

*На правах рукописи*

**ОСИПОВ**  
**Михаил Анатольевич**

**КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ  
ПРИМЕНЕНИЯ МЕЛАТОНИНА И МЕТФОРМИНА  
В КОМБИНАЦИИ С СИСТЕМНОЙ ТЕРАПИЕЙ  
БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

14.01.12 – Онкология

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2018

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук, доцент – **Семиглазова Татьяна Юрьевна**

доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН – **Анисимов Владимир Николаевич**

**Официальные оппоненты:**

**Манихас Алексей Георгиевич** – доктор медицинских наук, заведующий первым хирургическим отделением Санкт–Петербургского бюджетного государственного учреждения «Городской клинический онкологический диспансер»

**Шихлярова Алла Ивановна** – доктор биологических наук, профессор, руководитель испытательного лабораторного центра федерального государственного бюджетного учреждения «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Ведущее учреждение:** Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центра Российской академии наук»

Защита диссертации состоится «\_\_\_»\_\_\_\_\_2018 г. в \_\_\_\_ ч. на заседании диссертационного совета Д 208.052.01 при ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России по адресу: 197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д.68.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, д.68), на сайте: <https://www.niioncologii.ru/science/thesis>

Автореферат разослан «\_\_\_»\_\_\_\_\_2018 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук

Филатова Лариса Валентиновна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность проблемы

Поиск новых лекарственных препаратов с целью снижения риска развития рака молочной железы (РМЖ) и повышения эффективности лечения РМЖ остается одной из важнейших задач современной онкологии. Существенную роль в патогенезе РМЖ играют гормонально-метаболические изменения, возникающие с возрастом, а так называемая «метаболическая реабилитация» может свести к минимуму вероятность влияния данного фактора (Дильман В.М., 1988; Берштейн Л.М., 2010; Семиглазов В.Ф., 2018).

Опубликованные результаты эпидемиологических исследований свидетельствуют о снижении на 17-20% риска заболеваемости РМЖ у больных сахарным диабетом, получавших синтетический бигуанид метформин (МТФ) (Vodmer M., 2010; Bosco J., 2011) и об увеличении показателей выживаемости при использовании МТФ после радикального лечения больных РМЖ (He X., 2012; Sonnenblick A., 2017). Результаты метаанализов не рандомизированных клинических исследований показали, что добавление нейrogормона эпифиза – мелатонина (МЛТ) к лекарственной терапии РМЖ ассоциировалось с повышением частоты клинического объективного ответа (Seely D., 2012).

Важно, что *in vitro* (Anisimov V., 2013; Kubatka P., 2018) и *in vivo* (Anisimov V., 2013) МЛТ и МТФ способны тормозить спонтанный и химически индуцированный канцерогенез молочной железы, а также сдерживать опухолевый рост на моделях перевиваемых опухолей и ксенографтах РМЖ (Jardim-Perassi B., 2014; Bolin L., 2009).

Противоопухолевый механизм действия МТФ вероятно обусловлен воздействием на активность циклической аденозинмонофосфат-зависимой протеинкиназы, и как следствие, ингибированием сигнального пути mTOR (Zhou G., 2001; Берштейн Л.М., 2010). Реализация противоопухолевого эффекта МЛТ может осуществляться через взаимодействие с рецепторами к нему (MT1 и MT2) на поверхности опухолевых клеток. Выключение, посредством этого взаимодействия, ключевых белков и ферментов, задействованных в опухолевом росте, ведет к активации апоптоза опухолевой клетки (Dubocovich M., 2010; Wang J., 2012).

Таким образом, представляет несомненный интерес, в особенности с учетом механизма действия, изучение в неоадьювантном режиме таких

хорошо известных препаратов как МЛТ и МТФ, которые, влияя на клинико-метаболические обменные процессы, возможно, будут индуцировать противоопухолевый ответ, по крайней мере, у части больных раком молочной железы.

### **Цель исследования**

Улучшение результатов лечения больных местно-распространенным раком молочной железы.

### **Задачи исследования**

1. Изучить противоопухолевый эффект сочетанного применения доксорубицина и мелатонина на модели перевиваемой солидной опухоли Эрлиха у мышей – самок линии SHR.
2. Оценить влияние мелатонина и метформина на противоопухолевую активность паклитаксела и торемифена на модели перевиваемой HER2-положительной опухоли молочной железы у мышей-самок линии FBV/N.
3. В рамках рандомизированного проспективного клинического исследования оценить результаты неoadьювантной антрациклин – и таксансодержащей химиотерапии в сочетании с метформином или мелатонином у больных местно-распространенным раком молочной железы.
4. В рамках рандомизированного проспективного клинического исследования оценить результаты неoadьювантной гормонотерапии торемифеном в сочетании с метформином или мелатонином у больных местно-распространенным раком молочной железы.

