецидивными или метастатическими формами РМЖ требует в 25–30 раз больших затрат по сравнению с первичной терапией опухоли в ранней или доклинической стадии. Невзирая на индивидуализацию лечения, более 50% больных с метастатическим РМЖ рефрактерны к терапии, общий ответ на нее почти всегда транзиторный [5, 6]. Поэтому сохраняется (и даже возрастает) актуальность разработки методов противоопухолевой терапии, направленных на повышение эффективности первичного лечения. В течение ряда лет внимание исследователей привлекает применение на разных этапах лечения пациенток с РМЖ иммунотерапии, целью которой является профилактика прогрессирования заболевания путем уничтожения остаточных злокачественных клеток посредством действия механизмов противоопухолевой защиты организма. Для индукции/активации последних используют, в частности, адаптивную иммунотерапию и различные типы противоопухолевых вакцин [7–11].

В течение 2000–2003 гг. в клиниках Института онкологии АМН Украины (в настоящее время — Национальный институт рака) и Киевской городской онкологической больницы (ныне — Киевский городской клинический онкологический центр) проведены исследования эффективности использования в комплексном лечении больных РМЖ противоопухолевой аутовакцины (ПАВ), изготовленной из клеток резецированных опухолей путем их обработки продуктами жизнедеятельности *B. subtilis 7025* по оригинальной методике, разработанной в Институте экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины [12]. Клиническое испытание таких ПАВ было разрешено МЗ Украины (разрешение Ученого медицинского совета МЗ Украины на использование противоопухолевой аутовакцины, протокол № 43 от 28 апреля 2000 г.). Обеими группами исследователей получены сходные результаты. В частности, сравнение результатов традиционного комплексного лечения больных РМЖ I–III стадии и аналогичного лечения с использованием ПАВ показало, что специфическая иммунотерапия способствовала снижению частоты негативных эффектов химио- и лучевой терапии (миелосупрессии), позволяя провести комплексное лечение в полном объеме, повышая качество жизни пациенток и отдаленные результаты терапии. В группе пациенток, получавших ПАВ, выявлено снижение частоты локорегионарных рецидивов (2,8 против 5,4% ( $p < 0,05$ ) в контрольной группе [13], 0,0 против 8,0% ( $0,05 < p < 0,1$ ) [14, 15]), отдаленных метастазов (соответственно 14,3 против 33,0% [13], 7,0 против 27,0% ( $p < 0,05$ ) [15]), увеличение общей 3-летней выживаемости (в зависимости от стадии заболевания на 6,7–17,4% [13] и на 6–22% [15]).

Медиана общей выживаемости (ОВ) больных РМЖ при использовании ПАВ увеличивалась на 4,1–6,3 мес [13], длительность периода до прогрессирования заболевания — на 5,0 мес ( $p < 0,05$ ) [15]. Полученные данные позволили предположить, что эффективность применения исследованной ПАВ возрастает по мере увеличения стадии заболевания (при более распространенном опухолевом процессе) и варьирует в зависимости от гистологического типа опухоли (инфильтрирующий протоковый, инфильтрирующий дольковый, крибозно-скиррозный РМЖ). Также показано, что лечение больных РМЖ с использованием ПАВ способствовало существенному повышению функциональной активности Т-лимфоцитов: уровень реакции бласттрансформации лимфоцитов *in vitro* в присутствии как фитогемагглютинаина, так и аутовакцины возрастал до такового у практически здоровых людей (доноров) [13]. При кожной пробе с аутовакциной отмечено повышение частоты развития реакции гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ) и степени ее выраженности: положительную РГЗТ наблюдали до вакцинации у 24,6% пациенток, после нее — у 78,9%; площадь эритемы у пациенток основных групп после вакцинации возрастала в среднем на 45–50% [13–15]. В процессе вакцинации/ревакцинации отмечали ускорение (в сравнении с группами невакцинированных пациенток) динамики снижения содержания в сыворотке крови циркулирующих иммунных комплексов и IgA, что обычно ассоциируется с благоприятным прогнозом течения заболевания [14]. У вакцинированных пациенток отмечали также благоприятные изменения исследованных характеристик неспецифического звена противоопухолевого иммунитета: увеличение содержания в крови больших гранулярных лейкоцитов, повышение функционального резерва моноцитов/макрофагов, стабилизацию уровней регуляторных цитокинов (фактора некроза опухоли — ФНО, интерлейкина (ИЛ)-2) [14, 15].

В обоих исследованиях срок наблюдения за больными составил 3 года. Между тем результаты клинических испытаний ПАВ, изготовленных по аналогичной методике, в лечении пациентов с другими солидными опухолями (рак легкого, желудка, толстого кишечника) указывали, что выраженность эффекта вакцинотерапии возрастает с увеличением сроков наблюдения [16–18]. Поэтому представилось целесообразным проведение повторного анализа результатов лечения в 2000–2003 гг. больных РМЖ с применением ПАВ и без нее на основании данных об этих пациентках, собранных в 2014 г.

Целью работы была оценка эффективности применения ПАВ в комплексном лечении больных РМЖ на основании показателей выживаемости (ОВ и без прогрессирования заболевания — ВБП) и развития рецидивов и метастазов в зависимости от стадии заболевания, гистологического типа

опухоли и динамики Т-клеточной реакции *in vivo* (РГЗТ) в ответ на введение ПАВ.

### ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании использованы данные о 176 больных РМЖ стадии IIA–IIB, которым проведено лечение в Киевской городской онкологической больнице в 2000–2003 гг. Возраст пациенток составил  $57,1 \pm 1,0$  года ( $< 56$  лет — 51,1%,  $\geq 56$  лет — 48,9% больных). Диагноз РМЖ у всех больных верифицирован морфологическим исследованием. Стадирование заболевания осуществляли по классификации TNM 5. У всех пациенток проведена радикальная операция; адьювантные компоненты комплексного лечения (цитостатическая химиотерапия, лучевая терапия, по показаниям — гормональная терапия) применяли в соответствии с национальными стандартами. Пациентки были рандомизированы в контрольную и основную группы. Контрольную группу составили 119 больных, получивших стандартное противоопухолевое лечение. В основную группу вошли 57 пациенток, которые, кроме последнего, получали в адьювантном режиме ПАВ, приготовленную из клеток резцированной опухоли. Все пациентки дали информированное согласие на участие в исследовании, использование их операционного материала для приготовления ПАВ и включение последней в схему лечения. Получение, подготовка и хранение операционного материала, методика приготовления

и хранение ПАВ, дозы и способ ее введения, режим вакцинации детально описаны ранее [13, 14].

Исходные демографические и клиничко-патологические характеристики включенных в исследование пациенток и схемы их лечения представлены в табл. 1. Как видно, обе группы сопоставимы по возрасту пациенток, стадиям заболевания, гистологическим типам РМЖ, проведенной терапии (хирургическая или комплексная).

Анализ эффективности применения ПАВ проведен на основании данных клинического наблюдения и сведений о больных контрольной группы — в течение 10 лет, а пациентках основной группы — на протяжении 11–14 лет от начала лечения. За указанные периоды в контрольной группе выбыли из-под наблюдения или умерли от неонкологических заболеваний 10 пациенток (с РМЖ стадии IIA — 7, стадии IIB — 3); в основной группе — 3 больные (с РМЖ стадии IIA — 1, стадии IIB — 2).

Первичной конечной точкой исследования был показатель ВБП, характеризующий время от включения в исследование до любых проявлений подтвержденного прогрессирования болезни (локальные, локорегионарные рецидивы, отдаленные метастазы, контралатеральный РМЖ, летальный исход). При отсутствии вышеперечисленного учитывали время от рандомизации пациентки до последнего клинического наблюдения. Вторичные конечные точки: ОВ (время от рандомизации до смерти от любых причин), характеристика динамики появления рецидивов и процесса отдаленного мета-

Таблица 1

Общая характеристика групп больных РМЖ [14]

Показатель	Количество больных в группе			
	Основная		Контрольная	
	п	%	п	%
Всего больных,	57	100,0	119	100,0
из них:				
< 56 лет	30	$52,6 \pm 6,6$	59	$49,6 \pm 4,6$
$\geq 56$ лет	27	$47,4 \pm 6,6$	60	$50,4 \pm 4,6$
Стадия РМЖ				
IIA (T2N0M0) всего,	36	$63,2 \pm 6,4$	58	$48,7 \pm 4,6$
из них:				
< 56 лет	19	$52,8 \pm 8,3$	31	$53,4 \pm 6,5$
$\geq 56$ лет	17	$47,2 \pm 8,3$	27	$46,6 \pm 6,5$
IIB (T2N1M0) всего,	21	$36,8 \pm 6,4$	61	$51,3 \pm 4,6$
из них:				
< 56 лет	11	$52,4 \pm 10,9$	28	$45,9 \pm 6,4$
$\geq 56$ лет	10	$47,6 \pm 10,9$	33	$54,1 \pm 6,4$
Гистологическая структура опухоли:				
инфильтрирующий дольковый рак	20	$35,1 \pm 6,3$	43	$36,1 \pm 4,4$
инфильтрирующий протоковый рак	26	$45,6 \pm 6,6$	59	$49,6 \pm 4,6$
инфильтрирующий крибозно-скirrosный рак	8	$14,0 \pm 4,6$	14	$11,8 \pm 3,0$
слизистый рак	1	$1,8 \pm 1,7$	0	$0,83 \pm 0,82$
железистый рак	1	$1,8 \pm 1,7$	1	$0,8 \pm 0,8$
неинфильтрирующий внутрипротоковый рак	1	$1,8 \pm 1,7$	2	$1,6 \pm 1,2$
Лечение:				
IIA (T2N0M0)				
хирургическое	13	$36,1 \pm 8,0$	22	$38,5 \pm 6,4$
комплексное	23	$63,9 \pm 8,0$	36	$61,5 \pm 6,4$
IIB (T2N1M0)				
хирургическое	4	$19,0 \pm 8,6$	16	$26,2 \pm 5,6$
комплексное	17	$81,0 \pm 8,6$	45	$73,8 \pm 5,6$

