

**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Российский национальный исследовательский
медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства
здравоохранения Российской Федерации**

На правах рукописи

КРУМИНЬ ЮЛИЯ СЕРГЕЕВНА

**КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ИЗМЕНЕНИЯ РЕЦЕПТОРНОГО
СТАТУСА В РЕЦИДИВНЫХ И МЕТАСТАТИЧЕСКИХ ОПУХОЛЯХ У
БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

14.01.12 – Онкология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Хайленко Виктор Алексеевич

кандидат медицинских наук

Козлов Николай Александрович

Москва - 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
Глава 1. РОЛЬ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 Понятие о внутриопухолевой гетерогенности	13
1.2 Рецепторный статус опухоли.....	14
1.3 Феномен лекарственной устойчивости РМЖ	24
1.4 Заключение	25
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	27
2.1 Общая характеристика клинических случаев и иммуноморфологиче- ских параметров РМЖ	27
2.2 Режимы лечения	35
2.3 Методы обработки гистологического материала	41
2.4 Иммуногистохимический анализ опухолевой ткани.....	42
2.5 Статистическая обработка данных.....	43
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СРАВНИТЕЛЬНОЕ СУРРОГАТНОЕ ТИПИРОВАНИЕ ПЕРВИЧНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ЕГО СИНХРОННЫХ РЕГИОНАРНЫХ МЕТАСТАЗОВ	45
3.1 Результаты сравнительного суррогатного типирования первичного рака молочной железы в биопсийном и операционном материале	45
3.1.1 Сравнительный анализ экспрессии ER и PR первичной опухолью в биопсийном и операционном материале у больных без НАТ	45
3.1.2 Сравнительный анализ экспрессии Her2/neu первичной опухолью в биопсийном и операционном материале у больных без НАТ	49
3.1.3 Сравнительный анализ пролиферативной активности первичной опухоли в биопсийном и операционном материале у больных без НАХТ	51
Заключение	52
3.2 Результаты суррогатного типирования регионарных метастазов в операционном материале у больных без НАТ	57

3.2.1 Сравнительный анализ экспрессии ER и PR в первичной опухоли и регионарном метастазе у больных без НАТ.....	57
3.2.2 Сравнительный анализ экспрессии Her2/neu и пролиферативной активности в первичной опухоли и регионарных метастазах в группе больных без НАТ	60
Заключение	61
3.3 Результаты суррогатного типирования резидуальной опухоли после НАТ	63
3.3.1 Анализ молекулярно-биологических характеристик первичной опухоли в кор-биопсии у больных группы НАТ.....	63
3.3.2 Сравнительная оценка экспрессии ER и PR резидуальной первичной опухоли в группе больных после НАТ	66
3.3.3 Сравнительная оценка экспрессии Her2/neu резидуальной опухоли у больных группы НАТ	67
3.3.4 Сравнительная оценка уровня пролиферативной активности резидуальной опухоли у больных группы НАТ	68
Заключение	71
3.4 Результаты суррогатного типирования регионарных метастазов в операционном материале в группе с НАТ	72
3.4.1 Сравнительный анализ экспрессии ER и PR в первичной опухоли и регионарном метастазе в группе с НАТ	72
3.4.2 Сравнительный анализ экспрессии Her2/neu и пролиферативной активности в первичной опухоли и регионарных метастазах в группе с НАТ ..	75
Заключение	77
3.5 Анализ выживаемости с различными суррогатными подтипами РМЖ (кор-биопсия, операционный материал).....	77
Глава 4. СРАВНИТЕЛЬНОЕ СУРРОГАТНОЕ ТИПИРОВАНИЕ МЕТАХРОННЫХ РЕЦИДИВНЫХ И МЕТАСТАТИЧЕСКИХ ОЧАГОВ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ.....	82
4.1. Результаты суррогатного типирования рецидивных и метакхронных	

метастазов рака молочной железы	82
4.2 Сравнительное типирование метакронных очагов люминального А типа рака молочной железы	89
4.3 Сравнительное типирование метакронных очагов люминального В-Her2-негативного типа рака молочной железы.....	92
4.4 Сравнительное типирование метакронных очагов люминального В-Her2-позитивного типа рака молочной железы	95
4.5 Сравнительное типирование метакронных очагов Her2-позитивного рака молочной железы	98
4.6 Сравнительное типирование метакронных очагов тройного негативного рака молочной железы	98
Заключение	100
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	101
ВЫВОДЫ	105
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	107
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	108
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	109

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Рак молочной железы (РМЖ) занимает лидирующее место в онкологической заболеваемости среди женщин [19]. Согласно данным GLOBOCAN (совместного проекта ВОЗ и Международного агентства по исследованию рака (IARC)) в 2018 г. в мире было зарегистрировано 1,7 млн. больных РМЖ [53]. В структуре мировой заболеваемости РМЖ составляет 25,8 % от всех злокачественных опухолей и стабильно занимает первое место в мировой смертности 14,8% от онкопатологии у женщин [53].

Заболеваемость продолжает расти во всех странах, за исключением стран с высоким доходом. Смертность, напротив, снижается в странах с высоким доходом, но повышается в странах с низким и средним доходом [63].

Различия в уровне смертности между регионами мира (от 6 на 100 тыс. в Восточной Азии до 20 на 100 тыс. в Западной Африке) не так велики, как в показателях заболеваемости, из-за значительно более высокой выживаемости при РМЖ в развитых регионах, обеспечиваемой более широким доступом к средствам ранней диагностики (маммографии) и лечения. Различия в заболеваемости между странами, в которых проводятся программы маммографического обследования, и теми, в которых такие программы не проводятся, также обусловлены диагностикой, проведенной в целях выявления злокачественных новообразований в молочных железах у женщин без симптомов заболевания. В целом, в слаборазвитых регионах значительно большая часть женского населения, страдающих РМЖ, умирает от этой болезни [63].

При этом в России в 2018 г. впервые выявлено 71 тыс. больных РМЖ (21,1% от всех злокачественных опухолей) из них 26,5% имели I стадию заболевания, 44,7% приходилось на II стадию заболевания, 20,6% больных имели III стадию, 7,8% больных – IV стадия. Заболеваемость РМЖ составила 51,95 на 100 тыс. женского населения, летальность больных составила 22 098 больных (16,4% от всех смертей от злокачественных новообразований), показатель смертности составил 14,24 на 100 000 населения [7].

Прирост данного показателя по сравнению с 2017 г. составил 1,1%. «Грубый» показатель заболеваемости злокачественными новообразованиями на 100000 населения России составил 471,6 в 2018 г., что на 1,1% выше уровня 2017 г. и на 14,3 % выше уровня 2008 г. [7].

Нужно отметить, что основной объем контингента больных формируется из пациентов со злокачественными новообразованиями молочной железы (18,4%) [7]. Среди больных, наблюдавшихся 5 лет и более, больший удельный вес составляют пациенты с РМЖ (20,4%) (Таблица 1).

Таблица 1 - Распространённость злокачественных новообразований в России в 2014–2018 гг. (численность больных на 100 000 населения) [7]

	2014	2015	2016	2017	2018
Все злокачественные новообразования	2252,4	2325,2	2399,1	2472,4	2562,1
Молочная железа	410,3	425,5	438,2	456,0	471,5

В связи с вышеизложенным РМЖ является наиболее актуальной онкологической проблемой.

Активная исследовательская работа по всему миру позволила достигнуть серьезных успехов в диагностике и лечении данного заболевания [26; 47; 55]. Тем не менее, имеется ряд важных аспектов, касающихся особенностей клинического течения заболевания, обусловленных характером роста опухоли и развитием различных вариантов прогрессии, которые, безусловно, требуют дальнейшего изучения.

Известно, что опухоли, имеющие одинаковую стадию по классификации TNM, зачастую радикально отличаются по агрессивности течения и чувствительности к проводимой лекарственной терапии [59; 64; 97; 119].

Для РМЖ, как и для большинства злокачественных новообразований, характерна генетическая неоднородность опухоли (внутриопухолевая гетерогенность), лежащая в основе различной способности отдельных групп

опухолевых клеток (опухолевых субклонов) к инвазии, метастазированию и формированию лекарственной устойчивости [25; 33; 39]. Изучение различных форм проявления внутриопухолевой гетерогенности и особенностей ее взаимосвязи с клиническим течением злокачественных новообразований и ответом на проводимое лечение является важнейшей задачей современной онкологии [43; 45].

Значимое место в лечении РМЖ отведено лекарственной терапии, выбор которой основан на определении суррогатного подтипа опухоли.

Степень разработанности темы исследования

Типирование опухоли в практической онкологии основано на упрощенной суррогатной модели молекулярно-генетической классификации РМЖ, выделяющей следующие биологические подтипы РМЖ: люминальный А, люминальный В Her2-позитивный, люминальный В Her2- негативный, тройной негативный, Her2-положительный подтип. Определение молекулярного подтипа РМЖ прежде всего касается оценки прогноза заболевания и назначения гормонотерапии и химиотерапии.

Системная терапия больных РМЖ в основном направлена на борьбу с метастатическими очагами опухолевого роста, однако, в существующей рутинной практике биопсия рецидивного (рецРМЖ) или метастатического РМЖ (метРМЖ) выполняется с единственной целью - верифицировать диагноз. При этом оценка рецепторного статуса и индекса пролиферации метастатической опухоли при уже известном молекулярном подтипе первичного очага зачастую не выполняется. Несмотря на изначально доминировавшую концепцию о неизменных молекулярно-биологических параметрах РМЖ на протяжении всего периода течения заболевания, имеющиеся на сегодняшний день результаты многочисленных исследований говорят об обратном.

Цель исследования

Оптимизировать тактику лечения больных первичным и метастатическим РМЖ с помощью выявления клинически значимых изменений экспрессии иммуногистохимических (ИГХ) маркеров (ER, PR, Her2/neu, Ki67).

Задачи исследования

1. Провести сравнительный анализ уровней иммуногистохимической экспрессии рецепторов эстрогена (ER), рецепторов прогестерона (PR), рецептора эпидермального фактора роста 2 типа (Her2/neu) и индекса Ki-67 в первичной опухоли в парах «кор-биопсия - операционный материал» без неoadъювантной терапии (НАТ) и после НАТ.

2. Изучить уровень иммуногистохимической экспрессии ER, PR, Her2/neu и индекс Ki-67 в парах «первичная опухоль – регионарный метастаз» на операционном материале.

3. Сравнить уровень иммуногистохимической экспрессии ER, PR, Her2/neu и индекс Ki-67 в парах «первичная опухоль – местный рецидив» на операционном материале.

4. Проанализировать уровень иммуногистохимической экспрессии ER, PR, Her2/neu и индекс Ki-67 в парах «первичная опухоль – отдаленный метастаз» на операционном материале.

5. Определить прогностическую ценность суррогатного типирования РМЖ в кор-биоптате и операционном материале.

6. Оценить взаимосвязь прогноза заболевания с суррогатным подтипом опухоли.

Научная новизна

На основании проведенного исследования показана необходимость повторного определения молекулярного подтипа опухоли в регионарных и отдаленных метастазах, рецидивных очагах для индивидуализации лекарственной терапии и улучшения результатов лечения у больных РМЖ.

Теоретическая и практическая значимость

Получены новые данные о динамической изменчивости молекулярно-биологических параметров метастатических и рецидивных опухолевых очагов, использование которых в практической онкологии позволит улучшить качество лечения и выживаемость больных РМЖ за счет индивидуализации и активной коррекции лекарственной терапии.

Методы и методология исследования

В настоящее ретроспективное исследование было включено 170 больных, находившихся на обследовании и лечении в «ФГБУ НМИЦ онкологии имени Н. Н. Блохина» Минздрава России в период с 2010 по 2020 гг.

Оценка стадии заболевания проводилась по TNM-классификации 8-го пересмотра (AJCC/UICC).

Для оценки влияния проведенного неoadьювантного лечения на изменчивость экспрессии рецепторов в опухоли 170 случаев операционного материала были разделены на группы сравнения: группа 1 (только операция) - 119 пациенток, перенесших операцию без неoadьювантной терапии, группа 2 (операция+НАТ) - 51 пациенток, перенесших операцию после неoadьювантной терапии. Вырезка и микроскопическое описание операционного материала проводились в соответствии с рекомендациями Колледжа американских патологоанатомов/CAP (2009 г.). Фиксация и проводка кусочков ткани выполнялась с использованием автоматических систем обработки тканей (Shandon Citadel, Leica).

Оценка лечебного патоморфоза была проведена по шкале Residual Cancer Burden (классы RCB) с применением онлайн-калькулятора. С парафиновых блоков с тканевыми образцами, изготовленных по стандартной методике на микротоме, изготавливались срезы толщиной 2-4 мкм. После проведения демаскировки антигенов и промывки стекол, выполнялось их окрашивание в автостейнере Dako Link48 (согласно стандартному протоколу, рекомендованному производителем). При окрашивании были использованы антитела к рецепторам

эстрогенов (моноклональное, мышинное, клон 1D5, Dako), рецепторам прогестерона (моноклональное, мышинное, клон PgR636, Dako), Her2/neu (поликлональное, кроличье, клон c-erbB-2, Dako) и Ki-67 (клон MIB-1, Dako). Интерпретация результатов исследования выполнялась двумя патологоанатомами в соответствии с Рекомендациями ASCO/CAP (2018-2020). При сравнительном анализе экспрессии стероидных рецепторов учитывался только процент окрашенных клеток инвазивного рака без учета интенсивности окрашивания.

Статистическая обработка данных, полученных в исследовании, производилась с помощью программ Excel (Microsoft, США) и программного пакета IBM SPSS Statistics v23. Для сравнения количественных данных независимых выборок проводился Mann-Whitney Test. Различия считались статистически значимыми при критерии альфа <0.05 . Графики общей и безрецидивной выживаемости построены по методу Kaplan-Meier. Достоверность различий между группами определялась по логарифмическому ранговому (log-rank) критерию. Различия считались статистически значимыми при $p <0.05$.

Положения, выносимые на защиту

1) Сравнительное суррогатное типирование первичной опухоли в парах «кор-биопсия - операционный материал» в группе больных без НАТ выявило клинически значимое изменение суррогатного подтипа РМЖ у 20 (11,9%) пациентов, в группе с НАТ – у 3 (5,8%) больных.

2) Сравнительное суррогатное типирование в парах «первичная опухоль – регионарный метастаз» независимо от проведения НАТ выявило клинически значимое изменение суррогатного подтипа опухоли в 6 (3,7%) случаях. Среди пациентов с НАТ в 5 (9,8%) случаях произошла конверсия суррогатного подтипа РМЖ в регионарном метастазе.

3) Сравнительный анализ экспрессии маркеров в парах «первичная опухоль – местный рецидив» показал, что у 8 (24,2%) больных возникла конверсия суррогатного подтипа опухоли.

4) Сравнительный анализ экспрессии маркеров в парах «первичная опухоль – отдаленный метастаз» показал, что у 13 (27,7%) больных возникла конверсия суррогатного подтипа опухоли в связи со снижением или исчезновением экспрессии ER, PR или ростом пролиферативной активности, при стабильном Her2-статусе опухоли.

5) Частота конверсии суррогатного подтипа опухоли для групп люминального РМЖ носила времязависимый характер: при медиане наблюдения более 40 мес отмечена конверсия ЛюмА в ЛюмВ/Her2- РМЖ, как в группе местного рецидива, так и у больных с отдаленными метастазами.

6) Анализ прогностической ценности суррогатного типирования РМЖ на различном гистологическом материале выявил превосходство операционного материала над кор-биопсией для ЛюмА подтипа, ЛюмВ-Her2-негативного подтипа, ЛюмВ-Her2-позитивного подтипа. Наиболее высокие показатели ОВ были ассоциированы с ЛюмА (218 мес, $p=0,035$), ЛюмВ-Her2-негативного подтипа (105 мес, $p=0,73$), ЛюмВ-Her2-позитивного подтипа (72 мес, $p=0,83$).

Степень достоверности и апробация результатов

Представленные в диссертационной работе теоретические положения, методологические подходы и выводы являются результатом проработки самостоятельного научного исследования. Объем материала (170 больных РМЖ), период наблюдения (от 19 до 236 месяцев), применение современных методов исследования и статистического анализа свидетельствуют о достоверности полученных результатов, сформулированных выводов.

Материалы диссертации доложены на VI Ежегодном Всероссийском конгрессе Российского общества онкомаммологов (РООМ) «Современная диагностика и лечение рака молочной железы» XXIV Мероприятие РООМ (Сочи, 5-7 сентября 2019 г.), V Петербургском международном онкологическом форуме «Белые ночи 2019» (Санкт-Петербург, 20-23 июня 2019 г.). По материалам диссертации опубликовано 3 печатные работы, из них 2 – в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Результаты работы внедрены и используются в процессе лекционного и практического обучения ординаторов, аспирантов, курсантов кафедры онкологии факультета дополнительного образования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и НИИ клинической онкологии имени академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

ГЛАВА 1. РОЛЬ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Понятие о внутриопухолевой гетерогенности

Клеточная неоднородность в пределах опухоли, или внутриопухолевая гетерогенность, является одной из основных характеристик злокачественных новообразований [52; 93]. Основоположник современной патологической анатомии Рудольф Вирхов, впервые описал неоднородность клеток по морфологии в пределах одной опухоли в середине 19-го века [50]. В 1914 году были высказаны предположения, что причиной фенотипического разнообразия опухолевых клеток могут быть хромосомные aberrации [123].

Позднее, Bloom и Richardson отметили, что пациенты одного возраста, со схожими симптомами и стадией заболевания отличаются характером клинического течения и исходом РМЖ [44; 49].

Новейшая эпоха изучения внутриопухолевой гетерогенности началась с фундаментального исследования Nowell, в котором изложен классический постулат онкологии: "агрессивные злокачественные субклоны, входящие в состав опухоли, возникают в результате селективного отбора, в основе которого лежит повышенная нестабильность генома" [87]. С тех пор сосуществование различных клеточных популяций в пределах одной опухоли считается неотъемлемой чертой любого злокачественного новообразования, а механизмы формирования внутриопухолевой гетерогенности и характер ее влияния на течение и исход заболевания являются предметом активного изучения [57; 58].

В зависимости от характера отличий между опухолевыми клетками, внутриопухолевую гетерогенность можно подразделить на три основных типа: генетическую, эпигенетическую и фенотипическую.

Основной причиной генетической гетерогенности считается повышенная геномная нестабильность, при которой наблюдается повышение частоты возникновения точечных мутаций, вставок и делеций, а также крупных хромосомных перестроек и нарушений кариотипа [30; 110]. Данные события

считаются ключевыми при формировании опухоли и являются отличительной характеристикой большинства злокачественных новообразований [30; 110].

Что же касается основных причин, приводящих к эпигенетической гетерогенности, то следует отметить изменение профиля метилирования, гистоновую модификацию хроматина и нарушения в работе регуляторных микроРНК [48; 127]. Вышеуказанные изменения могут усиливать или ослаблять различные повреждения генома опухолевых клеток, возникшие в ходе эволюции опухоли и вместе с генетическими изменениями вносить весомый вклад в поддержание внутриопухолевого разнообразия [92].

Фенотипическая гетерогенность проявляется как в неоднородности клеток по форме и размеру, так и по рецепторному статусу, пролиферативному, иммунному и метастатическому потенциалам, направленности биохимических процессов. [76; 77; 80; 86].

Известно, что опухолевое микроокружение способно оказывать динамическое влияние на фенотипическое разнообразие опухолевых клеток за счет секреции медиаторов воспаления, клеточного роста и дифференцировки, ангиогенеза и других факторов [76]. Описанные типы внутриопухолевой гетерогенности являются взаимосвязанными явлениями, наблюдаемыми в ходе роста и прогрессии опухоли. Фенотипическая гетерогенность же, как уже отмечалось выше, является отражением генетических и эпигенетических изменений. Поэтому, опухоли обычно демонстрируют все три типа клеточного разнообразия [76].

1.2 Рецепторный статус опухоли

За последние десятилетие достигнут большой прогресс в области понимания биологических механизмов канцерогенеза рака молочной железы. Исходя из большого количества исследовательских работ, которые ведутся во всем мире касающихся злокачественных новообразований молочных желез, РМЖ нельзя рассматривать как единообразное заболевание [15; 11].

В настоящее время для оценки особенностей клинического течения, возможного исхода заболевания и выбора адекватной тактики лечения помимо описания клинико-морфологических характеристик (возраст, размер первичного опухолевого узла, гистологический тип, степень злокачественности и др.) оценивают молекулярно-биологические свойства опухоли [5; 9; 66].

В 2000 г. С.М. Perou [90] с соавторами с помощью микрочипового метода и применения кластерного анализа, удалось создать упрощенную суррогатную (иммуногистохимическую) модель молекулярно-генетической классификации, выделяющей следующие биологические подтипы РМЖ: люминальный А, люминальный В Her2-позитивный, люминальный В Her2- негативный, тройной негативный, Her2 положительный подтип. Каждый из перечисленных подтипов характеризуется индивидуальными особенностями течения заболевания, риском прогрессирования, включая органоспецифическое метастазирование, что требует особых терапевтических подходов [4; 67; 94].