### **Научная новизна работы**

1. Впервые был оценен эффект совместного применения мелатонина и/или метформина с доксорубицином, паклитакселом и торемифеном в эксперименте на моделях перевиваемых опухолей молочной железы.
2. В рамках проспективного рандомизированного клинического исследования в зависимости от биологического подтипа впервые было изучено влияние мелатонина и метформина в комбинации с предоперационной лекарственной терапией (гормонотерапией торемифеном при эстроген-рецептор-позитивных опухолях или

антрациклин – и таксансодержащей химиотерапией) на частоту объективных ответов, степень патоморфологического ответа и уровень пролиферативной активности опухоли.

### **Практическая значимость**

1. Полученные в эксперименте данные свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения комбинаций метформина и мелатонина с системной терапией рака молочной железы в рамках многоцентровых рандомизированных клинических исследований.
2. Добавление метформина к неoadьювантной гормонотерапии торемифеном на протяжении 4-х месяцев снижает пролиферативную активность опухоли – суррогатного маркера улучшения показателей выживаемости больных местно-распространенным люминальным раком молочной железы. Значимая корреляция отмечена между динамикой снижения индекса Ki-67 в опухоли и индексом массы тела больных выше нормы.
3. Добавление мелатонина к неoadьювантной гормонотерапии торемифеном в течении 4-х месяцев повышает частоту объективного ответа у больных местно-распространенным люминальным раком молочной железы.
4. Прием мелатонина во время проведения неoadьювантной антрациклин- и таксансодержащей содержащей химиотерапии у больных местно-распространенным раком молочной железы благоприятно воздействует на качество жизни, включая такие показатели как сон, ролевое функционирование и утомляемость.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Мелатонин на моделях перевиваемых опухолей молочной железы в эксперименте потенцирует эффект доксорубина и паклитаксела.
2. Метформин в эксперименте обладает сравнимым с паклитакселом и торемифеном потенциалом противоопухолевой активности, а также способен усиливать противоопухолевый эффект торемифена.
3. Комбинация метформина с неoadьювантной гормонотерапией торемифеном способствует значимому снижению индекса Ki-67 у больных местно-распространенным люминальным раком молочной

- железы. Отмечается значимая корреляция между динамикой снижения Ki-67 в опухоли и индексом массы тела больных выше нормы.
4. Комбинация мелатонина с неoadъювантной гормонотерапией торемифеном способствует увеличению частоты объективных клинических ответов у больных местно-распространенным люминальным раком молочной железы.
  5. Прием мелатонина во время проведения неoadъювантной антрациклин- и таксансодержащей химиотерапии у больных местно-распространенным раком молочной железы благоприятно воздействует на качество жизни, включая такие показатели как сон, ролевое функционирование и утомляемость.

### **Апробация диссертации**

Апробация диссертации состоялась на объединенной научно-практической конференции ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России с кафедрами онкологии ФГБОУ ВО СЗГМУ «Северо-Западного государственного медицинского университета имени академика И.И. Мечникова» Минздрава России и ФГБОУ ВО «Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова» Минздрава России. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на Российском онкологическом конгрессе (Москва, 2015, 2016); «Конкурсе молодых ученых» (Санкт-Петербург, 2015, 2018); Научном обществе онкологов Санкт-Петербурга (Санкт-Петербург, 2017); III и IV Петербургском онкологическом форуме с международным участием «Белые ночи» (Санкт-Петербург, 2017, 2018).

### **Внедрение результатов работы в практику**

Результаты исследования отражены в научных статьях, внедрены и используются в практической и научно-исследовательской работе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, ГБУЗ Ленинградском областном онкологическом диспансере.

### **Публикации**

По материалам диссертационного исследования опубликовано 8 печатных работ, включая 5 работ в журналах, рецензируемых ВАК.

## Личный вклад автора

Соискатель принимал непосредственное участие на всех этапах проведения экспериментальной и клинической части работы.

## Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 105 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, характеристики материалов и методов исследования, результатов, выводов и практических рекомендаций. Работа содержит 29 таблиц, 16 рисунков. Библиографический указатель включает 18 отечественных и 112 зарубежных источников. Дизайн диссертационного исследования представлен на рисунке 1.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

### Экспериментальная часть

Были проведены 4 опыта на моделях перевиваемых опухолей у 211 мышей: 100 мышей линии SHR весом 22-26 г, 3 мес. возраста (60 самок, 40 самцов) и 111 мышей линии FBV/N весом 22-26 г, 3-4 мес. возраста (42 самца и 69 самок) собственной разводки вивария ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России:

**Опыт №1** «Влияние доксорубицина в сочетании с различными способами введения мелатонина на рост перевиваемой солидной опухоли Эрлиха у самок-мышей SHR» (n=60).