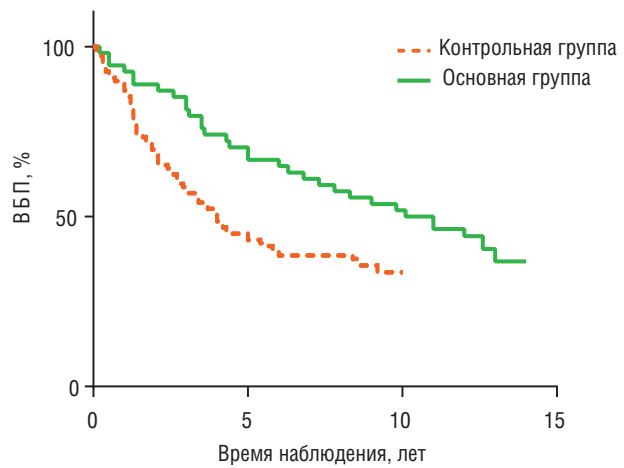
стазирования (время до появления первого отдаленного метастаза; локализация, множественность метастазов). Анализ и сравнение перечисленных показателей проводили при 5- и 10-летнем сроке наблюдения для каждой группы в целом, а также в зависимости от стадии заболевания, гистологического типа РМЖ, интенсивности иммунологического ответа на ПАВ по данным РГЗТ.

Статистический анализ данных проводили, используя программы StatSoft STATISTICA 6.1 и GraphPad Prism, версия 6.05. Для сравнения выживаемости в основной и контрольной группах использовали двусторонний log-rank тест. Относительный риск (ОР) для лечения с применением ПАВ по сравнению со стандартным лечением рассчитывали посредством нестратифицированной регрессии Кокса, распределение событий во времени — с помощью метода Каплана — Мейера. Все значения являются двусторонними (различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ ), доверительные интервалы (ДИ) — 95%.

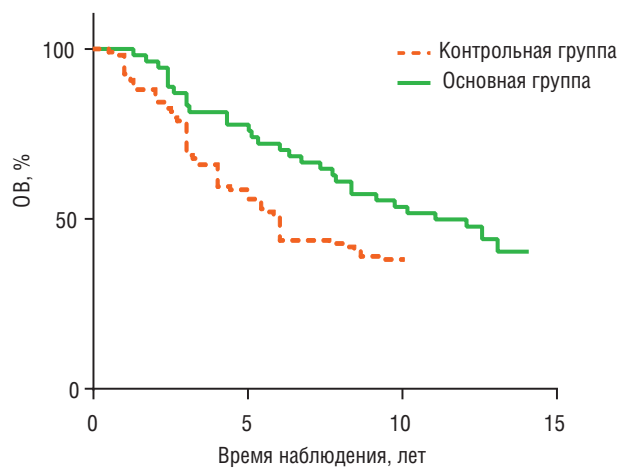
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные о ВБП и ОВ пациенток контрольной и основной групп приведены на рис. 1. 5-летняя ВБП в контрольной группе составила 45,0% (49 из 109 пациенток), медиана ВБП — 4,0 года; в основной группе ВБП — 70,4% (38 из 54 пациенток), медиана ВБП — не достигнута; ОР прогрессирования заболевания в основной группе 0,519 (95% ДИ 0,322–0,824);  $\chi^2 = 8,823$ ,  $p = 0,003$ . 10-летняя ВБП составила соответственно 31,2% (34 пациентки) и 51,9% (28 пациенток), медиана ВБП в основной группе не достигнута; ОР 0,589 (95% ДИ 0,389–0,846);  $\chi^2 = 7,073$ ,  $p = 0,008$ . Дальнейшее наблюдение пациенток основной группы продемонстрировало медиану ВБП — 11,0 года. Оценка данных по показателю ОВ позволила получить принципиально подобный результат. После 5-летнего наблюдения медиана ОВ не достигнута ни в контрольной, ни в основной группе, однако риск умереть у вакцинированных пациенток в 2 раза ниже (ОР 0,523 (95% ДИ 0,319–0,839);  $\chi^2 = 6,419$ ,  $p = 0,011$ ). После 10-летнего наблюдения ОР 0,640 (95% ДИ 0,415–0,932);  $\chi^2 = 4,704$ ,  $p = 0,030$ . Медиана ОВ в контрольной группе — 6,0 года, в основной — 12,0 года. Полученные данные подтверждают заключение об эффективности использования ПАВ в лечении больных РМЖ, сделанное ранее на основании анализа результатов 3-летнего наблюдения [14, 15].

Результаты анализа выживаемости в подгруппах, стратифицированных в зависимости от стадии заболевания или гистологического типа опухоли, приведены в табл. 2. При сопоставлении характеристик выживаемости в основной и контрольной группах пациенток с РМЖ стадии ПА не выявлено достоверных отличий, положительный эффект применения ПАВ в отношении как ВБП, так и ОВ проявился на уровне тенденций, убывающих по мере увеличения срока наблюдения. При анализе ОР получены практически одинаковые значения, близкие



а



б

**Рис. 1.** ВБП (а) и ОВ (б) пациенток, включенных в исследование, в зависимости от использования ПАВ в комплексном лечении при РМЖ. Кривые выживаемости по Каплану — Мейеру, log-rank критерий  $p = 0,008$  (а),  $p = 0,030$  (б)