В настоящее время, определение молекулярно-биологического подтипа является «золотым стандартом» при выборе тактики лечения и ведения пациентов РМЖ [2; 6; 69]. Широкое внедрение иммуногистохимического типирования РМЖ, значительно повысило точность выбора и эффективность лекарственной терапии, а также показатели выживаемости, данное заболевание все еще является лидирующей онкологической патологией среди женского населения [8; 10; 89].

Необходимо отметить, что предложенная еще в 2013 году St. Gallen-конференцией иммуногистохимическая классификация РМЖ, поддержанная ESMO и ASCO, представляет собой удобный инструмент для планирования лечения РМЖ, она все же не отражает многие биологические характеристики опухоли в пределах каждого ИГХ-подтипа (Таблица 2) [20; 23; 35; 121; 122].

Таблица 2 - Иммуногистохимическая и молекулярно-генетическая классификации РМЖ

Генетический подтип	Доля	Суррогатный подтип	Доля
Люминальный А (PAM50)	40-60%	ER+/Her2-	90%
		Her2+	7%
		Тройной негативный	2%
Люминальный В (PAM50)	20-30%	ER+/Her2-	82%
		Her2+	15%
		Тройной негативный	1%
Her2-обогащенный (PAM50)	10-20%	ER+/Her2-	20%
		Her2+	70%
		Тройной негативный	9%
Базально-подобный (PAM50)	15-20%	ER+/Her2-	13%
		Her2+	4%
		Тройной негативный	80%

В целом, суррогатная модель молекулярно-генетической классификации характеризуется рядом ограничений и высокой вероятностью неточностей в определении биологического подтипа опухоли, что в большей степени обусловлено возможными нарушениями методологии выполнения, неточностью полученных результатов, вследствие чего происходит ошибочная интерпретация результатов исследования [15; 28].

Однако, стоит отметить, что регулярные пересмотры терапевтических критериев Сан-Галлен для типирования РМЖ, позволяют выполнить типирование опухоли, приближающимся по точности к генетической классификации [20; 35; 53-55].

Суррогатное типирование РМЖ на протяжении длительного периода, проводилось однократно на материале трепанобиопсии, однако, в последние несколько лет все чаще в клинической практике стало встречаться повторное определение биологического подтипа первичной опухоли на операционном материале. Несмотря на изначально доминировавшую концепцию о неизменных молекулярно-биологических параметрах РМЖ на протяжении всего периода течения заболевания, результаты многочисленных исследований говорят об обратном [41; 62; 65; 120].

Показано, что в отсутствие НАТ частота расхождения уровней экспрессии ER, PR и Her2/neu в РМЖ при парном сравнении трепанобиопсии и операционного материала довольно мала, составляя 1,8%, 15,0% и 1,2% соответственно [48; 88; 124; 130]. Однако, сравнительный анализ парных случаев «трепан – операция» у 526 больных РМЖ без неоадьювантной химиотерапии (НАХТ) и 190 больных после НАХТ, проведенный Robertson с соавт., показал расхождение Her2-статуса опухоли у 24,6% больных группы без НАХТ и 23,3% больных в группе с НАХТ. У 37,8% больных группы без НАХТ при повторном тестировании операционного материала была отмечена конверсия люминального А подтипа опухоли в люминальный В [40; 132]. Похожие результаты конверсии люминального А подтипа в люминальный В или Her2-амплифицированный подтип при повторном тестировании опухоли были выявлены и другими исследователями в 14% и 55% случаев соответственно [31; 125].

Принимая во внимание тот факт, что иммуногистохимическое исследование является методикой суррогатного типирования РМЖ, особый интерес представляет анализ соответствия профиля экспрессии генов в метастатических и рецидивных очагах по сравнению с первичной опухолью [103; 104]. Несмотря на современные методы рентгенологической и радиоизотопной диагностики, диагноз «рецидив или прогрессирование РМЖ» должен быть подтвержден данными гистологического исследования биопсийного материала с последующим иммунофенотипированием опухоли [1; 6; 20].

По данным Q. Qi и соавт., выполненная биопсия метастатических очагов у больных РМЖ позволила подтвердить прогрессирование заболевания у 76% пациенток, у 14% пациенток выявить другие злокачественные новообразования (рак легкого, метастазы других опухолей), а еще у 10% обнаружить очаги доброкачественной природы [95].

Как было показано ранее, определение уровня экспрессии ER и PR в опухолевом очаге, напрямую связано с прогнозом заболевания и назначением лекарственной терапии. Следует отметить, что исследования последних лет показали высокий уровень дискордантности между первичной опухолью и метастатическим очагом (25-30% случаев), связанной с клональной экспансией клеток РМЖ с наиболее выраженным метастатическим потенциалом [85]. На рисунке 1 приведен пример дискордантности экспрессии суррогатных маркеров в первичном РМЖ и синхронном аксиллярном метастазе при отсутствии неоадьювантной терапии.

По данным различных авторов частота конверсии ER-позитивной первичной опухоли в ER-негативный метастаз РМЖ достигает 12-29% случаев, а частота конверсии ER-негативного первичного РМЖ в ER-позитивный метастаз – 8-33% [56; 71].

Несмотря на общепризнанную роль уровня экспрессии ER в опухоли как предиктора лекарственного ответа, тестирование экспрессии уровня PR в инвазивном раке остается не менее важным [20]. Известно, что низкий (<20%) или негативный PR-статус опухоли ассоциирован с менее благоприятным прогнозом заболевания [20; 40]. Кроме того, среди всего ER-позитивного РМЖ особняком стоит малочисленная группа опухолей (2-3% случаев) с низким уровнем экспрессии ER – в пределах 1-10% - вызывающая немалые трудности при лечении подобных новообразований ввиду недостаточности данных о клинической эффективности гормональной терапии [20; 24; 96].

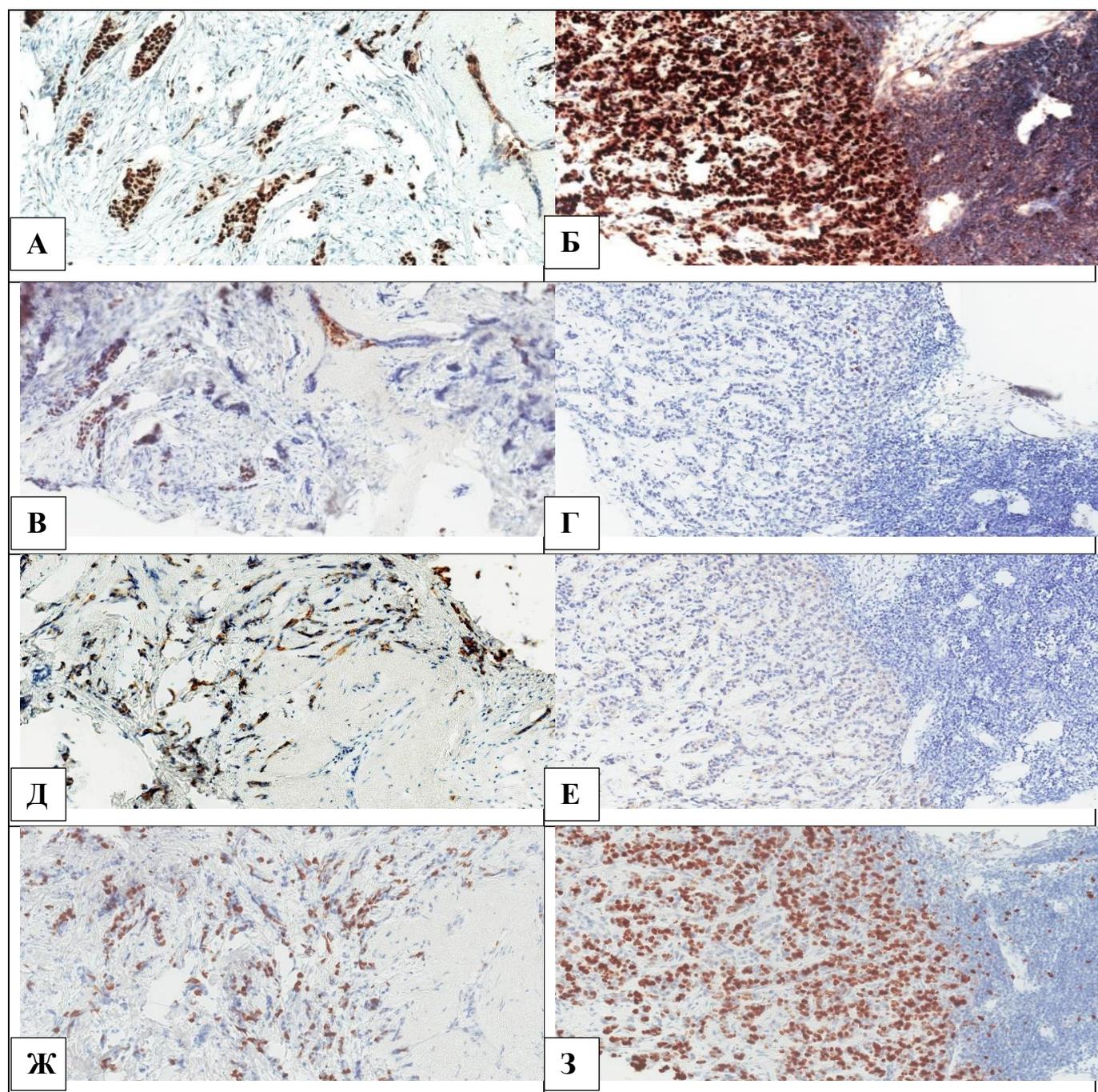


Рисунок 1 - Анализ экспрессии суррогатных маркеров в первичном РМЖ и синхронном регионарном метастазе (до начала лечения): А – экспрессия ER в первичной опухоли (100%, +++), Б - экспрессия ER в метастазе (100%, +++), В - экспрессия PR в первичной опухоли (23%, ++), Г - экспрессия PR в метастазе (менее 1%, +), Д - экспрессия Her2/neu в первичной опухоли (1+), Е - экспрессия Her2/neu в метастазе (0), Ж – индекс Ki-67 первичной опухоли составляет 45%, З - индекс Ki-67 метастаза - 85%. Иммунопероксидазный метод, увеличение x200

Также необходимо отметить, что частота конверсии Her2-негативной первичной опухоли в Her2-позитивную при локальном рецидиве составила 13,3%, а частота конверсии Her2-негативного статуса первичной опухоли в Her2-позитивный в отдаленных метастазах – 17,1%; частота конверсии Her2-позитивного статуса первичной опухоли в Her2-негативный статус в метастазах равнялась 4,9-23,6%, а частота обратной конверсии составила 9,8-13,3% случаев [56; 71; 105; 106; 133].

В 2017 г. E. Lower и соавт. проанализировали различия показателей рецепторного статуса между первичными и рецидивными очагами РМЖ [16]. Примечательно, что различия в рецепторном статусе между первичным очагом и первым рецидивом РМЖ по ER-статусу составляли 15,8%, PR-статусу - 33,7%, Her2-статусу - 14,3%, тогда как при повторном прогрессировании вторая рецидивная опухоль была дискордантна по отношению к первичной карциноме уже в 28% случаев (экспрессия ER), 41% (экспрессия PR) и 20% (экспрессия Her2/neu). Учитывая, вышеизложенные данные, важно отметить, что биологический подтип опухоли меняется не только при первом рецидиве, но и при последующем прогрессировании заболевания, при этом формируется наиболее устойчивый к лекарственному лечению клон клеток, что не может не влиять на выживаемость больных РМЖ, это подтверждено рядом исследований [16].

В 2017 г. G. Erdem и соавт., был проведен иммуногистохимический анализ биопсий рецидивов РМЖ у 549 пациенток [72]. Учитывая, высокий уровень дискордантности между первичной и рецидивной опухолями по экспрессии ER, PR и Her2/neu (27,2%, 38,6% и 14,4% соответственно), следует обратить внимание, что утрата гормон-позитивного статуса в рецидивном очаге приводила к ухудшению показателей выживаемости [72].

В противоположность этому выявление гормон-позитивного статуса рецидива при первичной гормон-негативной карциноме увеличивало не только пострецидивную выживаемость (с 31 до 56 мес), но и общую выживаемость (с 57 до 119 мес; $p=0,0001$) больных. Аналогичные данные были представлены при

анализе экспрессии Her2: утрата Her2-позитивного статуса рецидивной опухолью приводила к сокращению выживаемости после развития рецидива (с 60 до 26 мес) и общей выживаемости (с 111 до 60 мес; $p=0,009$) [48].

В целом, в ходе ретро- и проспективных исследований на протяжении последних двух десятилетий было показано, что диапазон частоты расхождения ER-, PR- и Her2-статуса первичной опухоли и в метастатическом очаге РМЖ составляет 3,2-54,0%, 14,3-43,0% и 0-33% соответственно [21; 36; 68; 71].

В 2017 г. Sejalvo с соавт. в своем исследовании, 123 парных случаев «опухоль-метастаз» обнаружили значимые различия в группах люминального А (39% и 26%) и Her2-позитивного (11,4% и 22%) РМЖ. Так, в 40,4% и 14,9% случаев люминального А рака профиль экспрессии генов в метастазах изменился настолько, что стал соответствовать люминальному В и Her2-позитивному подтипам соответственно [34]. Авторам не удалось обнаружить достоверных различий в выживаемости больных после конверсии генетического подтипа, однако была выявлена корреляция между более агрессивным течением заболевания и более длительным безрецидивным периодом [34].

Стоит отметить, что при иммунофенотипирование отдалённых метастатических очагов выявлена дискордантность рецепторного статуса по сравнению с первичной опухолью РМЖ.[16; 34; 48].

Так, например, в работе E. Botteri и соавт., у 100 пациенток РМЖ с метастазами в печени было обнаружено, что в 12% случаев выявлен Her2-позитивный статус метастазов при первичной Her2-негативной опухоли, а у 6% случаев — гормон-позитивный рецидив в печени при гормон-негативном первичном РМЖ [29].

Кроме того, в 2018 г. были представлены результаты исследования K. Matsuura и соавт., которые проанализировали биопсии очагов в легких у 53 пациенток с РМЖ. Результат морфологических заключений подтвердил прогрессирование РМЖ только у 25 (47%) из 53 больных [79]. Авторы сравнили биологический подтип первичной и метастатической опухоли, в результате чего были найдены «новые» мишени для таргетной терапии, а также выявлена

экспрессия стероидных гормонов при первичном тройном негативном РМЖ в 6 (24%) из 25 случаев, что позволило оптимизировать дальнейший лекарственный алгоритм у данных больных [79].

В результате проведенных исследований, следует отметить, что представленные данные, стали причиной изменения схемы системной терапии, а также подтверждают необходимость гистологической верификации вновь возникших патологически-измененных очагов в органах и системах у больных РМЖ.

Таким образом, адекватное лечение больных раком молочной железы является одной из актуальных проблем в онкологии. Многочисленные исследования показывают, что молекулярно-биологическая гетерогенность является важным фактором, определяющим ответ на противоопухолевую терапию.

Известно, что клиническая эффективность лекарственной терапии РМЖ (частота полных и частичных регрессий) находится в пределах 50-70%, в то время как лечебный патоморфоз сильно различается в группах РМЖ разных суррогатных подтипов [56; 61; 126]. Так, полная морфологическая регрессия встречается в 31,1% случаев трижды-негативного РМЖ, в 28,5% Her2-положительного РМЖ (для фенотипа Her2+ /ER+ /PR± она равна 18,7%; для фенотипа Her2+ /ER- /PR- составляет 38,9%) и только в 8,2–8,7% случаев карцином люминальных А и В подтипов без амплификации Her2 [75; 126]. В результате исследований Ring A.E. и соавт., а также Guarneri V. и соавт. было показано, что ER - негативные опухоли более чувствительны к химиотерапии, чем ER-позитивные опухоли [84; 98; 112].

На рисунке 2 представлен пример внутриопухолевой гетерогенности опухоли после проведенной НАТ.

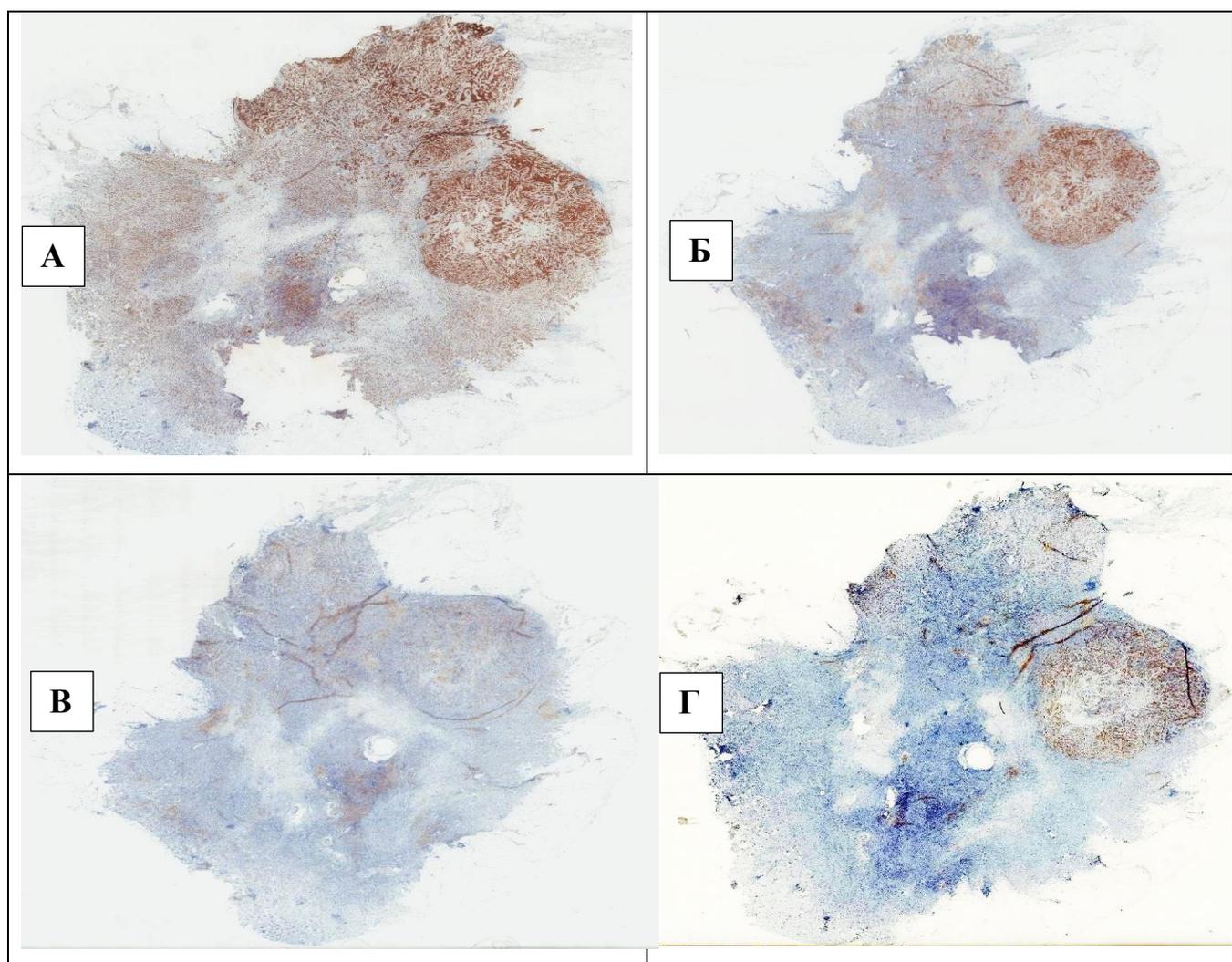


Рисунок 2 - Внутриопухолевая гетерогенность экспрессии суррогатных маркеров в первичном РМЖ после проведения неoadьювантной терапии (площадь очага инвазивного рака 16x14 мм): А – экспрессия ER сохранена почти на всем протяжении очага (90%, +++) с акцентуацией в правой части опухоли, Б - экспрессия PR ограничена правой частью опухоли (35%, ++) и выражена в правом округлом участке (субклон), В – Her2-статус опухоли остался неизменным (1+) после НАТ, Г – пролиферативная на всем протяжении опухоли варьировала от 2% (левая часть снимка) до 50% (правая часть снимка – округлый субклон). Иммунопероксидазный метод, увеличение x5

Однако, что касается индекса Ki-67 инвазивного рака молочной железы, то данный параметр имеет двойную роль в прогнозировании ответа опухоли на лекарственное лечение [22; 73; 91]. В первую очередь, это маркер ответа опухоли

на неоадьювантную терапию, демонстрирующий связь с частотой и выраженностью лечебного патоморфоза опухоли [107; 113; 114].

В частности, перед началом системного лечения для люминального А подтипа РМЖ низкий индекс пролиферации ассоциирован с благоприятным прогнозом, тогда как для люминального В или нелюминальных типов РМЖ высокая пролиферативная активность перед началом НАХТ напрямую коррелирует с частотой выявления полного патоморфоза и лучшей выживаемостью [28; 131]. Исключением из нелюминальной группы служит тройной негативный РМЖ (ТНРМЖ), с одной стороны демонстрирующий при высоком индексе Ki-67 высокую частоту полного патоморфоза, с другой – парадоксально низкую выживаемость [78; 99; 115]. По мнению экспертов, менее ясным остается второй аспект прогностической ценности и связи с выживаемостью индекса Ki-67 после неоадьювантной терапии, когда он выступает в качестве фармакодинамического маркера [44].