**Опыт №2** «Влияние паклитаксела в сочетании с мелатонином и метформинном на рост перевиваемой опухоли молочной железы HER2 у самок линии FBV/N» (n=69).

**Опыт №3** «Изучение действия торемифена и метформина у мышей FBV/N с HER2-положительным РМЖ» (n=42).

**Опыт №4** «Влияние метформина на острую токсичность доксорубицина и паклитаксела у мышей-самцов линии SHR» (n=40).

Все проведенные исследования с лабораторными животными выполнялись в соответствии с правилами Европейской Конвенции о защите позвоночных животных (СДСЕ № 123) и нормами биоэтики (CIOMS, ICLAS, 2012).

<b>МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b>		
<b>Клинико-экспериментальное обоснование применения мелатонина и метформина в комбинации с системной терапией больных РМЖ</b>		
<b>Экспериментальная часть</b>	<b>Клиническая часть</b>	
<i>Лабораторные животные (n=211)</i>	<i>Больные местно-распространенным РМЖ (n=122)</i>	
<b>Опыт №1</b> «Доксорубицин + мелатонин» (n=60)	<i>Неoadъювантная химиотерапия</i> (n=60)	<i>Неoadъювантная гормонотерапия</i> (n=62)
<b>Опыт №2</b> «Паклитаксел + мелатонин + метформин» (n=69)	<b>Группа №1</b> «Химиотерапия» (n=21)	<b>Группа №1</b> «Торемифен» (n=21)
<b>Опыт №3</b> «Торемифен + метформин» (n=42)	<b>Группа №2</b> «Химиотерапия + мелатонин» (n=22)	<b>Группа №2</b> «Торемифен + мелатонин» (n=20)
<b>Опыт №4</b> «Токсичность метформина» (n=40)	<b>Группа №3</b> «Химиотерапия + метформин» (n=17)	<b>Группа №3</b> «Торемифен + метформин» (n=21)

**Рисунок 1** – Дизайн исследования.



Мышам подкожно в правый бок перевивалась опухолевая взвесь. Далее животные рандомизировались в различные группы лечения (от 4-х до 7-ми групп).

Эффективность терапии в опытах № 1-3 оценивали по торможению роста опухоли ( $(V_k - V_0) / V_k \times 100\%$ ), а также по площади под кинетической кривой роста опухоли ( $(S_3 / S_K) \times 100\%$  (ККРО) и индексу роста опухоли (ИРО). Токсичность в опыте №4 оценивалась по продолжительности жизни мышей и по убыли веса животных.

### Клиническая часть

Проведены два рандомизированных клинических исследования с участием 122 больных местно-распространенным РМЖ, получавших лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. проф. Н.Н. Петрова» Минздрава России с 2015 по 2017 гг:

- **Рандомизированное клиническое исследование № 1** «Влияние мелатонина и метформина на эффективность неoadъювантной антрациклин- и таксансодержащей химиотерапии больных РМЖ» ( $n=60$ ).
- **Рандомизированное клиническое исследование № 2** «Влияние мелатонина и метформина на эффективность неoadъювантной гормонотерапии торемифеном больных эстроген-рецептор-позитивным РМЖ (ЭР+ РМЖ)» ( $n=62$ ).

Все больные до включения в исследование подписывали информированное согласие в двух экземплярах на основе ознакомления. В исследования включались больные без сахарного диабета в анамнезе. Рандомизация выполнялась 1:1:1 при помощи компьютерной программы (рисунок 1).

Группы больных были сопоставимы по основным клинико-патоморфологическим характеристикам (таблица 1).

Основным режимом неoadъювантной химиотерапии (НХТ) был режим «4 цикла АС и 12 еженедельных введений паклитаксела».

Мелатонин назначался в дозе 3 мг внутрь ежедневно на ночь. Метформин в дозе 850 мг 2 раза в день внутрь ежедневно.

Группы больных, получавших гормонотерапию были сопоставимы по основным клинико-патоморфологическим характеристикам (таблица 2). Торемифен (ТОР) назначался в дозе 120 мг внутрь ежедневно. Длительность терапии торемифеном во всех группах составляла 4 месяца.

**Таблица 1** – Общая характеристика больных местно-распространенным РМЖ до начала неоадьювантной химиотерапии

Показатели	Общая группа (n=60)		Группа № 1 НХТ (n=21)		Группа № 2 НХТ+МЛТ (n=22)		Группа № 3 НХТ+МТФ (n=17)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Медиана возраста, колебания (годы)	56,0 (45,5-67,5)		60,5 (45,5-67,5)		52,0 (46,0-62,8)		56,0 (47,0-60,0)	
Критерии	n	%	n	%	n	%	n	%
Люминальный А	20	33	8	38	8	36	4	23
Люминальный В	21	35	6	28	7	32	8	47
HER2-позитивный	15	25	5	24	6	27	4	23
Трижды негативный	4	7	2	10	1	5	1	7
Метастазы в аксиллярных Л/У	44	73	17	81	15	68	12	70
Менопауза	34	56	15	71	13	59	6	35
Нормальный ИМТ	27	45	8	38	11	50	8	47
ИМТ выше нормы	33	55	13	62	11	50	9	53