к 1,0: при 5-летнем наблюдении ОР прогрессирования РМЖ в основной группе составил 0,734 (95% ДИ 0,356–1,394), ОР смерти — 0,854 (95% ДИ 0,374–1,851); при 10-летнем наблюдении — 0,866 (95% ДИ 0,471–1,535) и 0,950 (95% ДИ 0,515–1,731) соответственно. Эффект включения ПАВ в лечение пациенток с РМЖ стадии ПА был статистически достоверным, снижая ОР более чем на 50%. При 5-летнем наблюдении ОР прогрессирования заболевания составил 0,409 (95% ДИ 0,258–0,842), ОР летального исхода — 0,419 (95% ДИ 0,245–0,878); при 10-летнем наблюдении — 0,468 (95% ДИ 0,283–0,817) и 0,495 (95% ДИ 0,283–0,868) соответственно. В основной группе медиана ВБП превышала таковую в контрольной более чем в 3 раза (9,0 против 2,8 года), медиана ОВ — в 2,2 раза (10,1 против 4,0 года).

Вакциноterapia пациенток с инфильтрирующим дольковым РМЖ не оказывала статистически достоверного влияния на ВБП и ОВ (см. табл. 2). Можно отметить достаточно благоприятное течение опухолевого процесса этого гистологического типа как в основной, так и в контрольной группе: при наблюдении



нии в течение 10 лет медиана и ВБП, и ОВ не достигнута; при сроке наблюдения пациенток основной группы 14 лет медиана составила 12,6 года. У больных с инфильтрирующим протоковым РМЖ картина была иной. В контрольной группе 5- и 10-летняя ВБП и ОВ были приблизительно в 2 раза ниже аналогичных показателей в подгруппе пациенток с инфильтрирующим дольковым РМЖ, что соответствует данным литературы о неблагоприятном прогнозе при протоковом раке [4, 19], для которого являются характерными распространение на внутренние органы с формированием вторичных очагов, мультицентричность роста, двустороннее поражение молочных желез [20]. Проведение вакцинотерапии при инфильтрирующем протоковом РМЖ достоверно улучшало ВБП и ОВ. В то время как в контрольной группе медиана ВБП составила 3,5 года, а медиана ОВ — 5,0 года, в основной группе ни одна из медиан не достигнута при сроке наблюдения 14 лет. В основной группе ОР снижались на 52–64%: при 5-летнем наблюдении ОР прогрессирования заболевания составил 0,365 (95% ДИ 0,213–0,612), ОР умереть — 0,482 (95% ДИ 0,296–0,796); при 10-летнем наблюдении — 0,439 (95% ДИ 0,293–0,770) и 0,478 (95% ДИ 0,307–0,826) соответственно (см. табл. 2). В более ранних публикациях [14, 15], рассматривая эффективность применения ПАВ у больных с инфильтрирующим криброзно-скиррозным РМЖ, мы отмечали, что при опухолях этого гистологического типа наблюдается прогностически менее благоприятный иммунный ответ на вакцинотерапию, а 3-летняя выживаемость хуже, чем в контрольной группе. Однако учитывая, что после 3-летнего наблюдения в основной группе в живых остались лишь 4 (из 8 включенных в исследование) пациентки с этим типом РМЖ, проведение дальнейшего анализа и оценка ОР по показателям 5- и 10-летней ВБП и ОВ были, по нашему мнению, нецелесообразными.

В течение периода наблюдения локорегионарные рецидивы развились у 19 ( $17,4 \pm 3,6\%$ ) пациенток контрольной группы: при РМЖ стадии IIA — у 5 ( $9,8 \pm 4,2\%$ ), стадии IIB — у 14 ( $24,1 \pm 5,6\%$ ). Большинство рецидивов (14 из 19; 73,7%) выявлены в срок до 3 лет после операции, средний период их возникновения —  $17,4 \pm 4,4$  мес. Частота и сроки развития рецидивов в контрольной группе близки к данным Eastern Cooperative Oncology Group (13–15%, до 2 лет) [21, 22]. В основной группе отмечены 3 случая развития рецидива ( $5,6 \pm 3,1\%$ ;  $p = 0,05$ ), 1 — при стадии IIA (в связи с сопутствующими заболеваниями химиотерапию пациентке не проводили) и 2 — при стадии IIB. Сроки появления рецидивов — 1–2 (стадия IIB) и 3 (стадия IIA) года после операции.

Метастазы выявлены у 52 ( $47,7 \pm 4,8\%$ ) пациенток в контрольной группе и у 17 ( $31,5 \pm 6,3\%$ ;  $0,05 < p < 0,1$ ) — в основной; в том числе при РМЖ стадии IIA — у  $32,7 \pm 6,5$  против  $24,0 \pm 6,8\%$ , при РМЖ стадии IIB — у  $54,3 \pm 6,6$  против  $32,6 \pm 10,2\%$  пациенток соответственно. Общее количество метастатических поражений в контрольной группе — 71, в основной — 19; распределение по локализациям приведено в табл. 3. Множественное метастатическое поражение внутренних органов наблюдали у 12 пациенток в контрольной группе и у 2 — в основной. Привлекает внимание отсутствие в основной группе диссеминации опухоли по коже, метастатического поражения кожи и лимфоузлов, метастазов в головном мозгу и надпочечниках, а также меньшая распространенность процесса при множественных метастазах. Так, в основной группе у одной пациентки были поражены печень и костная ткань, у другой — костная ткань и легкие. В контрольной группе поражение 2 органов отмечали у 5 больных: легких и костной ткани — у 1, легких и лимфоузлов — у 3, печени и лимфоузлов — у 1. У 7 пациенток этой группы метастазами были поражены 3 и больше органов: лег-