Стоит отметить, что терапевтическое воздействие выступает в роли не только уничтожающего фактора чувствительных опухолевых субклонов, но и направляющего фактора эволюции опухоли, выполняя функцию селективного отбора для наиболее агрессивных химиорезистентных клеток.

Исследования показывают, что проведение НАХТ значительно меняет уровень экспрессии ER у каждого третьего (34,3%) и Her2/neu у каждого седьмого (14,5%) пациента в остаточной или метастатической опухоли [20].

1.3 Феномен лекарственной устойчивости РМЖ

Учитывая вышесказанное, следует сделать вывод, что молекулярный профиль РМЖ, коррелирует с целым рядом как клиничко-лабораторных параметров, так и с чувствительностью к разным режимам лекарственной терапии. Особый интерес представляет тот клон клеток опухоли, который обладает лекарственной устойчивостью [16; 18; 54].

Резистентность опухоли к лекарственному лечению можно условно разделить на два типа: первичную, или естественную, и вторичную, или

приобретенную [2; 60]. Первичная лекарственная устойчивость обусловлена механизмами, существующими в ткани опухоли с момента ее формирования [12; 17].

Однако, первичная лекарственная устойчивость определяется уже существующими в опухоли различными популяциями клеток, которые в ходе эволюции приобрели химиорезистентный метаболизм. Напротив, вторичная, или приобретенная лекарственная устойчивость развивается в результате воздействия терапевтических препаратов на опухолевые клетки [111]. Данный процесс может происходить как за счет приобретения дополнительных мутаций, так и активации адаптивных механизмов, таких как включение в работу альтернативных компенсаторных сигнальных путей взамен лекарственно-заблокированных [60; 109]. Приобретенная лекарственная устойчивость развивается после проведения курса НАХТ и способствует формированию резистентного фенотипа даже среди популяций клеток, изначально чувствительных к лечению, что в итоге значительно усложняет терапию в адьювантном периоде [70].

Таким образом, можно сделать вывод, что внутриопухолевая гетерогенность препятствует поступлению лекарственных средств, популяции клеток обладают различными механизмами метаболизма и устойчивости к ксенобиотикам, генетическое разнообразие компонентов опухоли исключает возможность в большинстве случаев ее полного лечебного патоморфоза.

Лекарственная терапия, кажущаяся клинически эффективной на первых этапах, по сути, оказывается направленной на уничтожение чувствительных опухолевых субклонов, а ее воздействие способствует пролиферации резистентных популяций и дальнейшей клональной эволюции, сопряженной, как правило, с опухолевой прогрессией.

1.4 Заключение

Внутриопухолевая гетерогенность, которая свойственна большинству злокачественных новообразований, является основной преградой на пути к успешной диагностике и лечению больных РМЖ.

Являясь результатом клонального многообразия в пределах одной опухоли, внутриопухолевая гетерогенность проявляется в неоднородности генетического, эпигенетического и фенотипического строения опухолевых клеток, а также в разнородности клеток опухолевого микроокружения и определяет опухолевый рост и прогрессию.

Необходимо учитывать, что неоднородность опухолевого строения и значительное клональное разнообразие существенно осложняют терапию злокачественных новообразований. Высокая гетерогенность опухолевого микроокружения препятствует успешной доставке лекарственных средств, а изначально присутствующие различные популяции опухолевых клеток обладают индивидуальной чувствительностью к лекарственной терапии в целом.

Несмотря на значительный успех в понимании иммуногистохимической модели РМЖ, что способствует индивидуализации лекарственного лечения, заболеваемость и смертность от данной патологии по-прежнему занимают лидирующие позиции среди женщин.

В российской популяции отсутствуют данные о дискордантности между первичной опухолью, регионарными и отдалёнными метастазами, локальными рецидивами, а также не проводились исследования эффективности специального лекарственного лечения у больных РМЖ в зависимости от внутриопухолевой молекулярной гетерогенности, проявляющейся в том числе и в различном рецепторном статусе клеток в пределах одного очага опухолевого роста.

Всё вышесказанное указывает на необходимость анализа изменений молекулярно-биологических характеристик в первичном, рецидивных и метастатических очагах, а также остаточной опухоли после неадъювантного лекарственного лечения с использованием суррогатных биомаркеров для оптимизации и индивидуализации лечения, что способствует повышению выживаемости больных РМЖ.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Общая характеристика клинических случаев и иммуноморфологических параметров РМЖ

В настоящее ретроспективное исследование было включено 170 больных, находившихся на обследовании и лечении в «ФГБУ НМИЦ онкологии имени Н. Н. Блохина» Минздрава России в период с 2010 по 2020 гг.

Критериями включения пациентов в исследование служили:

1) Наличие архивной медицинской документации со сроками, видами и результатами обследования, объемом хирургических вмешательств, проводимой лекарственной и лучевой терапии (виды, продолжительность, доза, эффект), гистологическими заключениями (верифицированный при кор-биопсии первичный инвазивный РМЖ, независимо от наличия регионарных метастазов, гистологически верифицированные отдаленные метастазы или рецидивная опухоль).

2) Наличие результатов иммунофенотипирования опухоли при кор-биопсии, в операционном материале (для первичной опухоли, регионарного метастаза, отдаленного метастаза и/или местного рецидива).

3) Наличие архивных парафиновых блоков операционного (биопсийного) материала первичной и метастатической опухоли.

4) Продолжительность наблюдения не менее 18 мес.

5) Отсутствие послеоперационной летальности (период - 30 суток).

6) Отсутствие конкурирующих злокачественных новообразований.

Критерии исключения:

1) Генетически обусловленный (наследственный) РМЖ.

2) Первичный (синхронный или метакронный) билатеральный РМЖ.

3) Мультицентричный рост опухоли.

4) Мужской пол.

5) Смерть пациента, наступившая от иного заболевания.

Средний возраст больных составлял 55 лет (min=33 года, max = 87 лет). Медиана времени наблюдения составила 54 месяца (min=19 месяцев, max = 236 месяцев). Гистологическая верификация диагноза у больных РМЖ в среднем составила 10 дней (min=5 дней, max = 14 дней). Менструальная функция была сохранена у 83 (48,8%) пациенток, у 41 (24,1%) женщины менопаузальный период составлял менее 5 лет, а у 46 (27,1%) больных - более 5 лет.

Овариальная супрессия хирургическим способом была выполнена у 3 (1,8%) больных, а лекарственным – у 57 (33,5%) пациенток. При анализе фоновых заболеваний у больных до установления диагноза РМЖ было установлено, что у 137 (80,6%) женщин были выявлены фиброзно-кистозная мастопатия и у 9 (5,3%) пациенток наличие множественных фиброаденом, однако, у 24 (14,1%) больных, фоновые заболевания в молочных железах не обнаружены.

Оценка стадии заболевания проводилась по TNM-классификации 8-го пересмотра (AJCC/UICC). На момент постановки диагноза у 3 (3,0 %) больных заболевание носило локализованный характер, у 167 (97,0 %) больных были регионарные метастазы (Таблица 3).

Таблица 3 - Распределение больных по возрасту и TNM–стадии

		Абс.	%
Возраст на момент операции	<40 лет	23	13,5%
	40-60 лет	95	55,9%
	>60 лет	52	30,6%
cT	T1	79	46,5%
	T2	57	33,5%
	T3	12	7,1%
	T4	22	12,9%
cN	N0	49	28,8%
	N1	106	62,4%
	N2	12	7,1%
	N3	3	1,7%

Продолжение таблицы 3

сМ	М0	170	100%
	М1	0	0%
сTNM	IA	23	13,5%
	IB	0	0%
	IIA	76	44,7%
	IIB	35	20,6%
	IIIA	14	8,2%
	IIIB	19	11,2%
	IIIC	3	1,8%
	IV	0	0%

У 170 больных была выполнена кор-биопсия первичного очага в молочной железе, с последующим иммуногистохимическим типированием. У 94 пациенток выполнена аспирационная тонкоигольная биопсия видоизменного регионарного лимфоузла, 92 (98%) цитограммы соответствовали метастазу РМЖ, в 2 (2%) цитологических исследованиях клеточный состав соответствовал гиперплазии лимфоузлов.

Гистологические типы РМЖ были представлены следующим образом: 158 (92,9%) - инвазивный протоковый рак, 8 (4,7 %) - инвазивный дольковый рак, 2 (1,2%) - тубулярный, 2 (1,2%) - папиллярный рак (Таблица 4).

Таблица 4 - Гистологические типы первичного инвазивного рака (кор-биопсия)

Гистологический тип опухоли	Абс.	%
Инвазивный протоковый рак	158	92,9%
Инвазивный дольковый рак	8	4,7%
Тубулярный рак	2	1,2%
Папиллярный рак	2	1,2%

При исследовании гистологического материала кор-биопсии степень злокачественности варьировала от G1 до G3 и составила: высокодифференцированные опухоли (G1) - 8 (4,7%) случаев, умереннодифференцированные опухоли (G2) - 155 (91,2%) случая и низкодифференцированные (G3) - 7 (4,1%) (Таблица 5).

Таблица 5 - Клинико-морфологические параметры РМЖ, первичной опухоли (кор-биопсия)

Степень злокачественности	Абс.	%
G1	8	4,7
G2	155	91,2
G3	7	4,1

Молекулярный подтип опухоли был определен у всех 170 больных в первичном очаге.

Степень выраженности экспрессии ER, PR в первичной опухоли на биопсийном материале варьировала от 0 до 100% (Рисунок 3).

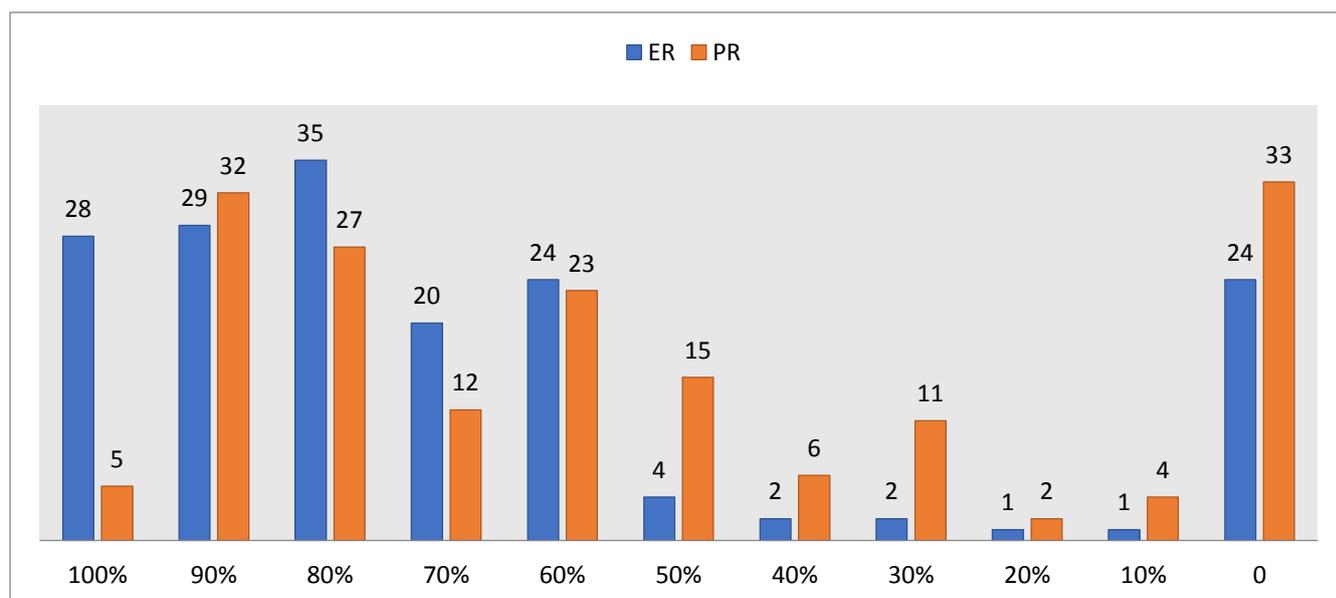


Рисунок 3 - Выраженность экспрессии и частота встречаемости ER и PR в РМЖ (кор-биопсия, абс.)

Гиперэкспрессия Her2/neu (+3) в материале кор-биопсии первичного очага в молочной железе была обнаружена у 8 (4,7%) пациенток, в 93 (54,7%) случаях - неполное окрашивание, что соответствовало +1, у 57 (33,5 %) больных в гистологическом материале амплификация Her2/neu отсутствовала, однако у 12 пациенток (7,1%) - отмечено окрашивание рецепторов Her2/neu и расценивалось как +2. У 13 больных амплификация данного гена была подтверждена и гиперэкспрессия Her2/neu (+3) в материале первичной опухоли составила всего 21 (12,4%) случай (Рисунок 4).

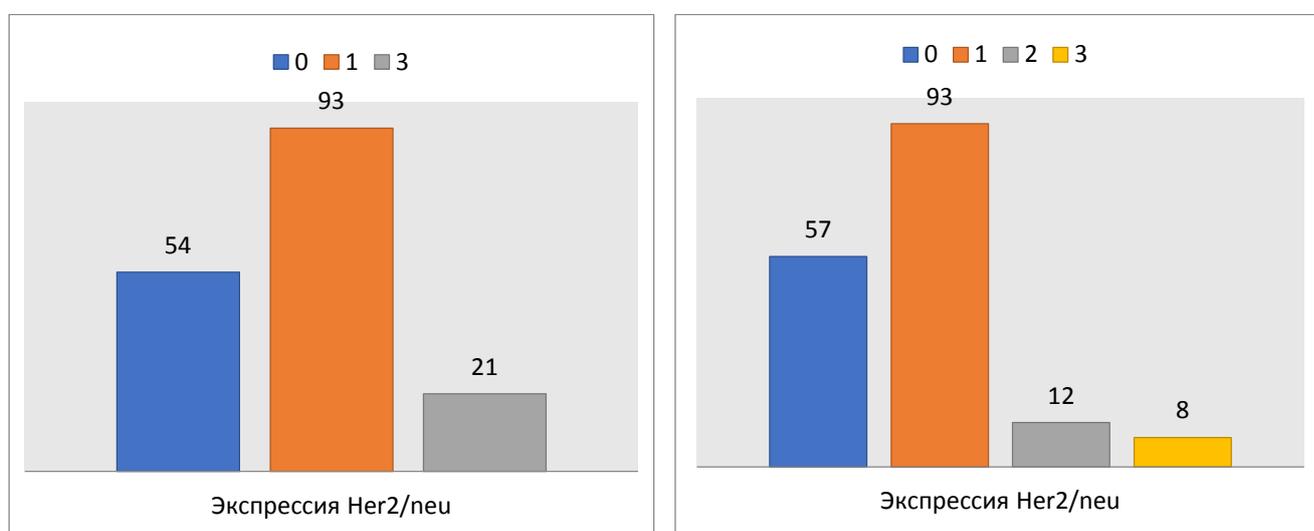


Рисунок 4 - Экспрессия Her2/neu в материале кор-биопсии у больных РМЖ (абс.)

При анализе пролиферативной активности в материале кор-биопсии индекс Ki-67 демонстрировал заметное числовое разнообразие. Наибольшую группу составили больные (44 человека – 25,9%) с числовым диапазоном 10-20% (Рисунок 5).

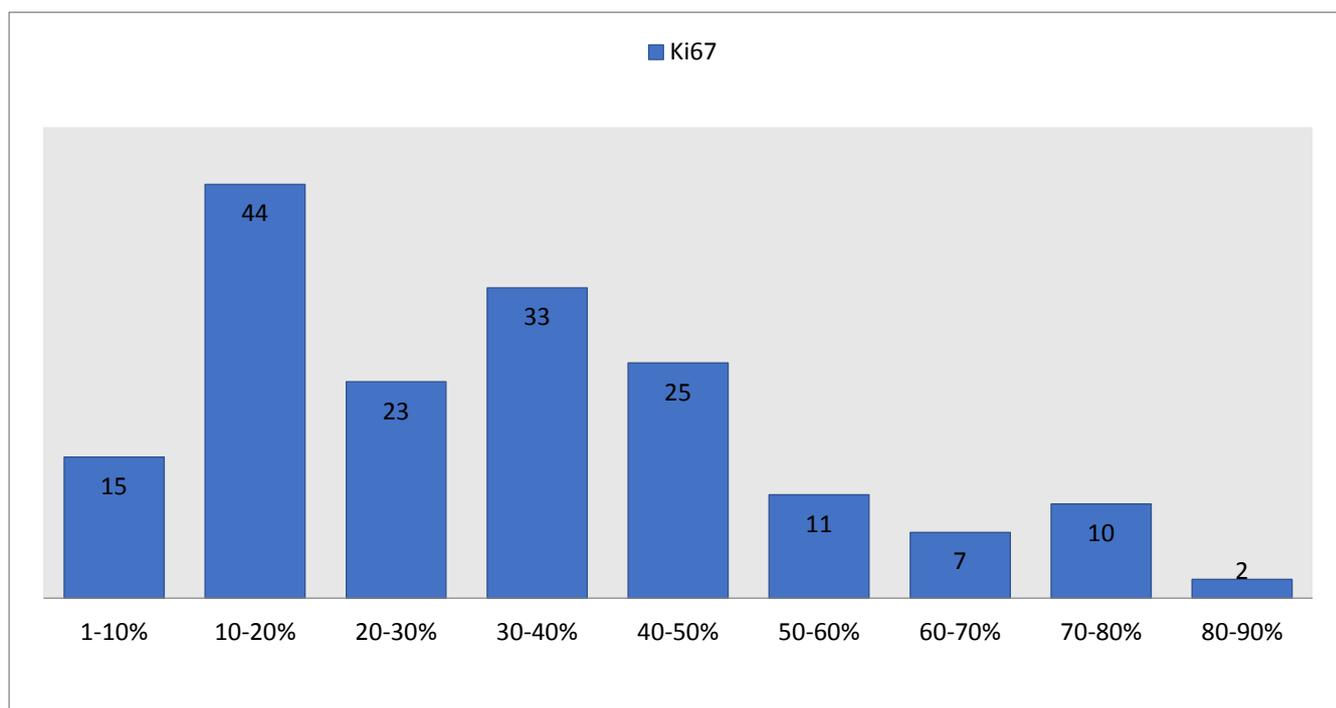


Рисунок 5 - Распределение пролиферативной активности в материале кор-биопсии (индекс Ki67, абс.)

По результатам суррогатного типирования первичной опухоли, группы больных РМЖ были распределены следующим образом: у 65 (38,2%) пациенток молекулярно-биологические характеристики первичной опухоли соответствовали люминальному А подтипу, у 66 (38,8%) больных – люминальному В Her2 -, у 14 (8,2%) - люминальному В Her2 +, у 7 (4,2%) – Her2 подтипу, а у 18 (10,6%) больных – тройному негативному подтипу (Таблица 6).

Таблица 6 - Суррогатный подтип первичной опухоли, кор-биопсия

Люминальный А	65 (38,2%)
Люминальный В Her2 негативный	66 (38,8%)
Люминальный В Her2 позитивный	14 (8,2%)
Her 2 подтип	7 (4,2%)
ТНPMЖ	18 (10,6%)

У 113 (76,5%) пациенток выполнена радикальная мастэктомия по Маддену, у 57 (33,5%) – радикальная резекция молочной железы. Стоит отметить, что в 167 (97%) случаях из 170 при исследовании операционного материала было синхронное метастатическое поражение регионарных лимфоузлов.

Исследование операционного материала проводилось всем пациентам, где повторно определялись: гистологический тип, степень злокачественности и иммунофенотипирование первичного очага и синхронных регионарных метастазов, при наличии резидуальной опухоли после неoadьювантного лечения, повторно оценивались: гистологический тип опухоли, степень лечебного патоморфоза, молекулярно - биологические характеристики опухолевого очага (Таблица 7).

Таблица 7 - Гистологические типы инвазивного рака, операционный материал (первичный опухолевый очаг)

Гистологический тип опухоли	Абс.	Отн.
Инвазивный протоковый рак	157	92,9%
Инвазивный дольковый рак	8	4,7%
Тубулярный рак	2	1,2%
Папиллярный рак	2	1,2%

При исследовании операционного материала, в парах «первичный очаг и регионарный метастатически пораженный лимфоузел» различий в гистологических типах обнаружено не было.

Анализ операционного материала, после проведенного неoadьювантного лечения у 51 пациентки, показал наличие в 49 случаях резидуальной опухоли. Степень лечебного патоморфоза в 40 (78,4%) случаях соответствовала II классу по системе RCB и в 9 (17,7%) - III классу по системе RCB, у 2 (3,9%) больных опухоль достигла полного лечебного патоморфоза (Таблица 8).

Таблица 8 - Лечебный патоморфоз, операционный материал (RCB) (первичный очаг и регионарные метастазы)

Выраженность лечебного патоморфоза (RCB)	Число случаев
Класс III-II	49
Класс I - pCR	2

При исследовании операционного материала определение степени злокачественности проводилось повторно у 119 больных, которая варьировала от G1 до G3 и составила: высокодифференцированные опухоли (G1)- у 42 (35,3%) пациенток, умереннодифференцированные опухоли (G2) – у 48 (40,3%) больных и низкодифференцированные (G3) – в 29 (24,4%) наблюдениях, однако в 51 случае определение степени злокачественности было нецелесообразным, из-за проведенной НАХТ (Таблица 9).