**Таблица 2** – Общая характеристика больных местно-распространенным неспецифицированным ЭР+РМЖ до начала неоадьювантной гормонотерапии торемифеном

Показатели	Общая группа (n=62)		Группа № 1 ТОР (n=21)		Группа № 2 ТОР+МЛТ (n=20)		Группа № 3 ТОР+МТФ (n=21)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Медиана возраста, колебания (годы)	68 (58,0-72,0)		68 (62-72)		68 (60,3-70,3)		68 (58,0-70,0)	
Критерии	n	%	n	%	n	%	n	%
Люминальный А	45	73	16	76	13	65	16	76
Люминальный В	17	27	5	24	7	35	5	24
Метастазы в аксиллярных Л/У	47	76	17	81	16	80	14	67
Менопауза	62	100	21	100	20	100	21	100
Нормальный ИМТ	19	31	8	38	7	35	5	24
Повышенный ИМТ	43	69	13	62	13	65	16	76

На этапе скрининга больным выполнялась трепан биопсия опухоли с последующим гистологическим и ИГХ исследованием (экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестерону, экспрессии HER2; индекса пролиферативной активности Ki-67) и пункционная биопсия аксиллярных ЛУ при подозрении на их метастатическое поражение. Выполнялась оценка патоморфологического ответа в опухоли и ЛУ (pCR). Патоморфологическая оценка опухоли проводилась согласно критериям классификации ВОЗ (2012).

Перед началом лечения и в динамике всем больным выполнялись УЗИ молочных желез с соноэластографией, маммография с оценкой по шкале BI-RADS, позитивная скintiграфия молочных желез и зон регионарного лимфооттока, остеоскintiграфия, компьютерная томография органов грудной, брюшной полостей и малого таза с контрастированием. Оценка объективного ответа (полный + частичный регресс опухолевых очагов) проводилась каждые 2 цикла для химиотерапии или 2 месяца для гормонотерапии согласно критериям RECIST 1.1.

Больные на этапе неoadьювантной лекарственной терапии находились под динамическим наблюдением эндокринолога. Выполнялись осмотры перед началом терапии и далее каждые 2 цикла или 2 месяца на фоне лечения с обязательным забором крови для определения уровня глюкозы и инсулина.

После неoadьювантной лекарственной терапии всем больным было выполнено хирургическое вмешательство с последующим гистологическим и ИГХ исследованиями. Решение вопроса о дальнейшей тактике адьювантного лечения больных местно-распространенным РМЖ зависело от результатов патоморфологического заключения и от ИГХ фенотипа резидуального РМЖ.

Аналізу ефективності були доступні свідчення 107 із 122 включених хворих РМЖ; 53 із 60 хворих із дослідження № 1 і 54 із 62 хворих із дослідження №2.

Все больные заполняли опросники по качеству жизни (КЖ) EORTC QLQ-C30 перед началом лечения, затем каждые 2 цикла химиотерапии или каждые 2 месяца гормонотерапии. Анкета включала 30 вопросов и состояла из ряда шкал: 5 функциональных шкал – физическое функционирование (PF), ролевое функционирование (RF), эмоциональное функционирование (EF), когнитивное функционирование (CF), социальное функционирование (SF); 3 шкалы симптоматики – утомляемость (FA), тошнота/рвота (NV) и

боль (PA); 6 одиночных пунктов – одышка (DY), нарушение сна (SL), потеря аппетита (AP), запоры (CO), диарея (DI), финансовые затруднения (FI).

### **Статистическая обработка данных**

Анализ данных проводился с помощью статистической программы SPSS 17.0 (SPSS Corp, TX, USA). Проверка распределения изучаемых количественных данных проводилась путем построения гистограмм распределения и с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для унификации представления количественных данных использовались медиана и квартили, а для графического представления – квартильные диаграммы. Для представления качественных данных использовались частоты в процентном выражении. Для сравнения количественных данных независимых групп использовались критерии Краскела-Уоллиса и Манна-Уитни, для сравнений по типу «до-после» использовался парный критерий Вилкоксона. Для сравнения качественных данных использовался критерий  $\chi^2$  Пирсона с поправкой Йейтса и точный критерий Фишера. Для устранения влияния на результаты исследования «конфаундинг-эффекта» был использован метод бинарной логистической регрессии.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕОВАНИЙ**

### **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ**

#### ***Опыт № 1***

*«Влияние доксорубицина в сочетании с различными способами введения мелатонина на рост перевиваемой солидной опухоли Эрлиха у самок-мышей SHR» (n=60)*

Показано усиление противоопухолевого эффекта доксорубицина (ДР) при добавлении МЛТ, как в подкожных инъекциях, так и с питьевой водой. Зарегистрировано значимое снижение индекса роста опухоли (ИРО) по сравнению с контрольной группой, которое в группе «МЛТ подкожно» составило 79%, в группах комбинации «ДР+МЛТ подкожно» и «ДР+МЛТ внутрь» – 52,3% и 49,8% соответственно. В таблице 3 представлены результаты эксперимента.