Таблица 2

ВБП и ОВ в стратифицированных подгруппах пациенток, включенных в исследование

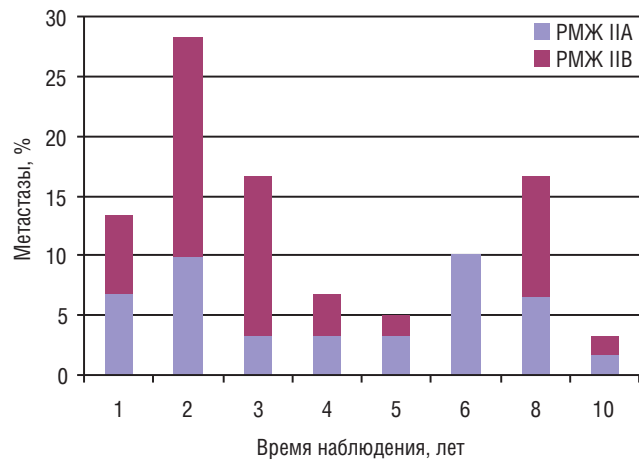
Критерии стратификации подгрупп	ВБП					ОВ				
	5-летняя		10-летняя		Медиана, лет	5-летняя		10-летняя		Медиана, лет
	%	$\chi^2$	%	$\chi^2$		%	$\chi^2$	%	$\chi^2$	
<b>Стадия РМЖ</b>										
IIA контрольная группа	62,7	0,887 ( $p = 0,344$ )	48,0	0,256 ( $p = 0,613$ )	9,8	74,5	0,175 ( $p = 0,676$ )	54,4	0,031 ( $p = 0,860$ )	Не достигнута <sup>1</sup>
	основная группа		71,4		54,3			11,0		80,0
IIB контрольная группа	25,8	6,080 ( $p = 0,014$ )	17,2	6,525 ( $p = 0,011$ )	2,8	39,7	5,143 ( $p = 0,023$ )	24,1	5,235 ( $p = 0,022$ )	4,0
	основная группа		57,9		47,4			9,0		63,2
<b>Гистологический тип РМЖ</b>										
Инфильтрирующий дольковый рак: контрольная группа	66,5	0,248 ( $p = 0,734$ )	54,7	0,115 ( $p = 0,810$ )	Не достигнута <sup>1</sup>	76,5	0,128 ( $p = 0,720$ )	64,7	0,121 ( $p = 0,795$ )	Не достигнута <sup>1</sup>
	основная группа		76,9		61,5			12,6		92,3
Инфильтрирующий протоковый рак: контрольная группа	34,2	11,870 ( $p = 0,0006$ )	26,0	8,605 ( $p = 0,003$ )	3,5	48,1	7,040 ( $p = 0,008$ )	30,4	6,847 ( $p = 0,009$ )	5,0
	основная группа		65,5		55,2			Не достигнута <sup>2</sup>		73,3

<sup>1</sup>Медиана не достигнута при 10-летнем сроке наблюдения.

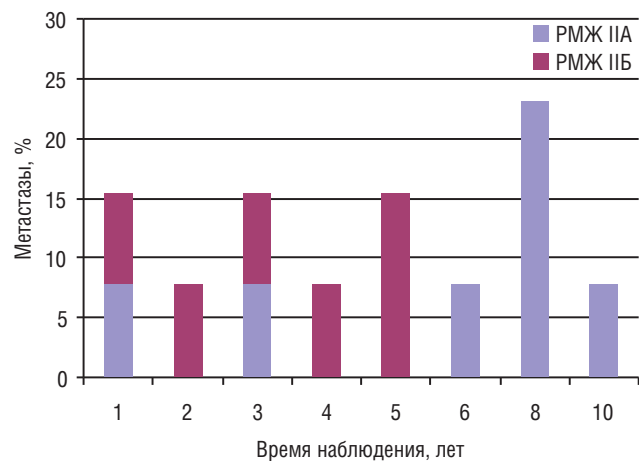
<sup>2</sup>Медиана не достигнута при 14-летнем сроке наблюдения.

кие, лимфоузлы, плевра — у 3; легкие, костная ткань, лимфоузлы — у 1; легкие, кости, печень — у 1; легкие, печень, лимфоузлы — у 1; плевра, кости, лимфоузлы — у 1 больной. То есть распространенность заболевания была меньшей у вакцинированных пациенток, даже в случаях метастатического прогрессирования РМЖ. В контрольной группе более половины метастатических поражений (45; 58,3%) развились в течение первых 3 лет наблюдения, повторная интенсификация метастазирования (19 метастазов; 26,7%) зафиксирована на 6–8-м году (рис. 2, а). В основной группе частота появления метастазов практически равномерно (от 1 до 3 метастазов; 7,7–15,4%) колебалась в течение 10 лет (рис. 2, б). Сопоставление временной динамики появления клинических метастазов в контрольной и основной группах демонстрирует замедленное развитие процесса у вакцинированных пациенток, наглядно дополняя данные о параметрах ВБП (см. рис. 1, а; табл. 2).