Таблица 9 - Клинико-морфологические параметры РМЖ, первичной опухоли (операционный материал)

Степень злокачественности	Абс.	%
G1	42	35,3
G2	48	40,3
G3	29	24,4

По результатам повторного суррогатного типирования первичной опухоли, распределение молекулярных подтипов опухоли было следующим: у 54 (32,1%) пациенток молекулярно-биологические характеристики первичной опухоли соответствовали люминальному А подтипу, у 69 (41,1%) больных – люминальному В Her2 - , у 21 (12,5%) - люминальному В Her2 +, у 8 (4,8%) – Her2 подтипу, а у 16 (9,5%) больных – тройному негативному подтипу.

Определение молекулярно-биологического подтипа первичной опухоли было проведено в 168 (98%) случаях, в 2 (2,0%) – повторное проведение иммуногистохимического исследования было невозможно из-за отсутствия жизнеспособных опухолевых клеток в ходе проведенной НАХТ. Определение молекулярно-биологических характеристик в синхронных регионарных метастазах было возможным в 165 (98,0%) готовых гистологических препаратах из 167, в 2 случаях после проведенного неoadъювантного лекарственного лечения достигнут полный лечебный патоморфоз в регионарных метастазах. Был получен следующий результат: у 50 (30,9%) пациенток молекулярно-биологические

характеристики первичной опухоли соответствовали люминальному А подтипу, у 73 (45,1%) больных – люминальному В Her2 - , у 18 (11,1%) - люминальному В Her2 + , у 9 (5,5%) – Her2 подтипу, а у 12 (7,4%) больных – тройному негативному подтипу (Таблица 10).

Таблица 10 - Суррогатный подтип первичной опухоли и синхронного регионарного метастаза (операционный материал, n=330)

Подтип	Первичная опухоль	Регионарный метастаз
Люминальный А	54 (32,1%)	50 (30,9%)
Люминальный В Her2 негативный	69 (41,1%)	73 (45,1%)
Люминальный В Her2 позитивный	21 (12,5%)	18 (11,1%)
Her 2 подтип	8 (4,8%)	9 (5,5%)
ТНRMЖ	16 (9,5%)	12 (7,4%)

2.2 Режимы лечения

Из 170 человек исследуемой группы в 51 случае, с учётом суррогатного подтипа первичной опухоли, было проведено неоадьюватное лекарственное лечение в стандартных режимах в полном объёме. У 25 (49,0%) больных была проведена неоадьювантная химиотерапия (НАХТ) комбинацией антрациклинов и таксанов, у 4 (8,0%) пациенток – антрациклины, в 10 (20,0 %) случаях неоадьювантная лекарственная терапия была проведена комбинацией антрациклинов и таксанов, анти-Her2 терапией, у 12 (23,0 %) больных – гормонотерапия (Рисунок 6, Таблица 11).

Неоадьювантная гормонотерапия в среднем составила 6 месяцев (min=5 месяцев, max = 11 месяцев).

Больные, получившие неоадьювантную лекарственную терапию, продолжили лечение после выполненного оперативного вмешательства и повторного иммунофенотипирования резидуальной опухоли.

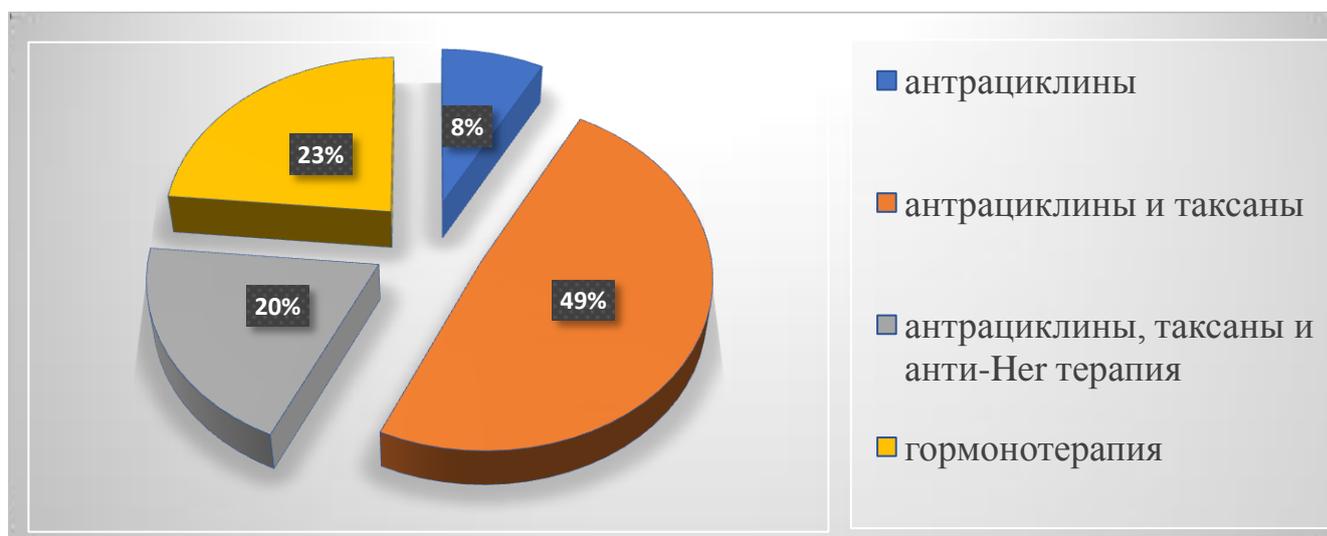


Рисунок 6 - Общая характеристика НАХТ в исследуемой группе, (%)

Таблица 11 - Режимы неоадьювантной лекарственной терапии, используемые в исследуемой группе (n=51)

Схемы	Абс.	%
АС (доксорубицин 60 мг/м ² в/в в 1-й день+ циклофосфамид 600 мг/м ² в/в в 1-й день 1 раз в 3 недели, 4 курса)	4	7,8
АС+Р (доксорубицин 60 мг/м ² в/в в 1-й день+ циклофосфамид 600 мг/м ² в/в в 1-й день 1 раз в 3 недели - 4 курса, затем паклитаксел 80 мг/м ² в/в еженедельно, 12 введений)	13	25,5
АС+D (доксорубицин 60 мг/м ² в/в в 1-й день+ циклофосфамид 600 мг/м ² в/в в 1-й день 1 раз в 3 недели – 4 курса, затем доцетаксел 75 мг/м ² в/в в 1-й день 1 раз в 3 недели, 4 курса)	12	23,5
АС+Р+трастузумаб 2 мг/кг (нагрузочная доза 4 мг/кг) в/в еженедельно 12 введений, одновременно с паклитакселом	7	13,8
АС+D+трастузумаб 6 мг/кг (нагрузочная доза 8 мг/кг) в/в в 1-й день 1 раз в 3 недели, 4 курса одновременно с доцетакселом	3	5,9
Селективные модуляторы рецепторов эстрогенов (тамоксифен 20 мг/сут., ежедневно)	3	5,9
Ингибиторы ароматазы (летрозол 2,5 мг/сут., ежедневно)	9	17,6

В остальных 119 случаях проведена адъювантная химиотерапия (АХТ) в стандартных режимах в полном объеме. У 12 (10,1%) больных АХТ проведена комбинацией антрациклинов и таксанов и у 33 (27,7%) больных - антрациклинами и таксанами с последующей гормонотерапией, у 25 (21%) пациенток – антрациклинами в комбинации с гормонотерапией, в 2 (1,7%) случаях – антрациклинами и таксанами, анти-HER2 терапией и 12 (10,1%) случаях – после проведения полихимиотерапии: антрациклинов, таксанов и анти-HER2 терапии была назначена гормонотерапия, у 35 (29,4%) больных – гормонотерапия (Рисунок 7, Таблица 12).

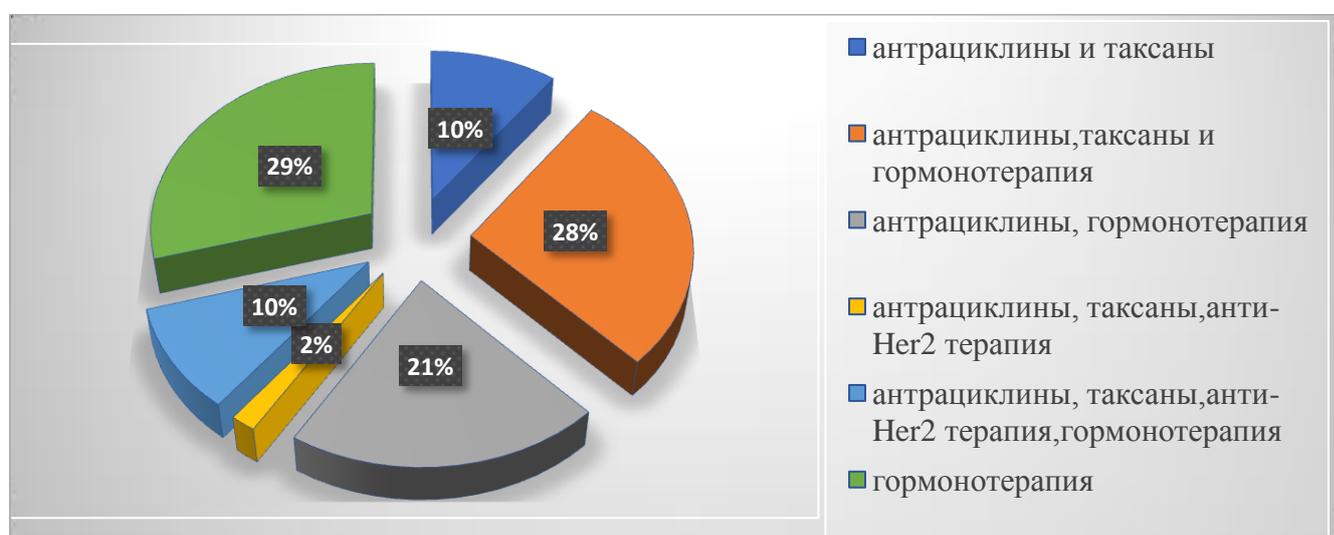


Рисунок 7 - Общая характеристика АХТ в исследуемой группе, (%)

Таблица 12 - Режимы адъювантной лекарственной терапии, используемые в исследуемой группе (n=119)

Схемы	Абс.	%
АС (доксорубицин 60 мг/м ² в/в в 1-й день+ циклофосфамид 600 мг/м ² в/в в 1-й день1 раз в 3 недели, 4 курса), ингибиторы ароматазы (летрозол 2,5 мг/сут., ежедневно)	20	16,8
АС (доксорубицин 60 мг/м ² в/в в 1-й день+ циклофосфамид 600 мг/м ² в/в в 1-й день1 раз в 3 недели, 4 курса), селективные модуляторы рецепторов эстрогенов (тамоксифен, 20 мг/сут., ежедневно)	5	4,2

АС+Р (доксорубицин 60 мг/м ² в/в в 1-й день+ циклофосфамид 600 мг/м ² в/в в 1-й день 1 раз в 3 недели – 4 курса, затем паклитаксел 80 мг/м ² в/в еженедельно, 12 введений)	12	10,1
АС+Р (доксорубицин 60 мг/м ² в/в в 1-й день+ циклофосфамид 600 мг/м ² в/в в 1-й день 1 раз в 3 недели – 4 курса, затем паклитаксел 80 мг/м ² в/в еженедельно, 12 введений), ингибиторы ароматазы (летрозол 2,5 мг/сут., ежедневно)	13	10,9
АС+D (доксорубицин 60 мг/м ² в/в в 1-й день+ циклофосфамид 600 мг/м ² в/в в 1-й день 1 раз в 3 недели – 4 курса, затем доцетаксел 75 мг/м ² в/в в 1-й день 1 раз в недели, 4 курса), ингибиторы ароматазы (летрозол 2,5 мг/сут., ежедневно)	12	10,1
АС+D (доксорубицин 60 мг/м ² в/в в 1-й день+ циклофосфамид 600 мг/м ² в/в в 1-й день 1 раз в 3 недели – 4 курса, затем доцетаксел 75 мг/м ² в/в в 1-й день 1 раз в 3 недели, 4 курса), селективные модуляторы рецепторов эстрогенов (тамоксифен, 20 мг/сут., ежедневно)	4	3,4
АС+Р (доксорубицин 60 мг/м ² в/в в 1-й день+ циклофосфамид 600 мг/м ² в/в в 1-й день 1 раз в 3 недели – 4 курса, затем паклитаксел 80 мг/м ² в/в еженедельно, 12 введений), селективные модуляторы рецепторов эстрогенов (тамоксифен, 20 мг/сут., ежедневно)	4	3,4
АС (доксорубицин 60 мг/м ² в/в в 1-й день+ циклофосфамид 600 мг/м ² в/в в 1-й день 1 раз в 3 недели, 4 курса), трастузумаб 6 мг/кг (нагрузочная доза 8 мг/кг) в/в в 1-й день 1 раз в 3 недели, ингибиторы ароматазы (летрозол 2,5 мг/сут., ежедневно)	1	0,8
АС+Р+трастузумаб 2 мг/кг (нагрузочная доза 4 мг/кг) в/в еженедельно 12 введений одновременно с паклитакселом, далее- трастузумаб 6 мг/кг в/в 1 раз в 3 недели до общей	1	0,8

длительности 12 мес.		
АС+D+трастузумаб 6 мг/кг (нагрузочная доза 8 мг/кг) в/в в 1-й день 1 раз в 3 недели, 4 курса одновременно с доцетакселом, далее- трастузумаб 6 мг/кг в/в 1 раз в 3 недели до общей длительности 12 мес.	1	0,8
АС+P+трастузумаб 2 мг/кг (нагрузочная доза 4 мг/кг) в/в еженедельно 12 введений одновременно с паклитакселом, далее- трастузумаб 6 мг/кг в/в 1 раз в 3 недели до общей длительности 12 мес., селективные модуляторы рецепторов эстрогенов (тамоксифен, 20 мг/сут., ежедневно)	1	0,8
АС+P+трастузумаб 2 мг/кг (нагрузочная доза 4 мг/кг) в/в еженедельно 12 введений одновременно с паклитакселом, далее- трастузумаб 6 мг/кг в/в 1 раз в 3 недели до общей длительности 12 мес., ингибиторы ароматазы (летрозол 2,5 мг/сут., ежедневно)	3	2,5
АС+D+трастузумаб 6 мг/кг (нагрузочная доза 8 мг/кг) в/в в 1-й день 1 раз в 3 недели, 4 курса одновременно с доцетакселом, далее- трастузумаб 6 мг/кг в/в 1 раз в 3 недели до общей длительности 12 мес., селективные модуляторы рецепторов эстрогенов (тамоксифен, 20 мг/сут., ежедневно)	2	1,8
АС+D+трастузумаб 6 мг/кг (нагрузочная доза 8 мг/кг) в/в в 1-й день 1 раз в 3 недели, 4 курса одновременно с доцетакселом, далее- трастузумаб 6 мг/кг в/в 1 раз в 3 недели до общей длительности 12 мес., ингибиторы ароматазы (летрозол 2,5 мг/сут., ежедневно)	5	4,2
Селективные модуляторы рецепторов эстрогенов (тамоксифен, 20 мг/сут., ежедневно)	4	3,4
Ингибиторы ароматазы (летрозол 2,5 мг/сут., ежедневно)	31	26

Продолжительность адъювантной гормонотерапии составила 5 лет.

В исследуемой группе из 170 больных только 138 пациенткам была назначена лучевая терапия, в суммарной дозе 50 Гр.

Учитывая вышеуказанные данные, все 170 больных РМЖ, которые были включены в исследование, в 25 случаях получили комплексное лечение, а в 145 - комбинированное лечение.

За период наблюдения у 33 (19,4 %) женщин были выявлены местные рецидивы и у 49 (28,8%) пациенток - отдаленные метастазы, из них у 27 (55,1%) больных метастазы локализовались в головном мозге, у 11 (22,4%) - в печени, у 7 (14,3%) - в костях, у 3 (6,1%) – в легких и у 1 (2,1%) – в яичниках.

Локализация отдалённых метастазов суррогатных подтипов представлена в таблице 13.

Таблица 13 - Локализация отдалённых метастазов различных суррогатных подтипов, n=49

Подтип, абс.	Головной мозг	Лёгкие	Печень	Яичники	Кости
Люм А (n=9)	11,1%	11,1%	22,2%	-	55,5%
Люм В Her2- (n=17)	35,3%	11,7%	35,3%	6,0%	11,7%
Люм В Her2+ (n=12)	91,6%	-	8,4%	-	
Her2+ (n=1)	100%	-	-	-	
ТНРМЖ (n=10)	57,1%	-	42,9%	-	

Во всех сомнительных случаях отдаленного метастатического очага проводилось иммуногистохимическое исследование для определения орган принадлежности.

Безрецидивная выживаемость составила 44 месяца (min=3 мес, max = 202 мес).

В качестве контрольных точек в настоящем исследовании были использованы общая выживаемость (ОВ), безрецидивная выживаемость (БРВ), наличие и уровень экспрессии ER, PR, Her2/neu в метастатической (рецидивной)

опухоли, а также индекс пролиферативной активности метастатической (рецидивной) опухоли.

За общую выживаемость был принят временной интервал (мес) от даты верификации диагноза первичной опухоли до наступления летального исхода или достижения контрольной точки исследования (18.06.2020 г.) в зависимости от того, что наступало первым.

Безрецидивная выживаемость - временной интервал (мес) от даты верификации диагноза первичной опухоли до момента верификации местного (отдаленного) рецидива заболевания или наступления летального исхода, в зависимости от того, что наступало первым.

2.3 Методы обработки гистологического материала

Гистологическое исследование биопсийного и операционного материала выполнялось по стандартной методике. Вырезка и микроскопическое описание операционного материала проводились в соответствии с рекомендациями Колледжа американских патологоанатомов/САР (2009 г.). Фиксация и проводка кусочков ткани выполнялась с использованием автоматических систем обработки тканей (Shandon Citadel, Leica). Депарафинизированные срезы ткани окрашивались гематоксилином и эозином и заключались под покровное стекло с использованием автоматического каверстейнера Dako.

Во всех случаях гистологический диагноз был выставлен в соответствие с номенклатурой Классификации ВОЗ (2012-2019 гг.). В 26 случаях выполнен пересмотр архивных гистологических препаратов операционного материала для уточнения гистологического типа первичной опухоли.

Для оптимизации оценки лечебного патоморфоза, выраженность терапевтического ответа первичной опухоли и регионарных метастазов была пересмотрена во всех случаях, сопровождавшихся неоадьювантной терапией (n=51). Оценка лечебного патоморфоза проведена по шкале Residual Cancer Burden (классы RCB) с применением онлайн-калькулятора (www3.mdanderson.org/app/medcalc/index.cfm?pagename=jsconvert3).

2.4. Иммуногистохимический анализ опухолевой ткани

С парафиновых блоков с тканевыми образцами, изготовленных по стандартной методике на микротоме изготавливались срезы толщиной 2-4 мкм (в соответствии с рекомендациями производителя антител), которые затем фиксировали на полилизиновых (высокоадгезивных) стеклах. После проведения демаскировки антигенов и промывки стекол, выполнялось их окрашивание в автостейнере Dako Link48 (согласно стандартному протоколу, рекомендованному производителем). При окрашивании были использованы антитела к рецепторам эстрогенов (моноклональное, мышинное, клон 1D5, Dako), рецепторам прогестерона (моноклональное, мышинное, клон PgR636, Dako), Her2/neu (поликлональное, кроличье, клон c-erbB-2, Dako) и Ki-67 (клон MIB-1, Dako).

Интерпретация результатов исследования выполнялась двумя патологоанатомами в соответствии с Рекомендациями ASCO/CAP (2018) по оценке экспрессии Her2/neu в инвазивном раке молочной железы и Рекомендациями ASCO/CAP (2020) по оценке экспрессии стероидных рецепторов в инвазивном раке молочной железы. Оценка индекса Ki-67 проводилась исключительно в инвазивном компоненте опухоли, при увеличении – х400, не менее чем в 1000 клеток, включая участки с максимальным, минимальным и промежуточным уровнем экспрессии, и выражалась как среднее арифметическое значение.

При выявлении иммуногистохимической экспрессии Her2/neu в опухоли, соответствовавшей 2+, биопсийный (операционный) материал направлялся на дополнительное исследование с помощью флюоресцентной *in situ* гибридизации (FISH). При выполнении FISH-тестирования использовался диагностический набор с двухцветными зондами Visys PathVision Her2 DNA (Abbott Molecular). Интерпретация результатов исследования выполнялась тремя врачами-генетиками в соответствии с критериями Рекомендаций ASCO/CAP (2018) по оценке Her2/neu в инвазивном раке молочной железы.