**Таблица 3** – Индекс роста опухоли (ИРО) в группах мышей, %

Воздействие	Площадь под ККРО, см <sup>3</sup>	ИРО, %
«Контрольная группа»	114,1±18,9	–
«МЛТ подкожно»	90,5±26,2	79,0%*
«МЛТ внутрь»	101,2±30,0	88,0%
«ДР»	122,4±28,9	106,4%
«ДР+МЛТ подкожно»	60,1±18,6	52,3%**
«ДР+МЛТ внутрь»	57,2±22,5	49,8%**
Примечание *– p<0,05; ** p<0,001 (по сравнению с контролем).		

### **Опыт № 2**

*«Влияние паклитаксела в сочетании с мелатонином и метформинном на рост перевиваемой HER2-положительной опухоли молочной железы у самок линии FBV/N» (n=69)*

Выявлено, что МЛТ усиливает эффект паклитаксела, а МТФ обладает сопоставимым противоопухолевым потенциалом с паклитакселом в отношении перевиваемой HER-2 положительной опухоли у самок мышей линии FBV/N. В группах монотерапии ИРО «МТФ» и «Паклитаксел» составил 67,4% и 65,1% соответственно; в группах комбинаций «Паклитаксел+МЛТ», «Паклитаксел+МТФ» и «Паклитаксел+МЛТ+МТФ» – 44,7%, 61% и 56,7% соответственно. Результаты опыта представлены в таблице 4.

**Таблица 4** – Индекс роста опухоли в группах мышей, %

Группы	Площадь под ККРО, см <sup>3</sup>	ИРО, %
«Контрольная группа»	221,4±33,3	–
«МЛТ»	230,7±38,1	104,0%
«МТФ»	149,3±32,6	67,4%*
«Паклитаксел»	144,3±33,9	65,1%*
«Паклитаксел + МЛТ»	99,1±17,4	44,7%**
«Паклитаксел + МТФ»	135,2±18,7	61,0%**
«Паклитаксел + МЛТ+ МТФ»	125,6±27,7	56,7%**
Примечание – * – p<0,05; ** – p<0,001.		

### **Опыт № 3**

*«Изучение действия торемифена и метформина у мышей FBV/N с HER2-положительным РМЖ» (n=42)*

Добавление МТФ к торемифену (ТОР) способствовало усилению противоопухолевого действия и приводило к статистически значимому торможению роста опухоли на протяжении всех дней эксперимента: в день 12 ( $p < 0,0001$ ), в день 15 ( $p = 0,0009$ ), день 18 ( $p = 0,0142$ ), в день 20 ( $p = 0,0495$ ) и в день 23 ( $p = 0,0064$ ); а также сопровождалось снижением ИРО (32%).

В группах монотерапии «ТОР» и «МТФ» значения торможения роста опухоли были статистически не значимы (59% и 66% соответственно). Результаты эксперимента представлены в таблице 5.

**Таблица 5** – Индекс роста опухоли (ИРО) у мышей по группам

Группы	Площадь под ККРО, мм <sup>3</sup>	ИРО, в %
«Контрольная группа»	3932± 896	100%
«ТОР»	2388 ±105	59%
«МТФ»	2612±570	66%
«ТОР + МТФ»	1268±292	32% *
Примечание * – $p < 0,05$		

### **Опыт № 4**

*«Влияние метформина на острую токсичность доксорубицина и паклитаксела у мышей-самцов линии SHR» (n=40)*

Не получено статистически значимых различий ни по продолжительности жизни, ни по снижению массы тела между группами животных, получивших цитостатики в монорежиме или в комбинации с МТФ. Не установлено статистически достоверных различий в уровне глюкозы у контрольных животных, получавших доксорубицин, метформин и их комбинацию. Результаты эксперимента представлены в таблице 6.

**Таблица 6** – Влияние метформина на острую токсичность доксорубицина и паклитаксела у мышей – самцов линии SHR

Группа	Летальность, %	Масса тела, %
«ДР»	60,0+4,9	86,6+45,0
«ДР+МТФ»	80,0+4,0 $p > 0,1$	78,8+40,9 $p > 0,1$
«Паклитаксел»	10,0+9,5	86,6+45,0
«Паклитаксел+ МТФ»	10,0+9,5 $p > 0,1$	78,8+40,9 $p > 0,1$

## КЛИНИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

### *Рандомизированное клиническое исследование № 1*

*«Влияние мелатонина и метформина на эффективность неоадъювантной антрациклин- и таксансодержащей химиотерапии больных РМЖ» (n=53)*

Первичным критерием эффективности НХТ у больных местно-распространенным РМЖ являлась оценка патоморфологического ответа в опухоли и лимфатических узлах (pCR), основными вторичными критериями – объективный клинический ответ, качество жизни и т.д.