Доклиническое изучение ПАВ продемонстрировало ее влияние на ряд звеньев системы противоопухолевой защиты. Спектр иммунологических эффектов ПАВ включает активирующее влияние как на клеточные и гуморальные реакции адаптивного иммунитета (активность цитотоксических Т-лимфоцитов, комплементзависимая специфическая цитотоксичность сыворотки крови, активность сыворотки крови в реакции антителозависимой клеточной цитотоксичности — АЗКЦ), так и на реакции естественной противоопухолевой резистентности (цитотоксическая активность естественных киллеров и макрофагов), а также на уровень продукции соответствующими клетками *in vitro* цитокинов (ИЛ-1, -2, ФНО). Кроме того, эффектом использования ПАВ было продолжительное сохранение сбалансированного состояния иммунной системы иммунизированных животных. К механизмам такого феномена можно отнести пролонгацию деструктивной фазы активации макрофагов и сохранение функционального резерва этих клеток, а также оптимизацию компенсаторных реакций иммунной системы и торможение ассоциированной с опухолевым ростом иммуносупрессии (накопление в сыворотке крови веществ, угнетающих активность Т-лимфоцитов, естественных киллеров, эффекторов АЗКЦ, макрофагов). Выявлена сильная/выраженная положительная корреляционная связь между индексом ингибции метаста-



а



б

**Рис. 2.** Динамика появления клинических метастазов у пациенток контрольной (а) и основной (б) групп. По оси ординат — частота метастазов (%), выявленных в каждый из сроков наблюдения, по отношению к общему количеству метастазов в группе

зирования у животных с опухолями и активностью Т-лимфоцитов ( $r = 0,805$ ); продукцией *in vitro* ФНО ( $r = 0,716$ ) и ИЛ-2 ( $r = 0,722$ ); специфической цитотоксичностью сыворотки крови ( $r = 0,632$ ) и АЗКЦ ( $r = 0,508$ ) [23]. В клинических испытаниях выявлен сходный спектр иммунологических эффектов ПАВ у больных РМЖ. У пациенток основной группы отмечали достоверное повышение активности Т-лимфоцитов по данным РГЗТ с аутологичными опухолевыми антигенами, снижение блокирующей

Таблица 3

Отдаленные метастазы РМЖ у пациенток контрольной и основной групп

Локализация метастазов	Контрольная группа			Основная группа		
	Стадия IIA, n	Стадия IIB, n	Всего, n (%)	Стадия IIA, n	Стадия IIB, n	Всего, n (%)
Диссеминация по коже	2	3	5 (7,0)	0	0	0 (0,0)
Лимфоузлы	11	14	25 (35,2)	3	4	7 (36,8)
Лимфоузлы, кожа	4	1	5 (7,0)	0	0	0 (0,0)
Кости	5	7	12 (16,9)	1	2	3 (15,8)
Печень	3	5	8 (11,3)	1	2	3 (15,8)
Легкие	3	7	10 (14,1)	3	3	6 (31,6)
Плевра	1	3	4 (5,6)			0 (0,0)
Надпочечники	1	0	1 (1,4)	0	0	0 (0,0)
Головной мозг	1	0	1 (1,4)	0	0	0 (0,0)
<b>Всего</b>	<b>31</b>	<b>40</b>	<b>71 (100,0)</b>	<b>8</b>	<b>11</b>	<b>19 (100,0)</b>

ВБП в основной группе пациенток,  
стратифицированных в зависимости от уровня увеличения выраженности РГЗТ

Увеличение выраженности РГЗТ	10-летняя ВБП, %	$\chi^2$ (p)	Медиана, лет	ОР (95% ДИ)
В целом в группе:				
< 20%	40	0,024 (0,878)	9,8	0,907 (0,247–3,197)
> 20%	64		12,6	
При РМЖ стадии IIA:				
< 20%	25	1,817 (0,178)	8,5	0,400 (0,052–1,717)
> 20%	75		Не достигнута	

активности сыворотки крови, нормализацию соотношения показателей фагоцитарной активности и фагоцитарного индекса фагоцитирующих клеток, что свидетельствует о сохранении их функционального резерва, стабилизацию динамики уровней ФНО и ИЛ-2, а также снижение содержаний циркулирующих иммунных комплексов в плазме крови [13–15].