Суррогатное типирование РМЖ осуществлялось на основании рекомендаций Согласительной конференции Сан-Галлен (2015-2019). В качестве

порогового значения индекса Ki-67 для дифференцирования люминальных подтипов рака был принят диапазон, равный 20-29% (Сан-Галлен, 2015). Опухоль классифицировалась как люминальный А подтип РМЖ при выявлении высокого уровня экспрессии стероидных рецепторов (уровень экспрессии PR должен быть $\geq 20\%$), отсутствии гиперэкспрессии Her2/neu, индексе Ki-67 менее 30%; как люминальный В/Her2-негативный подтип - при выявлении повышенного/высокого уровня экспрессии ER, уровне экспрессии PR менее 20%, отсутствии гиперэкспрессии Her2/neu, индексе Ki-67 в пределах диапазона 20-29% или $> 30\%$; люминальный В/Her2-позитивный подтип - при любом позитивном уровне экспрессии стероидных рецепторов (≥ 3 баллов по шкале Allred), наличии гиперэкспрессии Her2/neu, любом индексе Ki-67; Her2-позитивный подтип - при отсутствии экспрессии стероидных рецепторов (соответствует 0-2 баллам по шкале Allred), наличии гиперэкспрессии Her2/neu, любом индексе Ki-67; тройной негативный подтип - при отсутствии экспрессии стероидных рецепторов (соответствует 0-2 баллам по шкале Allred), отсутствии гиперэкспрессии Her2/neu, любом индексе Ki-67.

В дальнейшем, при сравнительном анализе экспрессии стероидных рецепторов нами учитывался только процент окрашенных клеток инвазивного рака без учета интенсивности окрашивания.

2.5 Статистическая обработка данных

Статистические расчёты и графические построения выполнены с помощью стандартной программы Microsoft Excel и программы IBM SPSS Statistics v23. Оценка статистической значимости результатов исследований проводилась с помощью ряда параметрических и непараметрических методов с 5% уровнем значимости. Для сравнения количественных данных независимых выборок проводился Mann-Whitney Test. Различия считались статистически значимыми при критерии альфа < 0.05 . Графики общей и безрецидивной выживаемости построены по методу Kaplan-Meier. Достоверность различий между группами

определялась по логарифмическому ранговому (log-rank) критерию. Различия считались статистически значимыми при $p < 0.05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ СУРРОГАТНОЕ ТИПИРОВАНИЕ ПЕРВИЧНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ЕГО СИНХРОННЫХ РЕГИОНАРНЫХ МЕТАСТАЗОВ

3.1 Результаты сравнительного суррогатного типирования первичного рака молочной железы

Анамнестические, клиничко-морфологические и иммуногистохимические параметры первичной опухоли были проанализированы у 170 больных РМЖ (T₁₋₄N₁₋₃M₀). В частности, суррогатный подтип опухоли был определен у всех 170 больных на материале кор-биопсии. В связи с полным терапевтическим ответом опухоли на неoadъювантную терапию (НАТ) в 2 случаях, повторное иммунофенотипирование первичного очага на операционном материале было выполнено у 168 больных.

Для оценки влияния проведенного неoadъювантного лечения на изменчивость экспрессии рецепторов в опухоли, 168 случаев операционного материала были разделены на группы сравнения: группа 1 (только операция) - 119 пациенток, перенесших операцию без неoadъювантной терапии, группа 2 (операция+НАТ) - 49 больных, перенесших операцию после неoadъювантной терапии.

3.1.1 Сравнительный анализ экспрессии ER и PR первичной опухолью в биопсийном и операционном материале у больных без НАТ

Проведенный анализ в группе 1 (119 больных без НАТ) показал, что выраженность экспрессии ER в биопсийном и операционном материале варьировала от 0 до 100%. Так, в материале кор-биопсии уровень экспрессии ER в 71-100% клеток РМЖ наблюдался у 80 (67,2%) пациенток, в 11-70% клеток у 22 (18,5%) больных, в 0-10% клеток у 17 (14,3%) больных, включая 16 случаев с ER-негативными опухолями.

В операционном материале экспрессия ER в 71-100% клеток РМЖ наблюдалась у 78 (65,5%) пациенток, в 11-70% клеток у 25 (21,1%) больных,

в 0-10% клеток у 16 (13,4%) больных, включая 13 (10,9%) случаев, где экспрессия ER в опухоли не была выявлена. Детальное распределение случаев уровня экспрессии ER в первичном РМЖ приведено на рисунке 8.

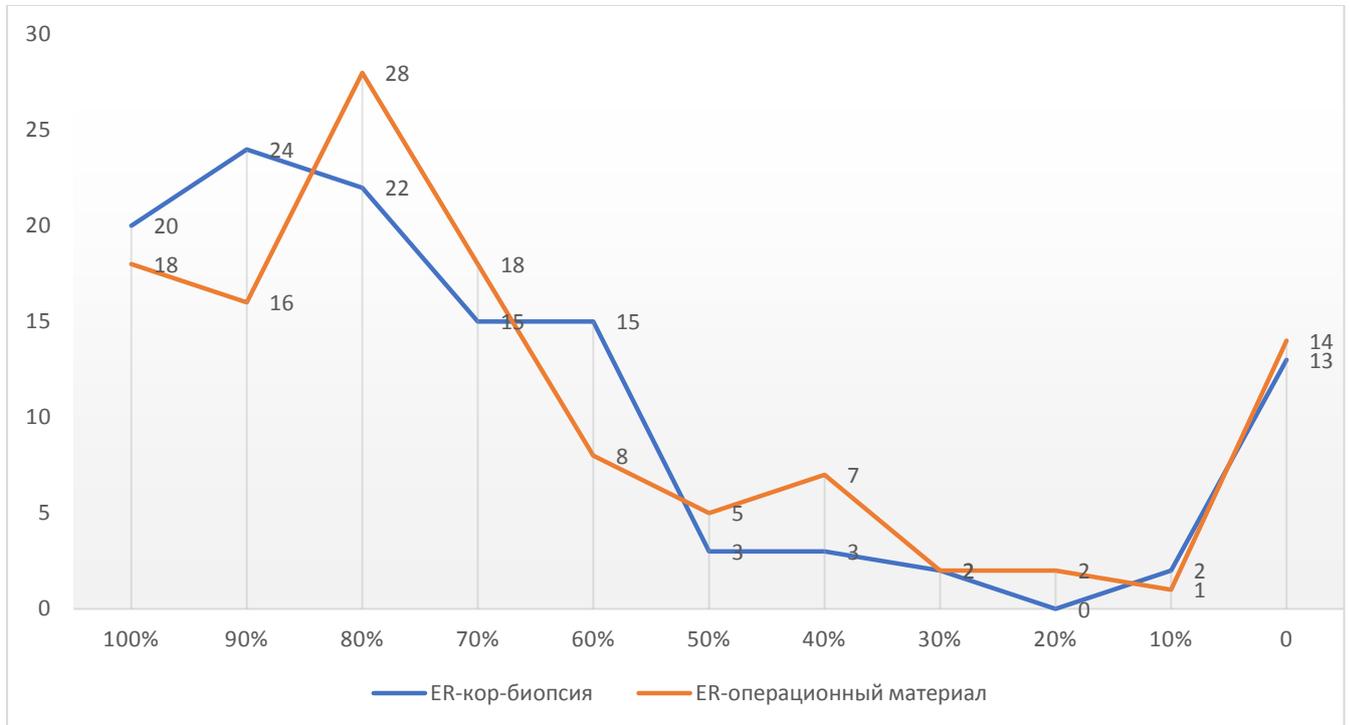


Рисунок 8 - Сравнительный анализ экспрессии ER первичной опухоли в биопсийном и операционном материале (n=119)

Стоит отметить, что у 59 (49,6%) пациенток уровень экспрессии ER в операционном материале по сравнению с кор-биопсией остался неизменным. У 23 (19,3%) больных отмечался более высокий уровень экспрессии ER: в 4 (17,4%) случаях уровень экспрессии ER в операционном материале увеличился на 5%, у 10 (43,5%) больных - на 10%, у одной (4,3%) пациентки - на 15%, у 7 (30,5%) больных - на 20%, у одной (4,3%) пациентки - на 25%. В свою очередь, у 37 (31,1%) пациенток был выявлен более низкий уровень экспрессии ER в операционном материале. Так, у 3 (8,1%) больных уровень экспрессии ER в операционном материале уменьшился на 5%, у 21 (56,8%) больной - на 10%, у 8 (21,6%) больных - на 20%, у 1 (2,7%) больной - на 25%, у 2 (5,4%) больных - на 30%, у 1 (2,7%) больной - на 35%, у 1 (2,7%) больной - на 40% (Таблица 14).

Таблица 14 - Изменение экспрессии ER в операционном материале (n=60)

Рост показателя	Число больных (n=23)	19,3%
5 %	4	17,4%
10%	10	43,5%
15%	1	4,3%
20%	7	30,5%
25%	1	4,3%
Снижение показателя	Число больных (n=37)	31,1%
5%	3	8,1%
10%	21	56,8%
20%	8	21,6%
25%	1	2,7%
30%	2	5,4%
35%	1	2,7%
40%	1	2,7%

Анализ данных показал, что уровень экспрессии ER увеличивался в операционном материале в среднем на 13,1% (min=5,0%, max=25,0%), а уменьшался - на 14,7% (min=5,0%, max=40,0%) по сравнению с кор-биопсией.

При анализе уровня экспрессии PR в исследуемой группе у 119 больных без НАХТ в ходе сравнительного иммуногистохимического исследования кор-биопсии и операционного материала первичного опухолевого очага, степень выраженности экспрессии PR также варьировала от 0 до 100%.

Так, в материале кор-биопсии уровень экспрессии PR в 71-100% клеток РМЖ наблюдался у 80 (67,2%) пациенток, в 11-70% клеток у 22 (18,5%) больных, в 0-10% клеток у 17 (14,3%) больных, включая 15 случаев PR-негативных опухолей. В операционном материале экспрессия PR в 71-100% клеток РМЖ наблюдалась у 52 (43,7%) пациенток, в 11-70% клеток у 36 (30,2%) больных, в 0-10% клеток у 21 (17,6%) больных, в т.ч. в 17 (14,3%) случаях экспрессия PR в

опухоли не была выявлена. Детальное распределение случаев уровня экспрессии PR в первичном РМЖ приведено на рисунке 9.

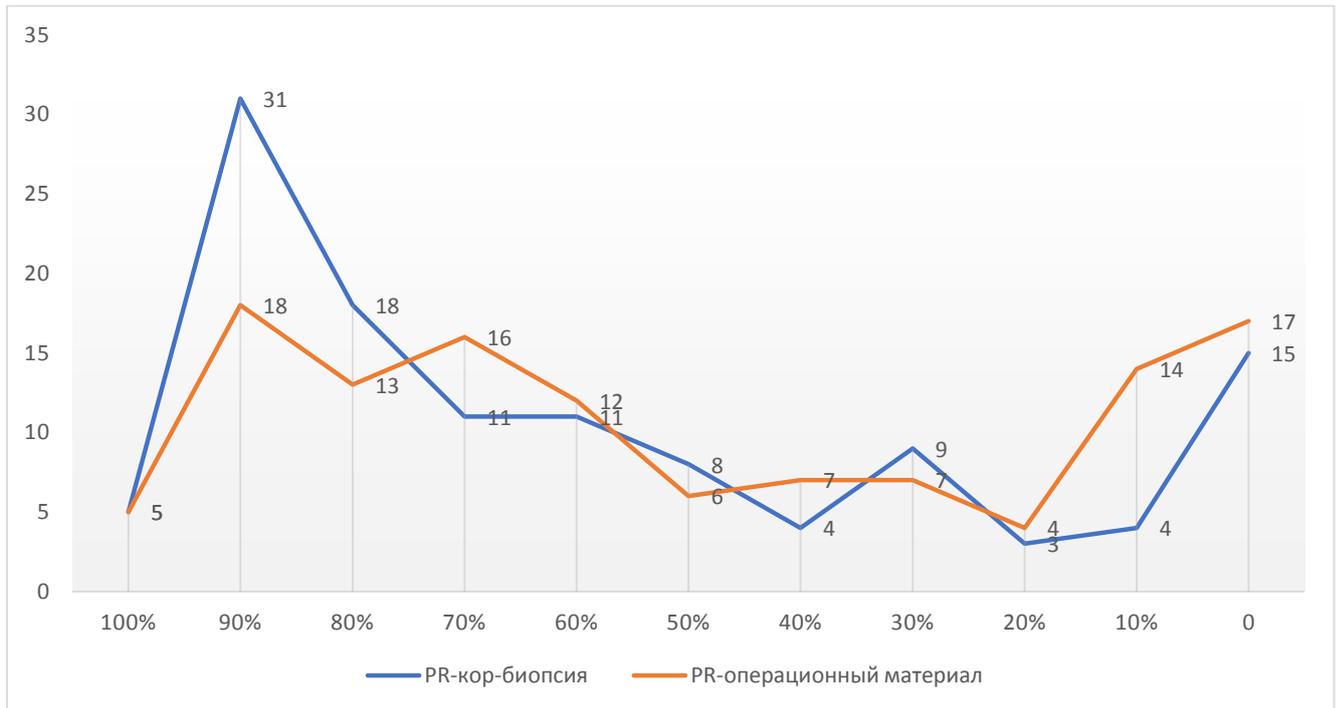


Рисунок 9 - Сравнительный анализ экспрессии PR первичной опухоли в биопсийном и операционном материале (n=119)

При анализе данных, в 53 (44,5%) случаях уровень экспрессии PR в операционном материале по сравнению с кор-биопсией остался неизменным. У 10 (8,4%) больных отмечен более высокий уровень экспрессии PR: у одной (10,0%) больной уровень экспрессии PR в операционном материале увеличился на 5%, у 4 (40,0%) больных - на 10%, еще у 4 (40,0%) - на 20 %, в одном случае (10,0%) - на 30%. У 56 (47,1%) пациенток был выявлен более низкий уровень экспрессии PR в операционном материале: у 2 (3,6%) больных экспрессия PR в операционном материале уменьшилась на 5%, у 18 (32,1%) больных – на 10%, в одном (1,8%) случае – на 12%, у 3 (5,4%) – на 15%, у 15 (26,7%) - на 20%, в 1 (1,8%) случае - на 22%, в 1 (1,8%) - на 25%, в 8 (14,2%) - на 30%, в 3 (5,4%) - на 40%, в 1 (1,8%) – на 50%, в 3 (5,4%) случаях - на 60% (Таблица 15).

Таблица 15 - Изменение экспрессии PR в операционном материале (n=66)

Рост показателя	Число больных (n=10)	8,4%
5 %	1	10,0%
10%	4	40,0%
20%	4	40,0%
30%	1	10,0%
Снижение показателя	Число больных (n=56)	47,1%
5%	2	3,6%
10%	18	32,1%
12%	1	1,8%
15%	3	5,4%
20%	15	26,7%
22%	1	1,8%
25%	1	1,8%
30%	8	14,2%
40%	3	5,4%
50%	1	1,8%
60%	3	5,4%

Таким образом, уровень экспрессии PR в опухоли увеличился в операционном материале в среднем на 17,5% (min=5,0%, max=30,0%), а уменьшился в среднем на 15,7% (min=5,0%, max=60,0%) по сравнению с кор-биопсией.

3.1.2 Сравнительный анализ экспрессии Her2/neu первичной опухоли в биопсийном и операционном материале у больных без НАТ

При сравнительном анализе экспрессии Her2/neu в кор-биопсии и операционном материале первичной опухоли у 119 больных без НАХТ было обнаружено, что в препаратах кор-биопсии у 7 (5,9%) пациенток выявлена гиперэкспрессия Her2/neu (+3), у 11 (9,2%) больных - экспрессия Her2/neu имела

неопределенный характер (+2), в 66 (55,5%) случаях было выявлено слабое неполное окрашивание клеток (+1), у 35 (29,4%) больных экспрессия Her2/neu в опухоли отсутствовала. У 3 из 11 больных (экспрессия 2+) амплификация данного гена была подтверждена при FISH-исследовании. Таким образом, общее число больных с гиперэкспрессией/амплификацией Her2-позитивными первичными опухолями при анализе материала кор-биопсии составило 10 (8,4%) случаев.

При повторном исследовании экспрессии Her2/neu в операционном материале у всех 10 больных была подтверждена гиперэкспрессия Her2/neu (+3). Кроме того, гиперэкспрессия Her2/neu была выявлена у 2 пациенток, чьи опухоли при исследовании кор-биопсии были Her2-негативными. У 14 больных иммуногистохимическая экспрессия Her2/neu носила неопределенный характер (+2). В 49 случаях уровень экспрессии Her2/neu соответствовал +1, у 39 больных в операционном материале экспрессия Her2/neu отсутствовала (0) (Рисунок 10).

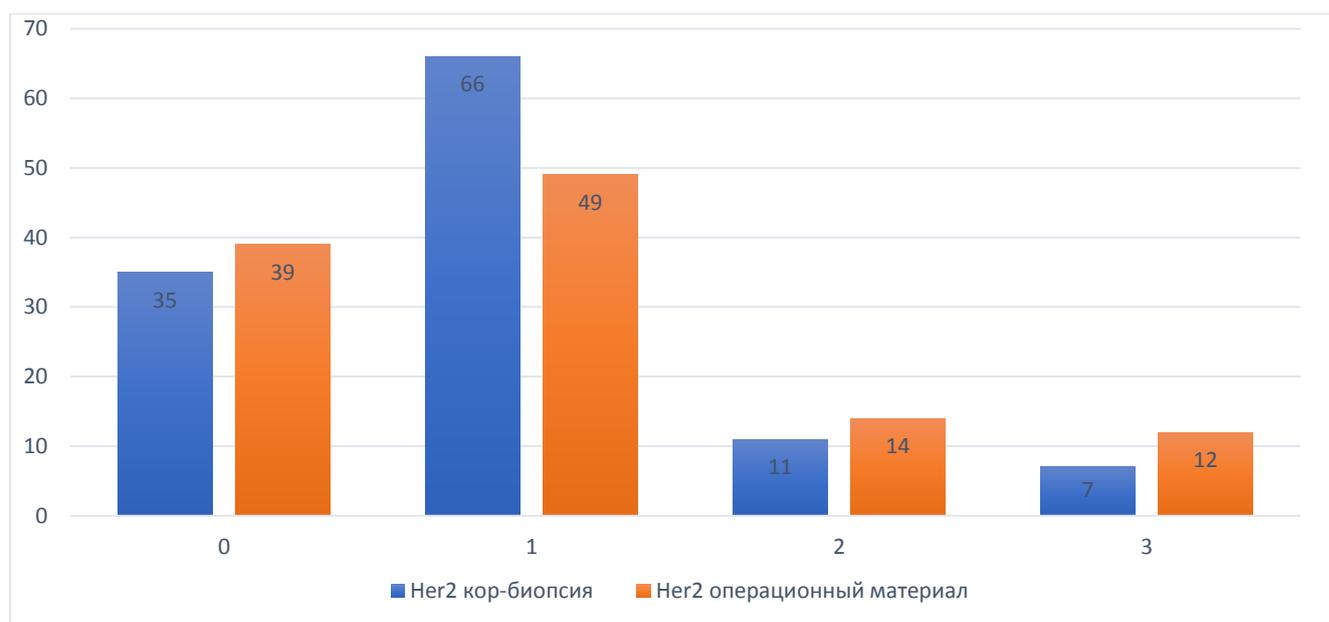


Рисунок 10 - Сравнительный анализ экспрессии Her2/neu первичной опухоли в биопсийном и операционном материале (n= 119)

При выполнении FISH-исследования у 4 из 14 больных амплификация Her2/neu была подтверждена. Общее число больных с гиперэкспрессией/амплификацией Her2/neu в первичной опухоли при анализе операционного материала составило 16 (13,4%) случаев.

3.1.3 Сравнительный анализ пролиферативной активности первичной опухоли в биопсийном и операционном материале у больных без НАХТ

При анализе пролиферативной активности первичной опухоли у 119 больных в кор-биопсии и операционном материале, было обнаружено значительное разнообразие индекса Ki-67. Наибольшую группу при повторном определении пролиферативной активности в операционном материале в опухолевой ткани составили больные (50 пациентов – 42,0%), у которых индекс Ki-67 находился в диапазоне 10-20% (Рисунок 11).