Согласно результатам многомерного анализа, было установлено, что добавление к стандартной химиотерапии МЛТ или МТФ не влияет на достижение pCR. Частота достижения pCR в группа «НХТ», «НХТ+МЛТ» и «НХТ+МТФ» составила 25%, 14,2% и 16,6% соответственно. Учитывая, что МЛТ в эксперименте на мышах потенцирует противоопухолевый эффект химиотерапии, необходимо продолжить изучение МЛТ в комбинации с химиотерапией, но уже в рамках многоцентрового рандомизированного исследования. Результаты многомерного анализа представлены в таблице 7.

**Таблица 7** – Оценка эффективности химиотерапии по результатам однофакторного и многофакторного бинарного регрессионного анализа (критерий эффективности – достижение pCR)

Показатель	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ*		
	ОШ <sub>нескорр.</sub>	95% ДИ	p	ОШ <sub>скорр.</sub>	95% ДИ	p
Терапия						
«НХТ»	Референтная группа					
«НХТ+МЛТ»	0,529	0,108-2,598	0,433	0,482	0,083-2,792	0,416
«НХТ+МТФ»	0,583	0,097-3,720	0,600	0,602	0,085-4,284	0,612
Примечание* – в модель были включены следующие предикторы: вариант проведения химиотерапии, возраст пациентов, биологический подтип опухоли.						

Частота объективного клинического ответа в исследуемых группах была высокой и статически достоверно не различалась (в группе «НХТ»

составила 85%, в группе «НХТ+МЛТ» - 85,7% и в группе «НХТ+МТФ» – 75%).

При оценке КЖ были выявлены различия в динамике значений по шкалам между 3-мя данными группами в отношении шкал ролевого функционирования (RF), утомляемости (FA) и сна (SL). Парные сравнения групп пациентов продемонстрировали, что в группе пациентов, получавших «НХТ+МЛТ», в отличие от группы пациентов, получавших только химиотерапию, показатели по шкалам RF, FA и SL не снижались ( $p=0,008$ ,  $p=0,004$ ,  $p=0,014$  соответственно).

### ***Рандомизированное клиническое исследование № 2***

*«Влияние мелатонина и метформина на эффективность неoadъювантной гормонотерапии торемифеном больных ЭР+ РМЖ» (n=54)*

Первичным критерием эффективности неoadъювантной гормонотерапии у больных местно-распространенным РМЖ была динамика снижения индекса пролиферации Ki-67 (до начала и после завершения гормонотерапии), основными вторичными критериями - объективный клинический ответ, КЖ и т.д.

В однофакторной модели 3 варианта гормональной терапии не продемонстрировали статистически значимого влияния на снижение индекса Ki-67. Корректировка модели непрерывной переменной (возрастом пациентов) позволила выявить статистически значимое снижение индекса пролиферативной активности в опухоли в группе «ТОР+МТФ»: шансы снижения индекса Ki-67 в опухоли были в 4,2 раза выше (95% ДИ 1,04-17,1) по сравнению с использованием только гормонотерапии ТОР (таблица 8).

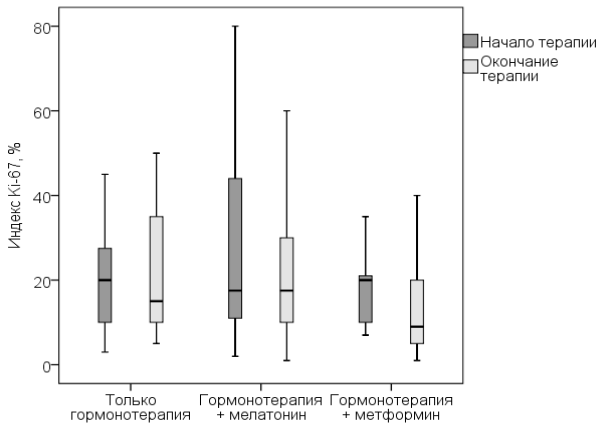
**Таблица 8** – Оценка эффективности гормональной терапии по результатам однофакторного и многофакторного бинарного регрессионного анализа

Показатель	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ*		
	ОШ <sub>нескорр.</sub>	95% ДИ	p	ОШ <sub>скорр.</sub>	95% ДИ	p
Терапия						
«ТОР»	Референтная группа					
«ТОР+МЛТ»	3,025	0,749-12,210	0,120	3,137	0,763-12,892	0,113
«ТОР+МТФ»	3,850	0,980-15,124	0,053	4,230	1,044-17,139	0,043



Примечание\* – в модель были включены следующие предикторы: вариант проведения гормонотерапии, возраст пациента.