На основании первичного анализа результатов клинических исследований сделан, в частности, вывод о формировании у пациенток основной группы специфического клеточного иммунного ответа на антигены к ПАВ (по данным РГЗТ, кожной пробы) [14, 15]. Продемонстрировано, что до начала вакцинотерапии реакция может быть оценена как позитивная у 26% пациенток, после 1-й ревакцинации — у 80%. Показателем развития РГЗТ считали увеличение диаметра папулы, развивающейся после диагностического внутрикожного введения ПАВ, более чем на 20% по сравнению с исходными данными (выраженность РГЗТ до начала вакцинотерапии). После завершения курса вакцинотерапии средний уровень увеличения выраженности РГЗТ составил 37,5% при РМЖ стадии IIA и 42,9% — при стадии IIB. Слабовыраженную динамику РГЗТ (увеличение < 20%) наблюдали у 4 (11,1%) пациенток с РМЖ стадии IIA и у 2 (9,5%) — стадии IIB. Данные анализа зависимости ВБП от выраженности РГЗТ приведены в табл. 4. В основной группе в целом и у пациенток с РМЖ стадии IIA получены аналогичные результаты: более высокая 10-летняя ВБП, увеличение медианы ВБП и снижение риска прогрессирования заболевания (ОР < 1,0) при увеличении выраженности РГЗТ > 20% по сравнению со случаями повышения РГЗТ < 20%. У пациенток с РМЖ стадии IIB подобный анализ данных не проводили в связи с недостаточной презентабельностью выборки пациенток с увеличением выраженности РГЗТ < 20% (2 случая). Корреляционный анализ (в группе в целом) выявил выраженную положительную связь между длительностью периода до прогрессирования заболевания и уровнем повышения РГЗТ ( $r = 0,73$ ;  $p < 0,05$ ). Полученные данные однозначно указывают на преимущества в ВБП в подгруппе пациенток с более выраженным (увеличение РГЗТ > 20%) специфическим иммунным ответом на введение ПАВ. В то же время для повышения статистической силы проведенного анализа и корректной рекомендации об использовании РГЗТ в каче-

стве прогностического иммунологического теста при вакцинотерапии пациенток с РМЖ, по нашему мнению, необходимо исследование с увеличением количества наблюдений.

## Выводы

1. Использование ПАВ может быть рекомендовано в комплексном лечении больных РМЖ IIA и IIB стадий.

2. При сопоставлении характеристик выживаемости в основной и контрольной группах пациенток с РМЖ стадии IIA положительный эффект применения ПАВ в отношении как ВБП, так и ОВ проявился на уровне тенденций, убывающих по мере увеличения срока наблюдения. Эффект включения ПАВ в лечение пациенток с РМЖ стадии IIB был статистически достоверным, снижая ОР более чем на 50%; в основной группе медиана ВБП превышала таковую в контрольной более чем в 3 раза.

3. Вакцинотерапия пациенток с инфильтрирующим дольковым РМЖ не оказывала статистически достоверного влияния на ВБП и ОВ, тогда как при инфильтрирующем протоковом РМЖ достоверно улучшала эти показатели. Больным с инфильтрирующим крибозно-скиррозным РМЖ, по нашим наблюдениям, не следует рекомендовать адъювантную вакцинотерапию.

4. Прогностическое значение кожной пробы на наличие РГЗТ требует дополнительного исследования с увеличением количества наблюдений.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. International Agency for Research on Cancer (IARC) (<http://globocan.iarc.fr>).
2. Рак в Україні, 2012–2013. Захворюваність, смертність, виживаність, показники діяльності онкологічної служби. Бюл Нац канцер-реєстру України 2014; (15): 44–5.
3. Ель ХМ, Бондаренко ІМ, Асєєв ОІ та ін. Особливості діагностики та клінічного перебігу різних імуногістохімічних підтипів раку молочної залози. Медичні перспективи 2014; 19 (3): 29–35.
4. Кулигина ЕШ. Эпидемиологические и молекулярные аспекты рака молочной железы. Практ онкол 2010; 11 (4): 203–16.
5. [http://www.mma.ru/articles/69676/?print=Y&ELEMENT\\_ID=69676](http://www.mma.ru/articles/69676/?print=Y&ELEMENT_ID=69676)
6. Смоланка ІІ, Скляр СЮ, Головка ТС, Ганич ОВ. Сучасні можливості проведення скринінгу захворювань грудної залози. Клин онкол 2014; (1(13)): 32–4.
7. Потєбня ГП, Лисовенко ГС, Савцова ЗД и др. Противоопухолевые вакцины: перспективы применения в клинической онкологии. Онкология 2004; 6 (3): 167–74.



8. Igietseme JU, Eko FO, He Q, Black CM. Combination vaccines: design strategies and future trends. *Expert Rev Vaccines* 2006; **5** (6): 739–45.

9. Wang M, Xie Z, Shi M, et al. A new strategy to induce effective antitumor response *in vitro* and *in vivo*. *Scand J Immunol* 2008; **68**: 287–96.

10. Potebnya GP, Symchych TV, Lisovenko GS. Xenogenic cancer vaccines. *Exp Oncol* 2010; **32**: 61–5.

11. Schlom J. Therapeutic cancer vaccines: current status and moving forward. *J Natl Cancer Inst* 2012; **104** (8): 599–613.

12. Патент 7А61К35/12, 38/01, 38/17 № 57869 Україна. «Спосіб одержання протипухлинної аутовакцини» /Потебня ГП, Лісовенко ГС, Черемшенко НЛ, Танасієнко ОА, Чехун ВФ / (Україна); № 2001064158; Заявл 15.06.2001; Опубл 15.07.2003, Бюл № 7.