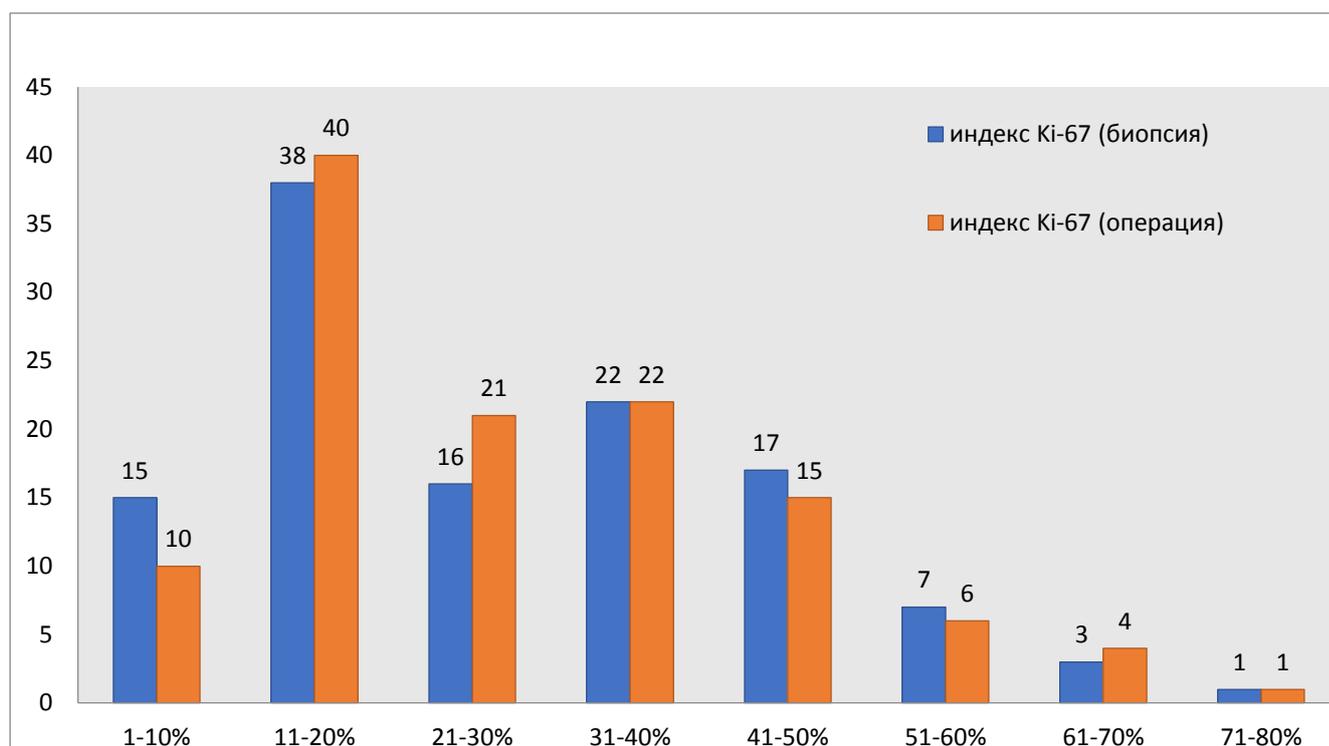


Рисунок 11 - Распределение пролиферативной активности первичной опухоли в биопсийном и операционном материале (n=119)

У 32 (26,9%) пациенток показатель пролиферативной активности первичной опухоли в операционном материале оставался неизменным по сравнению с материалом кор-биопсии. В 49 (41,2%) случаях обнаружен более высокий показатель индекса Ki-67 в опухоли на операционном материале: у 35 (71,4%) больных уровень Ki-67 в опухолевой ткани на операционном материале был выше на 5%, у 5 (10,2%) больных - на 10 %, у 6 (12,2%) больных - на 15%, в 3 (6,2%) случаях - на 20%. Тем не менее, у 38 (31,9%) больных было отмечено снижение

пролиферативной активности опухоли в операционном материале по сравнению с кор-биопсией: в 32 (84,2%) случаях уровень Ki-67 стал ниже на 5%, в 2 (5,3%) случаях – на 10%, в 4 (10,5%) случаях - на 15% (Таблица 16).

Таблица 16 - Изменения индекса Ki-67 в операционном материале (n=87)

Рост показателя	Число больных (n=49)	41,2%
Диапазон отклонений	1-20%	
Среднее значение	7,7%	
Медиана	8,0%	
Снижение показателя	Число больных (n=38)	31,9%
Диапазон отклонений	1-15%	
Среднее значение	6,3%	
Медиана	7,0%	

Заключение. В ходе анализа молекулярно-биологических характеристик первичного опухолевого очага в кор-биопсии и операционном материале, были выявлены расхождения в распределении суррогатного подтипа опухоли. Причем, наибольший уровень изменчивости суррогатного подтипа РМЖ был зафиксирован среди «рецептор-обогащенных» опухолей (люминальная группа): на 19,3% уменьшилась доля ЛюмА подтипа, на 13,1% и 85,7% выросла доля ЛюмВ/Her2- и ЛюмВ/Her2+ рака соответственно. Тогда как, максимальная стабильность экспрессии маркеров отмечалась среди «рецептор-обедненных» опухолей (ТНРМЖ и нелюминальный рак с гиперэкспрессией Her2/neu) – уровень изменчивости рецепторного статуса в обеих группах составил 0%.

В целом, повторная оценка экспрессии Her2/neu в первичной опухоли на операционном материале позволила выявить 6 новых случаев с гиперэкспрессией маркера, что соответствовало 60%-ному приросту Her2-позитивных карцином по сравнению с результатами исследования кор-биопсии.

Среди 119 больных при сравнительном анализе суррогатного подтипа первичной опухоли в кор-биопсии было выявлено, что в 57 (47,8%) случаях

молекулярно-биологические характеристики первичного опухолевого очага соответствовали ЛюмА подтипу, у 38 (31,9%) больных - ЛюмВ/Her2-, у 7 (5,9%) - ЛюмВ/Her2+, у 14 (11,9%) – ТНРМЖ, у 3 (2,5%) больных - Her2-позитивному подтипу. Однако при повторном иммунофенотипировании опухоли на операционном материале было обнаружено, что только в 48 (40,3%) случаях молекулярно-биологические характеристики первичного опухолевого очага соответствовали ЛюмА подтипу, у 41 (34,4%) больных - ЛюмВ/Her2-, у 13 (10,9%) больных - ЛюмВ/Her2+. Доли ТНРМЖ и Her2-позитивного подтипов рака остались неизменными (Таблица 17).

Таблица 17 - Распределение суррогатных подтипов первичной опухоли в биопсийном и операционном материале (n=119)

Кор-биопсия		Операционный материал	
Люминальный А	57 (47,8%)	Люминальный А	48 (40,3%)
Люминальный В Her2 -	38 (31,9%)	Люминальный В Her2 -	43 (34,4%)
Люминальный В Her2 +	7 (5,9%)	Люминальный В Her2 +	13 (10,9%)
Her 2 подтип	3 (2,5%)	Her 2 подтип	3 (2,5%)
ТНРМЖ	14 (11,9%)	ТНРМЖ	14 (11,9%)

В 9 наблюдениях группы ЛюмА молекулярно-биологические характеристики первичной опухоли изменились в операционном материале на ЛюмВ/Her2-, из них в 6 случаях высокий уровень экспрессии ER и PR, статус Her2/neu первичной опухоли в кор-биопсии и операционном материале были идентичными, однако индекс Ki-67 был выше в операционном материале на 15%, а у 3 больных – различий в статусе Her2/neu и индексе Ki-67 при сравнительном анализе первичной опухоли в кор-биопсии и операционном материале не выявлено, но стоит отметить, что уровень экспрессии ER и PR в операционном материале не превышал 20%; в одном случае ЛюмВ/Her2- рака (кор-биопсия) в операционном материале отмечена конверсия в ТНРМЖ: статус Her2/neu и индекс Ki-67 остались прежними, но экспрессия стероидных гормонов в

операционном материале была утеряна, однако напротив, в 1 наблюдение – молекулярно-биологические характеристики опухоли в кор-биопсии соответствовали ТНРМЖ, но при повторном иммунофенотипирование первичной опухоли в операционном материале была обнаружена экспрессия ER, а статус Her2/neu и индекс Ki-67 остались прежними, что соответствует ЛюмВ/Her2- подтипу. В 6 наблюдениях группы ЛюмВ/Her2- суррогатный подтип первичной опухоли изменился в операционном материале на ЛюмВ/Her2+ в связи с выявленной гиперэкспрессией Her2/neu (+3), однако уровень экспрессии ER и PR, Ki67 остались неизменными по сравнению с данными кор-биопсии (Таблица 18).

Таблица 18 - Сравнительная оценка молекулярно-биологических характеристик первичной опухоли в биопсийном и операционном материале (n=17)

Кор-биопсия	Операционный материал
Люминальный А (ER=95%, PR=80%, Her2/neu 0, Ki67=20%)	Люминальный В Her2 негативный (ER=90%, PR=60%, Her2/neu 0, Ki67=42%)
Люминальный А (ER=80%, PR=50%, Her2/neu 0, Ki67=20%)	Люминальный В Her2 негативный (ER=70%, PR=50%, Her2/neu 0, Ki67=35%)
Люминальный А (ER=100%, PR=90%, Her2/neu 0, Ki67=20%)	Люминальный В Her2 негативный (ER=95%, PR=45%, Her2/neu 0, Ki67=35%)
Люминальный А (ER=60%, PR=40%, Her2/neu +1, Ki67=20%)	Люминальный В Her2 негативный (ER=60%, PR=18%, Her2/neu +1, Ki67=35%)

Продолжение таблицы 18

Люминальный А (ER=70%, PR=70%, Her2/neu +1, Ki67=15%)	➔	Люминальный В Her2 негативный (ER=70%, PR=50%, Her2/neu +1, Ki67=30%)
Люминальный А (ER=70%, PR=50%, Her2/neu 0, Ki67=15%)	➔	Люминальный В Her2 негативный (ER=60%, PR=50%, Her2/neu 0, Ki67=30%)
Люминальный А (ER=40%, PR=30%, Her2/neu +1, Ki67=20%)	➔	Люминальный В Her2 негативный (ER=30%, PR=18%, Her2/neu +1, Ki67=20%)
Люминальный А (ER=60%, PR=30%, Her2/neu 0, Ki67=15%)	➔	Люминальный В Her2 негативный (ER=20%, PR=10%, Her2/neu 0, Ki67=26%)
Люминальный А (ER=95%, PR=40%, Her2/neu 0, Ki67=10%)	➔	Люминальный В Her2 негативный (ER=60%, PR=0, Her2/neu 0, Ki67=10%)
Люминальный В (ER=90%, PR=60%, <u>Her2/neu +1</u> , Ki67=30%)	➔	Люминальный В Her2 позитивный (ER=80%, PR=50%, <u>Her2/neu +3</u> , Ki67=30%)
Люминальный В (ER=60%, PR=40%, <u>Her2/neu +1</u> , Ki67=32%)	➔	Люминальный В Her2 позитивный (ER=50%, PR=40%, <u>Her2/neu +3</u> , Ki67=35%)
Люминальный В Her2 негативный (ER=70%, PR=30%, <u>Her2/neu +1</u> , Ki67=30%)	➔	Люминальный В Her2 позитивный (ER=70%, PR=0,5%, <u>Her2/neu +3</u> , Ki67=30%)

Люминальный В Her2 негативный (ER=80%, PR=10%, <u>Her2/neu +1</u> , Ki67=45%)	→	Люминальный В Her2 позитивный (ER=85%, PR=2%, <u>Her2/neu +3</u> , Ki67=35%)
Люминальный В Her2 негативный (ER=80%, PR=80%, <u>Her2/neu +1</u> , Ki67=50%)	→	Люминальный В Her2 позитивный (ER=80%, PR=70%, <u>Her2/neu +3</u> , Ki67=55%)
Люминальный В Her2 негативный (ER=80%, PR=80%, <u>Her2/neu +1</u> , Ki67=60%)	→	Люминальный В Her2 позитивный (ER=80%, PR=70%, <u>Her2/neu +3</u> , Ki67=60%)
Люминальный В Her2 негативный (<u>ER=10%</u> , <u>PR=0%</u> , Her2/neu 0, Ki67=80%)	→	Тройный негативный (<u>ER=0</u> , <u>PR=0</u> , Her2/neu 0, Ki67=80%)
Тройный негативный (<u>ER=0</u> , <u>PR=0</u> , Her2/neu 0, Ki67=30%)	→	Люминальный В Her2 негативный (<u>ER=20%</u> , <u>PR=0%</u> , Her2/neu 0, Ki67=30%)

Таким образом, полученные данные при повторном иммунофенотипировании опухоли на операционном материале стали причиной изменения выбора групп лекарственных препаратов АХТ. Так, в 7,6% случаях планируемая адъювантная гормонотерапия была дополнена адъювантной химиотерапией препаратами из группы антрациклинов и таксанов, в 0,8% случаях после проведённой адъювантной химиотерапии комбинацией антрациклинов и таксанов, дополнительно назначена адъювантная гормонотерапия. В 5,1% случаях к планируемому адъювантному лекарственному лечению добавлена анти-Her2 терапия.

У остальных 102 (85,7%) больных РМЖ суррогатный подтип первичной опухоли в операционном материале либо оставался неизменным, либо незначительно отличался от результатов исследования кор-биопсии.

3.2 Результаты суррогатного типирования регионарных метастазов в операционном материале у больных без НАТ

При исследовании операционного материала в группе 119 больных без НАТ в 116 случаях были обнаружены метастазы в регионарных лимфатических узлах.

3.2.1 Сравнительный анализ экспрессии ER и PR в первичной опухоли и регионарном метастазе у больных без НАТ

При анализе уровня экспрессии ER в операционном материале метастаза в аксиллярном лимфоузле было обнаружено, что экспрессия маркера в 71-100% клеток РМЖ наблюдалась у 75 (64,6%) пациенток, в 11-70% клеток у 24 (20,7%) больных, в 1-10% клеток ни в одном из случаев, в 17 (14,7%) случаях экспрессия ER в метастазе отсутствовала (Рисунок 12).

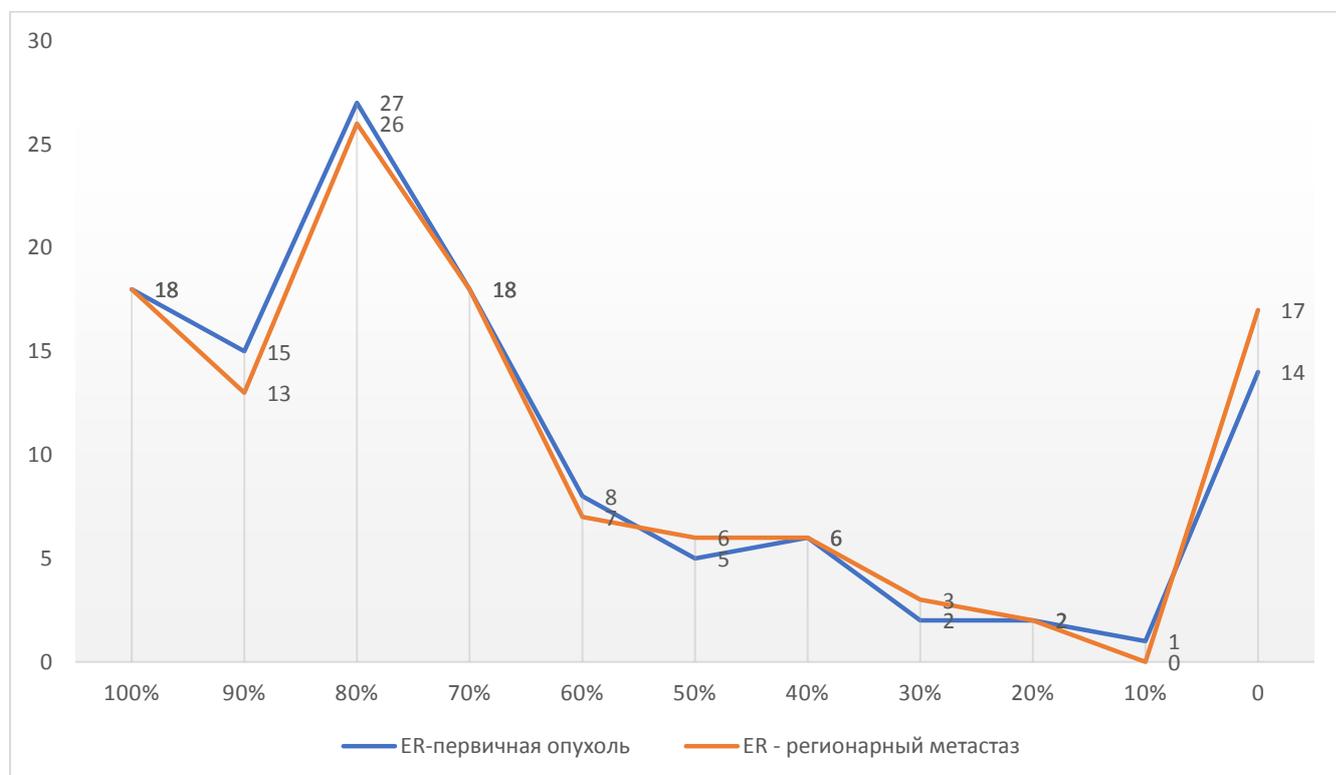


Рисунок 12 - Сравнительный анализ экспрессии ER в первичной опухоли и регионарных метастазах (операционный материал, n=116)

Отмечено, что у 46 (39,7%) больных уровень экспрессии ER в регионарном метастазе был выше, чем в первичной опухоли: у 37 (80,4%) больных - выше на 5%, у 9 (19,6%) - на 10%. Тем не менее, у 18 (31,9%) пациенток уровень экспрессии ER в регионарном метастазе был ниже по сравнению с первичной опухолью: у 14 (77,8%) больных – ниже на 5%, у 3 (16,7%) - на 10%, у одной (5,5%) больной - на 20%. В остальных 52 (28,4%) случаях уровень экспрессии ER в регионарном метастазе оставался прежним (таблица 19). Из представленного графика видно, что общее распределение экспрессии ER в первичном очаге и регионарном метастазах носит практически симметричный характер. Так, уровень экспрессии ER увеличивался в регионарном метастазе в среднем на 4,3% (min=5,0%, max=10,0%), а уменьшался - на 2,7% (min=5,0%, max=20,0%) по сравнению с первичной опухолью (Таблица 19).

Таблица 19 - Изменение экспрессии ER в регионарном метастазе (операционный материал, n=64)

Рост показателя	Число больных (n=46)	39,7%
5 %	37	80,4%
10%	9	19,6%
Снижение показателя	Число больных (n=18)	31,9%
5%	14	77,8%
10%	3	16,7%
20%	1	5,5%

Сравнительный анализ уровня экспрессии PR в синхронных регионарных метастазах показал, что экспрессия маркера в 71-100% клеток РМЖ наблюдалась у 40 (34,5%) пациенток, в 11-70% клеток у 48 (41,3%) больных, в 1-10% клеток у 7 (6,0%) пациенток, в 21 (14,7%) случае экспрессия PR в метастазе отсутствовала (Рисунок 13).

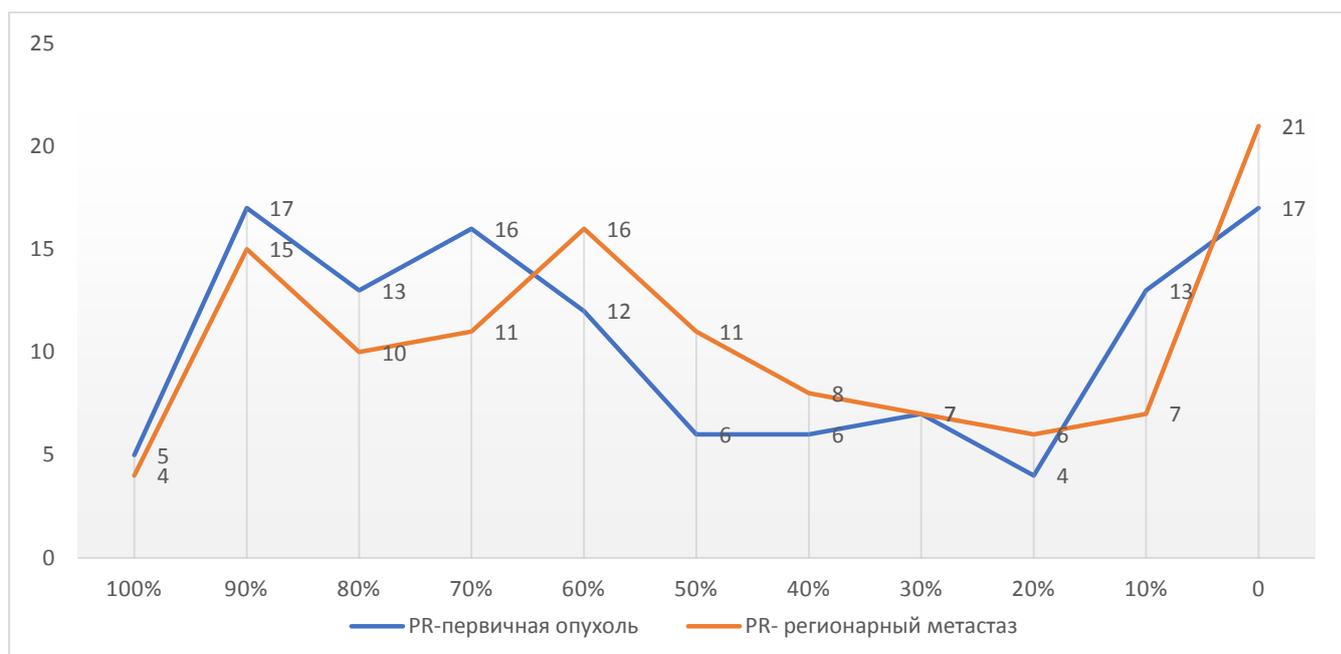


Рисунок 13 - Сравнительный анализ уровня экспрессии PR в первичном очаге и регионарных метастазах (операционный материал, n=116)

Таким образом, у 15 (12,9%) больных выявлен более высокий уровень экспрессии PR: в 9 (60,0%) случаях уровень экспрессии PR в аксиллярном метастазе увеличился на 5%, в 3 (26,7%) случаях - на 10%, в 2 (13,3%) случаях - на 15%. В свою очередь, у 14 (12,1%) больных было отмечено снижение уровня экспрессии PR в регионарном метастазе: у 10 (71,4%) больных - на 5 %, в 3 (21,4%) случаях – на 10%, у одной (7,2 %) пациентки – на 15%. В оставшихся 87 (75,0%) случаях уровень экспрессии PR в регионарном метастазе по сравнению с первичной опухолью остался неизменным. Из представленного выше графика видно, что для кривой распределения экспрессии PR в регионарном метастазе характерно небольшое смещение в направлении нулевой отметки по сравнению с кривой для первичной опухоли. При этом, средние значения и медианы экспрессии ER в первичной опухоли (сред. - 65,0%, мед. – 80,0%) и регионарном метастазе (сред. - 64,0%, мед. – 70,0%) не демонстрировали заметных различий; средние значения и медианы экспрессии PR в первичной опухоли и регионарном метастазе составляли 47,0% (мед. – 50,0%) и 46,0% (мед. – 50,0%) соответственно (Таблица 20).