Медиана индекса Ki-67 в группе «торемифен» до лечения составила 20,0% (10,0; 30,0) / после 15,0% (10,0; 36,5); в группе «ТОР+МЛТ» до 17,5% (10,5; 47,0) / после 17,5% (8,7; 35,0); в группе «ТОР+МТФ» до 20,0% (10,0; 22,0) / после 9,0% (5,0; 20,0). Квартильные диаграммы динамики индекса Ki 67 представлены на рисунке 2.



**Рисунок 2** – Квартильные диаграммы (медиана, первый и третий квартили) динамики индекса Ki-67 в группах больных ЭР+РМЖ.

У больных группы «ТОР+МТФ» показана корреляция между снижением индекса Ki-67 в опухоли и индексом массы тела (ИМТ) выше нормы (коэффициент Спирмена,  $p=0,015$ ).

Попарное сравнение групп пациентов выявило статистически значимое влияние на частоту объективного ответа добавление МЛТ к гормонотерапии торемифеном. Частота объективного клинического ответа в группе «ТОР» составила 31,6%, в группе «ТОР+МЛТ» - 86,7% ( $\chi^2=10,32$ ,  $p<0,001$ ), а в группе «ТОР+МТФ» - 47,3% ( $\chi^2=1,30$ ,  $p=0,254$ ).

В исследуемых группах статистически значимых различий в динамике показателей КЖ выявлено не было.

## ВЫВОДЫ

1. Мелатонин потенцирует противоопухолевый эффект доксорубицина на модели перевиваемой солидной опухоли Эрлиха у мышей – самок линии SHR. Индекс роста опухоли равнялся 106,4% в группе мышей, получавших доксорубицин в монорежиме, в то время как при добавлении к доксорубицину мелатонина в подкожных инъекциях и внутрь индекс роста опухоли составил 52,3% ( $p < 0,001$ ) и 49,8% ( $p < 0,001$ ) соответственно.
2. Учитывая, что мелатонин в эксперименте на мышах потенцирует противоопухолевый эффект химиотерапии, необходимо продолжить изучение препарата в комбинации с химиотерапией, но уже в рамках многоцентрового рандомизированного исследования.
3. На модели перевиваемой HER2-положительной опухоли молочной железы у мышей – самок линии FBV/N установлена противоопухолевая эффективность паклитаксела и метформина, а также комбинаций паклитаксела с мелатонином и метформином по сравнению с контролем. Индекс роста опухоли при назначении метформина в монорежиме равнялся 67,4% ( $p < 0,05$ ), что сопоставимо с действием монокимиотерапии паклитакселом (65,1%).
4. Метформин усиливает противоопухолевое действие торемифена на модели HER2-положительного рака молочной железы у самцов мышей линии FBV/N по сравнению с контролем (индекс роста опухоли составил 32%,  $p < 0,05$ ).
5. Прием мелатонина больными местно-распространенным раком молочной железы на фоне проведения неoadъювантной антрациклин – и таксансодержащей химиотерапии благоприятно воздействует на качество жизни, в соответствии со шкалами сна ( $p = 0,014$ ), ролевого функционирования ( $p = 0,008$ ) и утомляемости ( $p = 0,004$ ).
6. Многофакторный анализ показал, что использование метформина в сочетании с неoadъювантной гормонотерапией торемифеном оказывает статистически значимое влияние на динамику индекса Ki-67 (шансы снижения Ki-67 были в 4,2 раза выше по сравнению с гормонотерапией торемифеном [95% ДИ, 1,04-17,1,  $p = 0,043$ ]). Выявлена значимая корреляция между динамикой снижения индекса Ki-67 в опухоли и индексом массы тела выше нормы ( $p = 0,015$ ).
7. Применение мелатонина в сочетании с неoadъювантной гормонотерапией торемифеном позволяет статистически значимо повысить частоту объективных клинических ответов по сравнению с гормонотерапией торемифеном у больных местно-распространенным

люминальным раком молочной железы (87% против 32% соответственно,  $p < 0,001$ ).