13. Скляр СЮ. Результати комплексного лікування хворих на рак молочної залози з використанням аутовакцинотерапії. *Онкологія* 2006; **8** (1): 65–9.

14. Зайчук ВВ, Потебня ГП, Лісовенко ГС та ін. Ефективність застосування протипухлинної аутовакцини в комплексному лікуванні хворих на рак молочної залози II стадії. *Онкологія* 2004; **6** (1): 52–8.

15. Зайчук ВВ, Щепотін ІБ, Чешук ВС та ін. Ефективність застосування протипухлинної аутовакцини в лікуванні хворих з різною морфологічною структурою раку молочної залози. *Онкологія* 2006; **8** (1): 70–3.

16. Потебня ГП, Смолянка ІІ, Лісовенко ГС и др. Ефективність імунотерапії аутовакциною при ліченні больных раком легкого. *Онкологія* 2000; **2** (3): 191–4.

17. Чорний ВО, Потебня ГП, Лісовенко ГС та ін. Перспективи застосування протипухлинної аутовакцини в лікуванні хворих на поширений рак шлунка. *Онкологія* 2003; **5** (2): 107–10.

18. Шалимов СА, Колесник ЕА, Гриневиц ЮА и др. Адьювантная імунотерапія в ліченні больных колоректальным раком. *Онкологія* 2003; **5** (2): 101–6.

19. Schonberg MA, Marcantonio ER, Li D, Silliman RA. Breast cancer among the oldest old: tumor characteristics, treatment choices, and survival. *J Clin Oncol* 2010; **20** (12): 1975–6.

20. Сивак ЛА, Верьовкіна НО, Лялькін СА. Прогностичні фактори при раку грудної залози. Сучасний стан проблеми. *Клин онкол* 2014; (4(16)): 46–9.

21. Давыдов МИ, Летягин ВП. Практическая маммология. М: Практическая медицина, 2007. 53 с.

22. Семиглазов ВФ, Семиглазов ВВ, Дашян ГА. Проблемы хирургического лечения рака молочной железы. *Практ онкол* 2010; **11** (4): 217–20.

23. Савцова ЗД, Усач ОМ, Юдина ОЮ и др. Сопоставление эффективности вакцин серии ИЭПОР с динамикой продукции ФНО, ИЛ-1, ИЛ-2 у мышей с карциномой Льюис. *Эксп онкол* 2002; **24** (4): 295–300.

## EFFICACY OF ANTICANCER AUTOVACCINE WITH STANDARD ANTICANCER TREATMENT COMBINATION IN BREAST CANCER PATIENTS (ANALYSIS OF 10-YEAR SURVEILLANCE DATA)

V.V. Zaychuk, R.I. Vereshchako, V.E. Cheshuk,  
O.V. Ponomarova, O.M. Karaman, O.I. Sidorchuk,  
I.N. Motuziuk, G.P. Potebnya, Z.D. Savtsova

**Summary.** Over the years, the attention of the researchers attracted by application at different stages

of treatment for patients with breast cancer (BC) immunotherapy, the purpose of which is to prevent progression of the disease by destroying residual malignant cells. In 2000–2003 years in Ukraine were conducted clinical trials using cancer autovaccine (CAV) made from the cells of resected tumors by their processing products of *B. subtilis* 7025. **Objective:** to assess the efficacy of the application of CAV in complex treatment of patients with BC on the basis of the 5- and 10-year overall survival and without progression of disease and development of relapses and metastases, depending on the stage of the disease, histological tumor type, dynamics of T-cell responses *in vivo* in response to the administered CAV. **Object and Methods:** results of treatment of 176 patients with BC stage IIA–IIB were analyzed. All patients carried out radical surgery; adjuvant treatment were applied in accordance with national standards. A control group consisted of 119 patients who received standard treatment, basic — 57 patients, who were administered in adjuvant regimen CAV (3-fold injection with an interval of 7 days, revaccination later 1 and 3 months). Statistical analysis of the data were conducted by StatSoft Statistica 6.1 program and GraphPad Prism, version 6.05, using the Kaplan — Meier method, double sided log-rank test, regression unstratified Cox method. **Results:** patients with BC of the stage of IIA positive effect of CAV (both progressive free survival and overall survival) showed up at the level of tendencies. An effect of including of AV in treatment of patients with BC of the stage of IIB was statistically reliable, reducing hazard ratio more than on 50%; the median of progressive free survival exceeded such in a control group more than in 3 times. Vaccinotherapy of patients with infiltrate lobular BC did not render statistically reliable influence on the indexes of progressive free survival and overall survival, while realization of vaccinotherapy at infiltrative ductal BC reliable improved them. It is shown that higher 10-years-old progressive free survival, the increase of its median and decline of risk of progress of disease (overall survival < 1,0) take place at the height of delayed hypersensitivity reaction > 20% from an initial level. **Conclusion:** the use of CAV can be recommended in the complex treatment of patients with BC IIA and IIB stages.

**Key Words:** breast cancer, cancer autovaccine, efficacy of treatment, progressive free survival.

**Адрес для переписки:**

Зайчук В.В.

03115, Киев, ул. Верховинная, 69

Киевский городской клинический онкологический центр

E-mail: v.zaychuk@meta.ua

Получено: 31.03.2015