Таблица 20 - Изменение экспрессии PR в регионарном метастазе (операционный материал, n=29)

Рост показателя	Число больных (n=15)	12,9%
5 %	9	60,0%
10%	4	26,7%
15%	2	13,3%
Снижение показателя	Число больных (n=14)	12,1%
5%	10	71,4%
10%	3	21,4%
15%	1	7,2 %

В целом, уровень экспрессии PR увеличивался в регионарном метастазе в среднем на 7,5% (min=5,0%, max=15,0%), а уменьшался в среднем на 4,7% (min=5,0%, max=15,0%) по сравнению с первичным очагом.

3.2.2 Сравнительный анализ экспрессии Her2/neu и пролиферативной активности в первичной опухоли и регионарных метастазах в группе больных без НАТ

При анализе экспрессии Her2/neu в регионарных метастазах у 116 больных во всех 16 (13,8%) случаях была подтверждена гиперэкспрессия Her2/neu (+3), в оставшихся 100 (86,2%) случаях гиперэкспрессия Her2/neu отсутствовала. Таким образом, уровни экспрессии Her2/neu в первичной опухоли и регионарных метастазах были идентичны.

При анализе пролиферативной активности в регионарных метастазах у 116 больных, было обнаружено, что в 5 (3,4%) случаях индекс Ki-67 был выше по сравнению с первичной опухолью: в 2 (40,0%) случаях – на 20%, в 2 (40,0%) случаях - на 10%, в 1 (20,0%) случае - на 9%. Тогда как, в 6 (5,2%) случаях отмечалось снижение индекса Ki-67 в регионарном метастазе: в 4 (66,7%) случаях - на 5%, в 2 (33,3%) случаях - на 10%. У остальных 106 (91,6%) больных уровень

пролиферативной активности остался идентичным первичному очагу (Рисунок 14).

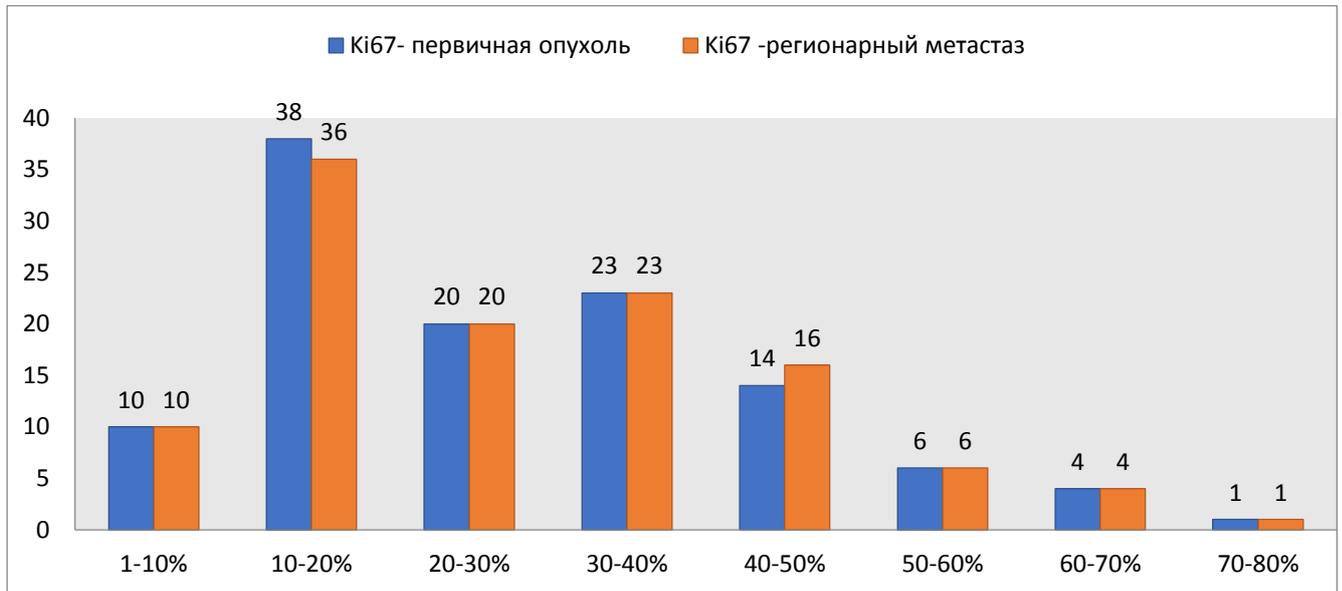


Рисунок 14 - Распределение пролиферативной активности в первичных опухолях и регионарных метастазах (операционный материал, абс.)

Заключение. Результаты исследования позволяют говорить, что у 110 (94,8%) больных основные молекулярно-биологические характеристики первичной и метастатической опухоли либо полностью совпадали, либо незначительно отличались. В целом, экспрессия ER, PR, Her2/neu, а также пролиферативная активность между первичным и метастатическим очагами демонстрировали заметную стабильность.

Тем не менее, в 6 (5,2%) случаях были отмечены значимые отличия в суррогатных подтипах первичного очага и метастаза. Так, в 5 наблюдениях из группы ЛюмА молекулярно-биологические характеристики первичной опухоли изменились в регионарных метастазах на ЛюмВ/Her2-, уровень экспрессии стероидных гормонов, статус Her2/neu в первичной опухоли и метастазах лимфатических узлах были идентичными, однако индекс Ki-67, в первичной опухоли варьировавший в диапазоне 15-20%, в регионарных метастазах имел среднее значение 41%. В одном случае ЛюмВ/Her2+ РМЖ при сохранности статуса Her2/neu и индекса Ki-67 полностью утратил в регионарном метастазе экспрессию стероидных рецепторов (Таблица 21).

Таблица 21 - Конверсия суррогатных подтипов в регионарном метастатическом очаге (n=6)

Первичная опухоль	Регионарный метастаз
Люминальный А (ER=70%, PR=50%, Her2/neu +1, Ki67=20%)	Люминальный В Her2 негативный (ER=80%, PR=40%, Her2/neu+1, Ki67=50%)
Люминальный А (ER=80%, PR=25%, Her2/neu +1, Ki67=20%)	Люминальный В Her2 негативный (ER=80%, PR=10%, Her2/neu+1, Ki67=50%)
Люминальный А (ER=80%, PR=50%, Her2/neu +1, Ki67=16%)	Люминальный В Her2 негативный (ER=70%, PR=40%, Her2/neu+1, Ki67=35%)
Люминальный А (ER=80%, PR=50%, Her2/neu +1, Ki67=15%)	Люминальный В Her2 негативный (ER=80%, PR=50%, Her2/neu +1, Ki67=35%)
Люминальный А (ER=70%, PR=70%, Her2/neu 0, Ki67=20%)	Люминальный В Her2 негативный (ER=80%, PR=80%, Her2/neu 0, Ki67=35%)
Люминальный В Her2 позитивный (ER=20%, PR=5%, Her2/neu +3 , Ki67=40%)	Her2 подтип (ER=0, PR=0, Her2/neu +3, Ki67=45%)

Учитывая дополнительное иммунофенотипирование метастатических очагов РМЖ в регионарных лимфоузлах, во всех 5,2% случаях была проведена неоадьювантная химиотерапия в стандартных режимах комбинацией антрациклинов и таксанов в полном объёме, с последующей гормонотерапией.

3.3 Результаты суррогатного типирования резидуальной опухоли у больных после НАТ

3.3.1 Анализ молекулярно-биологических характеристик первичной опухоли в кор-биопсии у больных группы НАТ

Проведенный анализ молекулярно-биологических характеристик биопсийного материала первичной опухоли у 51 больной до проведения НАТ показал, что экспрессия ER и PR в 71-100% клеток РМЖ наблюдалась у 33 (64,7%) и 19 (37,2%) пациенток, в 11-70% клеток рака - у 10 (19,6%) и 18 (35,3%) больных, в 0-10% клеток - у 0 и 4 (7,8%) больных, экспрессия обоих рецепторов отсутствовала в 8 (15,6%) и 10 (19,6%) случаях соответственно (Рисунок 15).

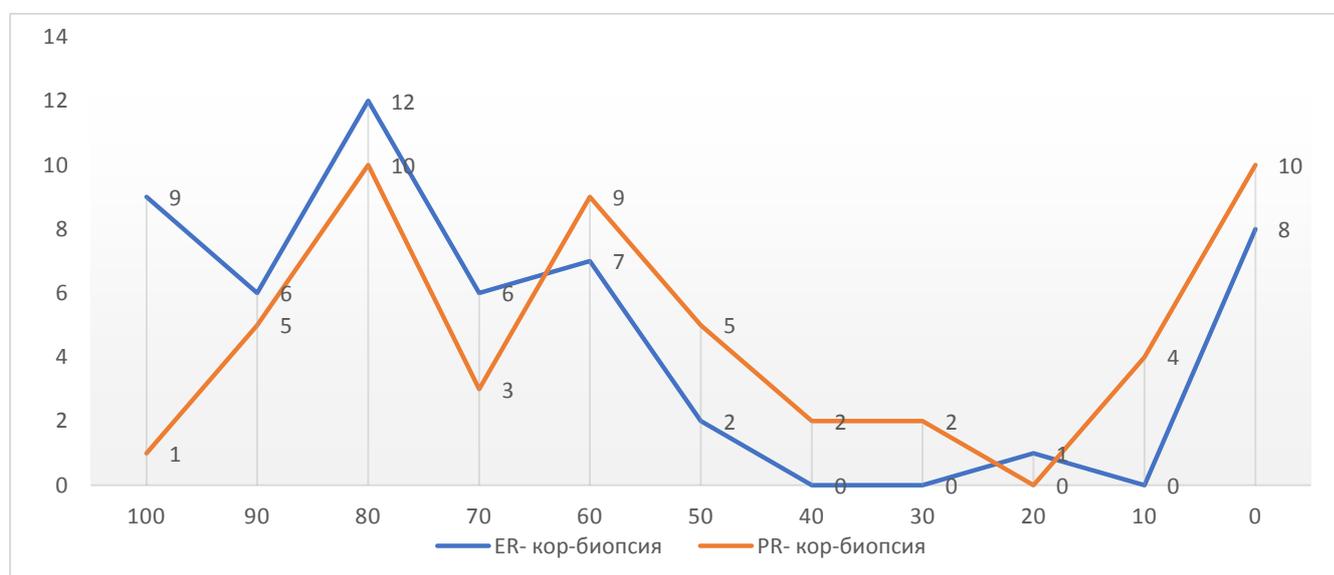


Рисунок 15 - Уровень экспрессии стероидных рецепторов первичной опухолью у больных группы НАТ (кор-биопсия, n=51)

Из представленного рисунка видно, что кривая распределения уровня экспрессии ER в первичной опухоли до начала лечения стремится в направлении 100%, тогда как кривая распределения уровня экспрессии PR сдвигается к нулевой отметке. Таким образом, график отображает заимствованный опухолью физиологический механизм неравномерной экспрессии стероидных рецепторов – экспрессия PR в опухолевой ткани имеет меньшую выраженность и более позднюю экспрессию.

При анализе экспрессии Her2/neu в биопсийном материале первичного очага в 10 (19,6%) случаях была выявлена гиперэкспрессия (+3), в 13 случаях экспрессия Her2/neu носила неопределенный характер (+2), в 21 случаях отмечено слабое неполное окрашивание клеток рака (+1) и у 7 больных в экспрессия Her2/neu отсутствовала в опухоли. У одной из 13 больных (ИГХ экспрессия 2+) амплификация Her2/neu была подтверждена при FISH-исследовании. Таким образом, общее число случаев с гиперэкспрессией/амплификацией Her2/neu при оценке биопсийного материала первичной опухоли составило 11 (21,5%) случаев (Рисунок 16).

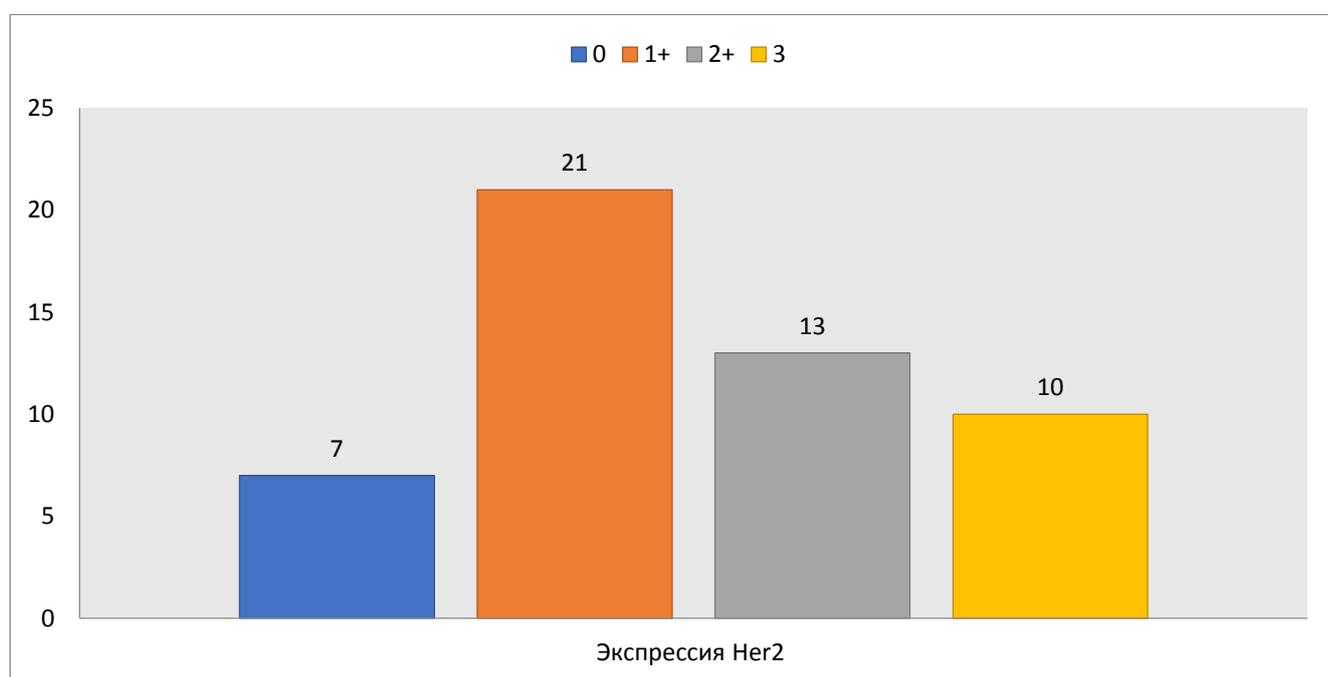


Рисунок 16 - Иммуногистохимическая экспрессия Her2/neu в первичной опухоли у больных группы НАТ (кор-биопсия, n=51)

При анализе пролиферативной активности опухоли в кор-биопсии было выявлено, что Ki-67 демонстрировал заметное разнообразие в диапазоне от 10% до 90%. Наибольшую группу составили больные (20 человек – 39,2%) с индексом Ki-67 в диапазоне 31-50% (Рисунок 17).

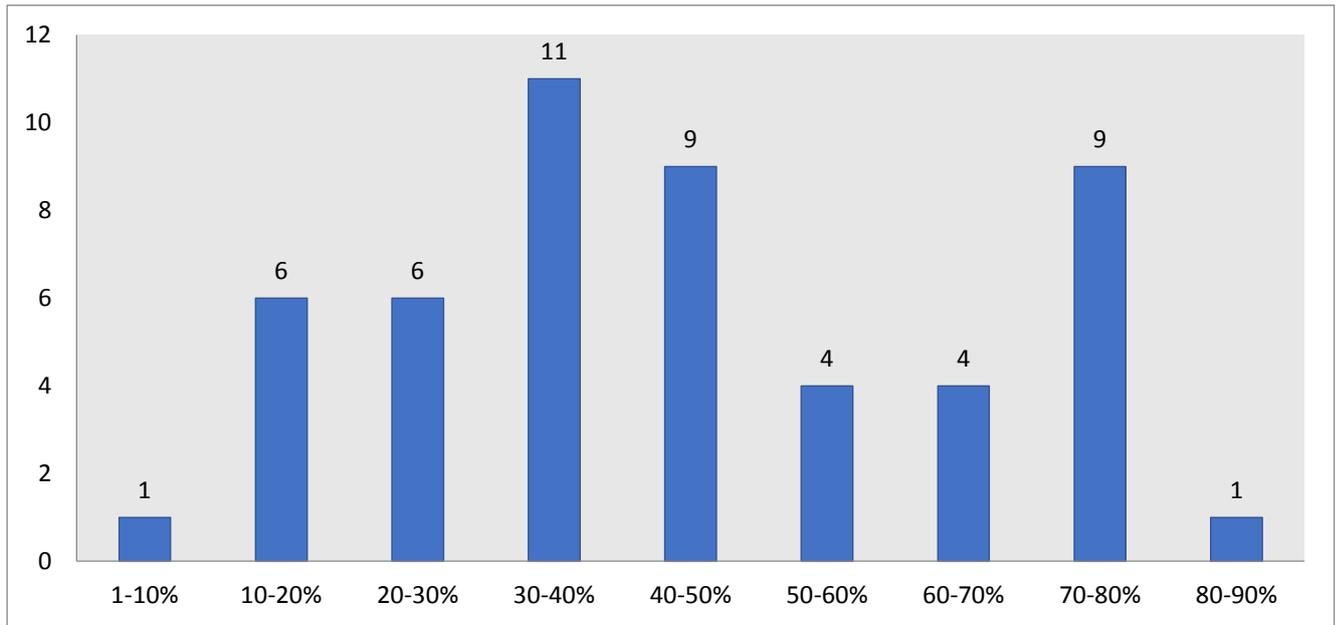


Рисунок 17 - Проллиферативная активность первичной опухоли у больных группы НАТ (кор-биопсия, n=51)

При иммунофенотипировании первичной опухоли в материале кор-биопсии 51 больной в 8 (15,8%) случаях молекулярно-биологические характеристики РМЖ соответствовали ЛюмА подтипу, в 28 (54,9%) – ЛюмВ/Her2-, в 7 (13,7%) – ЛюмВ/Her2+, в 4 (7,8%) – ТНРМЖ, в 4 (7,8%) - Her2+ подтипу (Таблица 22).

Таблица 22 - Суррогатный подтип первичной опухоли (кор-биопсия, n=51)

Люминальный А	8 (15,8%)
Люминальный В/Her2 негативный	28 (54,9%)
Люминальный В/Her2 позитивный	7 (13,7%)
Her2-позитивный	4 (7,8%)
ТНРМЖ	4 (7,8%)

Полученные данные наглядно демонстрируют, что большинство случаев РМЖ группы с НАТ, как и в группе без НАТ, принадлежало к люминальным подтипам.

3.3.2 Сравнительная оценка экспрессии ER и PR резидуальной первичной опухоли в группе больных после НАТ

Принимая во внимание то обстоятельство, что в 2 случаях после проведенного НАТ в первичной опухоли был достигнут полный лечебный патоморфоз, дальнейшее сравнительное исследование молекулярно-биологических характеристик рака проводится на оставшихся 49 случаях.

На рисунках 18 и 19 отмечается заметное смещение кривой распределения экспрессии ER и PR в резидуальной опухоли в направлении нулевого значения по сравнению с аналогичным показателем до начала лечения. Так, сравнительный анализ показал, уровень ER после НАТ (резидуальная опухоль) уменьшился в среднем на 18,5% (min=10,0%, max=40,0%), а уровень экспрессии PR уменьшился в среднем на 51,6% (min=15,0%, max=80,0%). Кроме того, проведение НАТ привело к росту числа случаев с низкой (1-10%) экспрессией и отсутствием экспрессии ER с 0% и 14,3% до 2,0% и 16,3% соответственно. В свою очередь, после НАТ отмечено увеличение числа случаев с низкой (1-10%) экспрессией и отсутствием экспрессии PR с 8,1% и 18,3% до 34,7% и 34,7% соответственно (Таблица 23). Случаи роста уровня экспрессии ER или PR в резидуальной первичной опухоли нами не были отмечены.