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Добавление метформина (в дозе 850 мг два раза в день) к неoadъювантной гормонотерапии торемифеном (в дозе 120 мг в день) на протяжении 4-х месяцев снижает пролиферативную активность опухоли – суррогатного маркера улучшения показателей выживаемости больных местно-распространенным люминальным раком молочной железы. Выявлена значимая корреляция между динамикой снижения индекса Ki-67 в опухоли и индексом массы тела больного выше нормы.
2. В эксперименте мелатонин потенцирует эффект доксорубина и паклитаксела, что свидетельствует о перспективе его применения в комбинации с химиотерапией у больных раком молочной железы.
3. Прием мелатонина (в дозе 3 мг на ночь ежедневно) во время проведения неoadъювантной антрациклин – и таксансодержащей химиотерапии у больных местно-распространенным раком молочной железы благоприятно воздействует на качество жизни, включая такие показатели как сон, ролевое функционирование и утомляемость.
4. Мелатонин (в дозе 3 мг на ночь ежедневно) в сочетании с неoadъювантной гормонотерапией (торемифен 120 мг в день ежедневно) увеличивает частоту объективных клинических ответов опухоли и последующего выполнения хирургического лечения местно-распространенного рака молочной железы.

### **СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Анисимов, В.Н. Перспективы применения антидиабетических бигуанидов для профилактики и лечения рака: результаты доклинических исследований В.Н. Анисимов, И.Г. Попович, П.А. Егормин, М.Л. Тындык, М.Н. Юрова, М.А. Осипов // *Вопр. Онкологии.* – 2016. – Т. 62, № 2. – С. 234-245.
2. Осипов, М.А. Мелатонин усиливает противоопухолевый эффект доксорубина на модели перевиваемой опухоли Эрлиха у самок мышей SHR / М.А. Осипов, В.Н. Анисимов, И.Г. Попович,

- Т.Ю. Семиглазова // *Вопр. Онкологии.* – 2016. – Т. 62, № 1. – С. 146-149.
3. Семиглазова, Т.Ю. Перспективы использования мелатонина в клинической онкологии / Т.Ю. Семиглазова, М.А. Осипов, А.В. Новик, В.В. Клименко, В.Н. Анисимов // *Злокачественные опухоли.* – 2016. – № 4. – С. 21-29.
  4. Осипов, М.А. Влияние метформина, мелатонина и их комбинаций с паклитакселом на рост перевиваемой HER 2 положительной опухоли молочной железы у самок мышей FBV/N / М.А. Осипов, Т.Ю. Семиглазова, И.Г. Попович, А.В. Панченко, М.Л. Тындык, М.А. Забежинский, В.В. Клименко, А.Н. Стуков, В.Н. Анисимов // *Вопросы онкологии.* – 2017. – Т. 63, № 4. – С. 650-654.
  5. Осипов, М.А. Метформин в лечении рака молочной железы / М.А. Осипов, Т.Ю. Семиглазова, П.В. Криворотько, В.В. Клименко, В.А. Косторов, В.В. Семиглазов, Е.В. Цырлина, И.Г. Попович, В.Н. Анисимов, В.Ф. Семиглазов, Л.М. Берштейн // *Злокачественные опухоли.* – 2017. – № 2. – С. 76-82.
  6. Осипов, М.А. Оценка влияния метформина на острую токсичность паклитаксела, доксорубина и цисплатина у мышей – самцов линии SHR / М.А. Осипов, А.Н. Стуков, Т.Ю. Семиглазова, В.В. Клименко, М.Л. Тындык, В.Н. Анисимов // *Материалы Петербургского онкологического форума Белые Ночи.* – СПб, 2017. – С. 80.
  7. Осипов, М.А. Оценка влияния разных доз и схем введения доксорубина в сочетании с МЛТ на модели перевиваемой опухоли Эрлиха у самок мышей SHR / М.А. Осипов, И.Г. Попович, А.В. Панченко, М.Л. Тындык, М.А. Забежинский, Т.Ю. Семиглазова, В.Н. Анисимов // *Злокачественные опухоли.* – 2014. – № 3. – С. 285.
  8. Осипов, М.А. Оценка эффективности паклитаксела, метформина и мелатонина и их комбинаций на рост перевиваемой HER 2 – положительной опухоли молочной железы у трансгенных мышей – самок линии FVB/N / М.А. Осипов, Т.Ю. Семиглазова, И.Г. Попович, А.В. Панченко, М.Л. Тындык, М.А. Забежинский, А.Н. Стуков, В.Н. Анисимов // *Злокачественные опухоли.* – 2016. – № 4 (s) – С. 324.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

<b>ДР</b>	– доксорубицин
<b>ИРО</b>	– индекс роста опухоли
<b>КЖ</b>	– качество жизни
<b>ККРО</b>	– кинетическая кривая роста опухоли
<b>Л/У</b>	– лимфатические узлы
<b>МЛТ</b>	– мелатонин
<b>МТФ</b>	– метформин
<b>НХТ</b>	– неoadъювантная химиотерапия
<b>РМЖ</b>	– рак молочной железы
<b>ПР</b>	– рецепторы прогестерона
<b>ТОР</b>	– торемифен
<b>ЭР</b>	– рецепторы эстрогенов
<b>mTOR</b>	– мишень рапамицина у млекопитающих
<b>pCR</b>	– полный патоморфологический ответ