Рисунок 18 - Сравнительная оценка уровня экспрессии ER резидуальной опухоли (кор-биопсия, операционный материал, n=49)

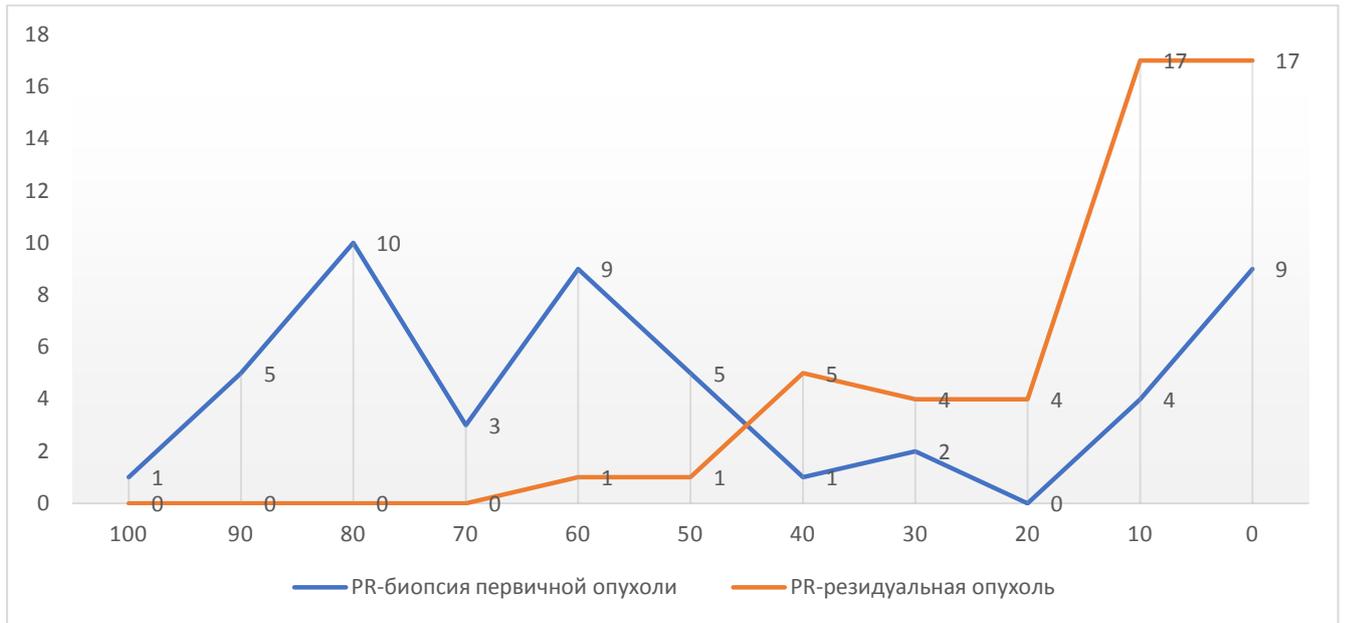


Рисунок 19 - Сравнительная оценка уровня экспрессии PR в резидуальной опухоли (кор-биопсия, операционный материал, n=49)

Таблица 23 - Показатели уровня экспрессии ER и PR в первичной опухоли до начала лечения и после НАТ (кор-биопсия, операционный материал, n=49)

	До начала НАТ (кор-биопсия)		После НАТ (операционный материал)	
	ER	PR	ER	PR
Среднее значение	65,0%	48,0%	47,0%	12,0%
Медиана	80,0%	60,0%	50,0%	1,0%

3.3.3 Сравнительная оценка экспрессии Her2/neu резидуальной опухоли у больных группы НАТ

При анализе экспрессии Her2/neu в резидуальной опухоли в молочной железе в 11 случаях гиперэкспрессия Her2/neu (+3) была подтверждена, в 15 случаях – окрашивание соответствовало +1, у 16 больных - 0, у 7 - было отмечено окрашивание рецепторов Her2/neu, соответствующее +2.

У 3 из 7 больных с неопределенным статусом Her2/neu в ходе проведения FISH исследования была подтверждена амплификация. Общее число случаев с гиперэкспрессией Her2 в группе резидуальной первичной опухоли (n=49) насчитывало 14 (28,6%) наблюдений (Рисунок 20).

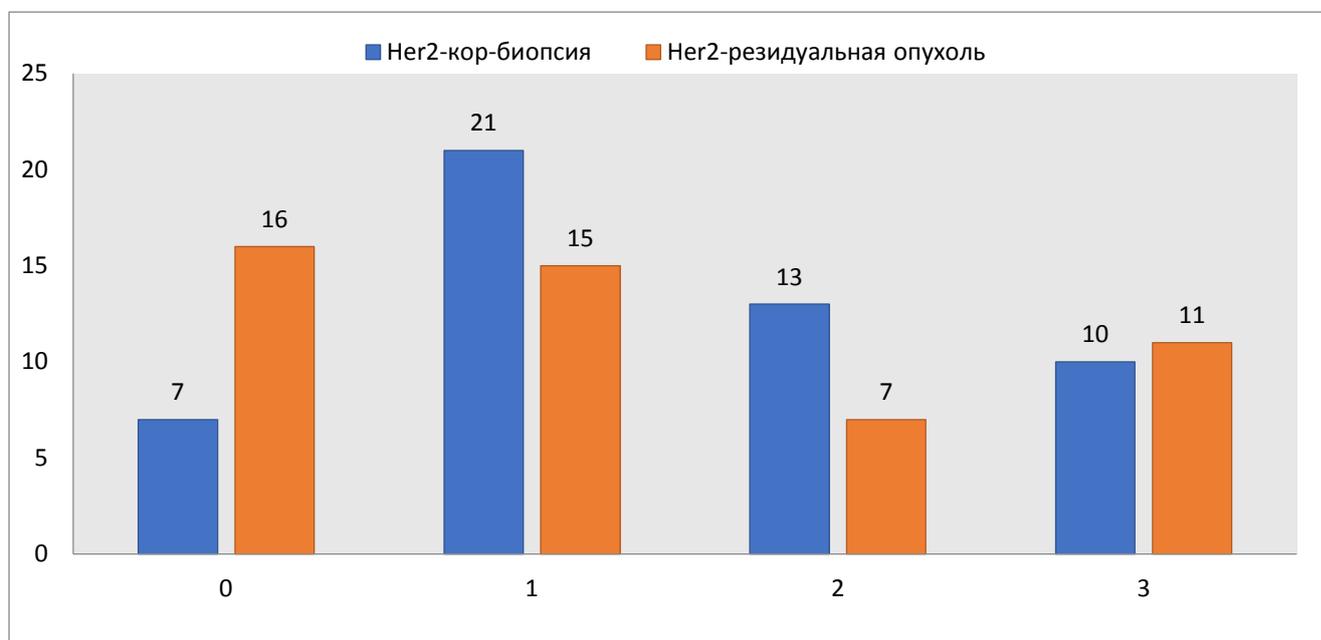


Рисунок 20 - Экспрессия Her2/neu в инвазивной опухоли (кор-биопсия до начала НАТ, операционный материал после НАТ, n=49)

Таким образом, при повторном иммунофенотипировании резидуальной опухоли было выявлено 3 новых случая с гиперэкспрессией Her2/neu.

3.3.4 Сравнительная оценка уровня пролиферативной активности и лечебного патоморфоза резидуальной опухоли в группе НАТ

При анализе данных пролиферативной активности было выявлено снижение индекса Ki-67 в резидуальной опухоли после проведенной НАХТ по сравнению с уровнем пролиферативной активности первичной опухоли в кор-биопсии. При сравнительной оценке индекса Ki-67, после неoadъювантной гормонотерапии или НАХТ отмечена общая тенденция к снижению данного показателя в резидуальной опухоли. Наибольшую группу составили больные (21 человек – 42,9%), у которых числовой диапазон индекса Ki-67 был 10-20% (Рисунок 22).

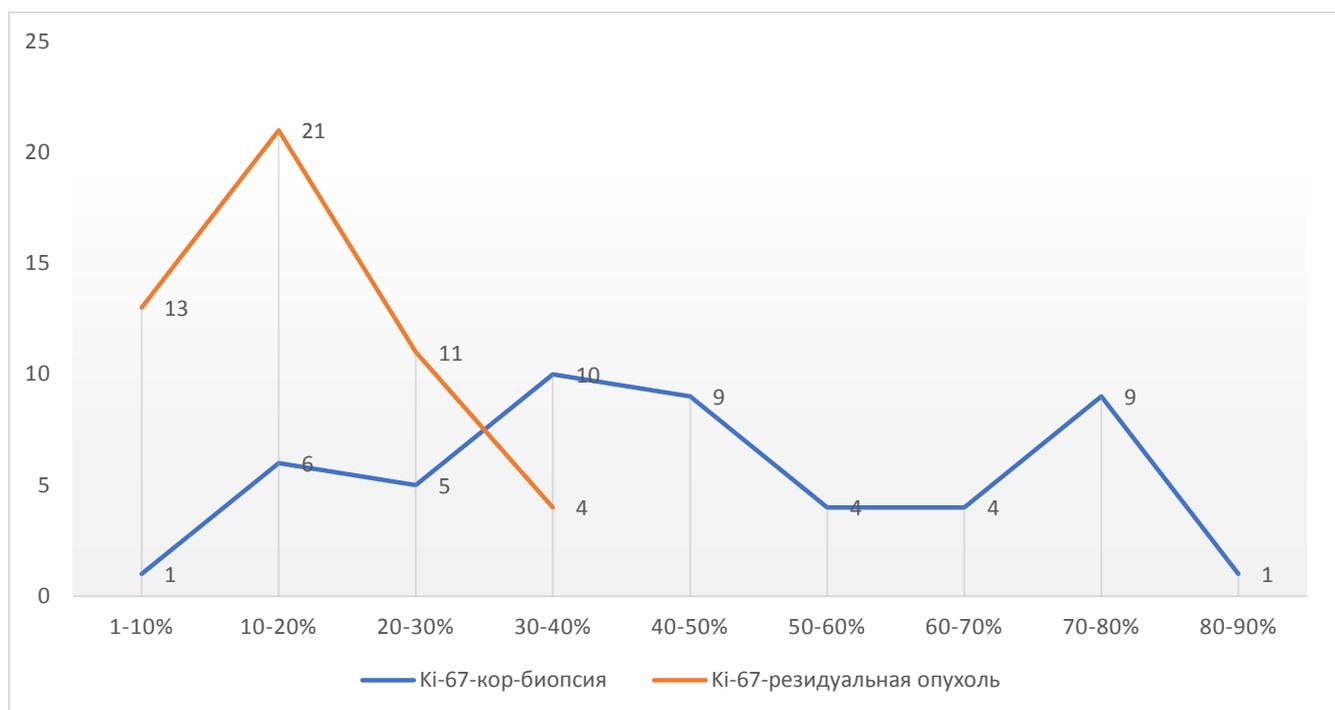


Рисунок 22 - Распределение уровня пролиферативной активности РМЖ до начала НАТ (кор-биопсия) и резидуальной опухоли в операционном материале (абс.)

Как видно из представленного графика, после проведения НАТ пролиферативная активность большинства случаев (91,8%) находилась в диапазоне 1-30% по сравнению с периодом до начала НАТ – индекс пролиферации большинства (75,5%) опухолей находился в диапазоне 30-90%. Индекс Ki-67 в резидуальной опухоли по сравнению с материалом кор-биопсии в среднем был ниже на 25,7% (min=10,0%, max=40,0%).

Для оценки достоверности различий пролиферативной активности первичной опухоли до и после НАТ нами был применен тест Mann-Whitney (альфа-критерий). В группы сравнения было включено 49 парных случаев (исключено 2 случая с полным патоморфозом первичной опухоли). Медианы индекса Ki-67 группы «кор-биопсия» и группы «операционный материал» составили 45,0% и 18,0% соответственно ($p=0,000$).

Сравнительная оценка выраженности лечебного патоморфоза (шкала RCB) РМЖ в зависимости от суррогатного подтипа опухоли показала, что в группах ЛюмА (75,0% случаев - RCB-II, 25,0 % - RCB-III), ЛюмВ/Her2- (7,7% случаев -

RCB-I, 73,0% - RCB-II, 19,3 % - RCB-III), ЛюмВ/Her2+ (86,0% случаев - RCB-II, 14,0% - полный патоморфоз (pCR)), Her2+ РМЖ (100% - RCB-II) и группе ТНРМЖ (33,3% случаев - pCR, 33,3% - RCB-I, 33,3% - RCB-II) большинство случаев демонстрировали слабый или умеренный лечебный ответ (Таблица 24).

Таблица 24 - Взаимосвязь выраженности лечебного патоморфоза в различных суррогатных подтипах рака молочной железы (n=51)

Суррогатный подтип опухоли	Выраженность лечебного патоморфоза (шкала Residual Cancer Burden)			
	III	II	I	pCR
Люминальный А (n=8)	25%	75%	0	0
Люминальный В Her2- (n=28)	19,3%	73,0%	7,7%	0
Люминальный В Her2+ (n=7)	0	86%	0	14%
Her2-позитивный (n=5)	0	100%	0	0
Тройной негативный (n=3)	0	33,3%	33,3%	33,4%

Высокая неоднородность групп сравнения и малое число наблюдений в группах Her2+ РМЖ и ТНРМЖ не позволили нам провести более детальный анализ терапевтического ответа опухоли в зависимости от ее молекулярно-биологических характеристик.

Для оценки взаимосвязи НАТ с выживаемостью больных был проведен анализ в группах сравнения всего ЛюмВ РМЖ, в независимости от амплификации Her2/neu, в группах ЛюмВ-Her2- и ЛюмВ-Her2+.

Группа ЛюмВ РМЖ насчитывала 91 первичную опухоль, из которых 56 (61,5%) пациенток не получали НАТ и 35 (38,5%) пациенток получили НАТ.

Различия показателей ОВ и БРВ не были статистически достоверными ($p=0,26$ и $p=0,98$ соответственно). Группа ЛюмВ-*Her2*- РМЖ насчитывала 69 первичных опухолей, из которых 43 (62,3%) пациентки не получали НАТ и 26 (37,7%) пациенток получили НАТ. Различия показателей ОВ и БРВ были статистически не достоверными ($p=0,43$ и $p=0,46$ соответственно). Группа ЛюмВ-*Her2*+ РМЖ насчитывала 22 первичных опухолей, из которых 13 (59,1%) пациенток не получали НАТ и 9 (40,9%) пациенток получили НАТ. Различия показателей ОВ и БРВ не были статистически достоверными ($p=0,67$ и $p=0,25$, соответственно).

Заключение. При сравнительном анализе суррогатных подтипов в 8 (16,3%) случаях молекулярные характеристики в резидуальной опухоли остались прежними и соответствовали ЛюмА, у 2 (4,1%) из 28 больных ЛюмВ/*Her2*- РМЖ при повторном иммунофенотипировании была обнаружена гиперэкспрессия *Her2*/неу, в связи с чем произошла конверсия суррогатного подтипа опухоли в ЛюмВ/*Her2*+.

При повторном иммунофенотипировании резидуальной опухоли у больных группы ЛюмВ/*Her2*- (кор-биопсия) в 2 (4,1%) случаях была выявлена гиперэкспрессия *Her2* (+3), в связи с чем опухоль была реклассифицирована как ЛюмВ/*Her2*+ РМЖ. В группе ЛюмВ/*Her2*+ у 5 пациенток при повторном типировании параметры опухоли остались прежними, у 4 больных сохранился *Her2*+ подтип, у 3 больных – ТНРМЖ. Тем не менее, у 1 (2%) больной с ТНРМЖ (кор-биопсия), в резидуальной опухоли была выявлена гиперэкспрессия *Her2* (+3), в связи с чем опухоль была реклассифицирована как *Her2*+ РМЖ (Таблица 25).

Таким образом, при повторном определении суррогатного подтипа в резидуальной опухоли в молочной железе, у 6,1% больных дополнительно была назначена адъювантная анти- *Her2* терапия.

Таблица 25 - Сравнительная оценка суррогатного подтипа кор-биопсии и резидуальной опухоли (операционный материал, n=49)

Суррогатный подтип	Число случаев (кор-биопсия)	Число случаев (операция)	Число случаев с конверсией суррогатного подтипа
Люминальный А	8	8	0%
Люминальный В/Her2-	28	26	-4,1%
Люминальный В/Her2+	7	9	+4,1%
Her2-позитивный	4	5	+2,0%
Тройной негативный	4	3	-2,0%

3.4 Результаты суррогатного типирования регионарных метастазов в операционном материале в группе с НАТ

В группе НАТ (51 случай) в 46 наблюдениях для сравнительного анализа экспрессии маркеров лекарственной чувствительности и пролиферативной активности были доступны метастатические очаги в регионарных лимфатических узлах.

3.4.1 Сравнительный анализ экспрессии ER и PR в первичной опухоли и регионарном метастазе в группе с НАТ

При анализе уровня экспрессии ER в операционном материале метастаза в аксиллярном лимфоузле было обнаружено, что экспрессия маркера в 71-100% клеток РМЖ наблюдалась у 11 (23,9%) пациенток, в 11-70% клеток у 31 (58,8%) больных, в 1-10% клеток у одной (2,1%) больной, в 7 (15,2%) случаях экспрессия ER в метастазе отсутствовала (Рисунок 23).

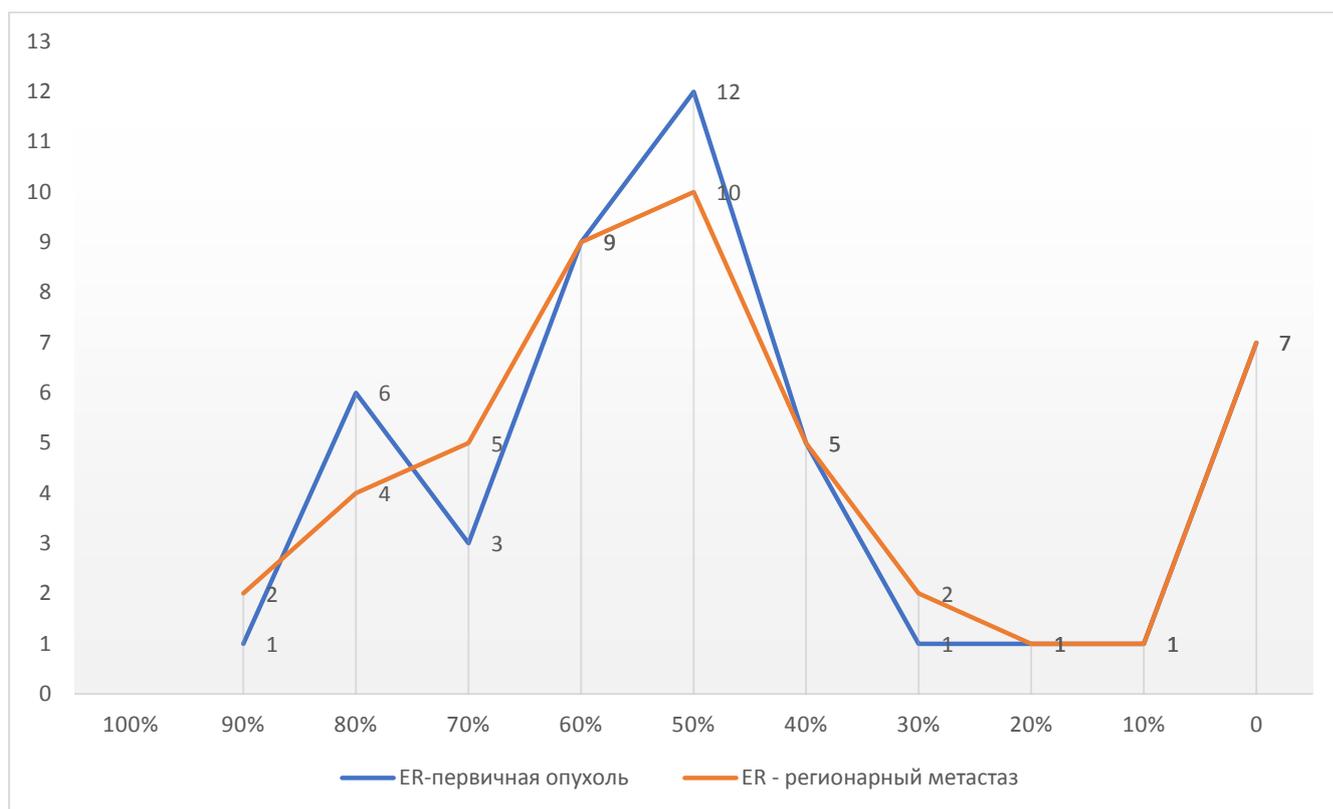


Рисунок 23 - Сравнительный анализ экспрессии ER в первичной опухоли и регионарных метастазах (операционный материал, n=46)

У 10 (21,7%) больных уровень экспрессии ER в регионарном метастазе был выше, чем в первичной опухоли; у 11 (23,9%) пациенток - ниже по сравнению с первичной опухолью. Представленный график демонстрирует, что общее распределение экспрессии ER в первичных и метастатических очагах носило относительно симметричный характер. В среднем, уровень экспрессии ER увеличивался в регионарном метастазе на 12,0% (min=5,0%, max=20,0%), а уменьшался на 11,4% (min=5,0%, max=40,0%) по сравнению с первичной опухолью.

Сравнительный анализ уровня экспрессии PR в синхронных регионарных метастазах показал, что экспрессия маркера в 71-100% клеток РМЖ не встречалась ни в одном случае, в 11-70% клеток у 14 (30,4%) больных, в 1-10% клеток у 15 (32,7%) пациенток, в 17 (36,9%) случае экспрессия PR в метастазе отсутствовала (Рисунок 24). Кривые распределения экспрессии PR в первичных и метастатических очагах сравнительно идентичны.

Средние значения и медианы экспрессии PR в первичной опухоли 47,1% (мед. – 50,0%) и регионарном метастазе 47,0% (мед. – 50,0%) практически не различались, тогда как средние значения и медианы экспрессии PR в первичной опухоли и регионарном метастазе составляли 12,8% (мед. – 5,5%) и 11,9% (мед. - 10%) соответственно.

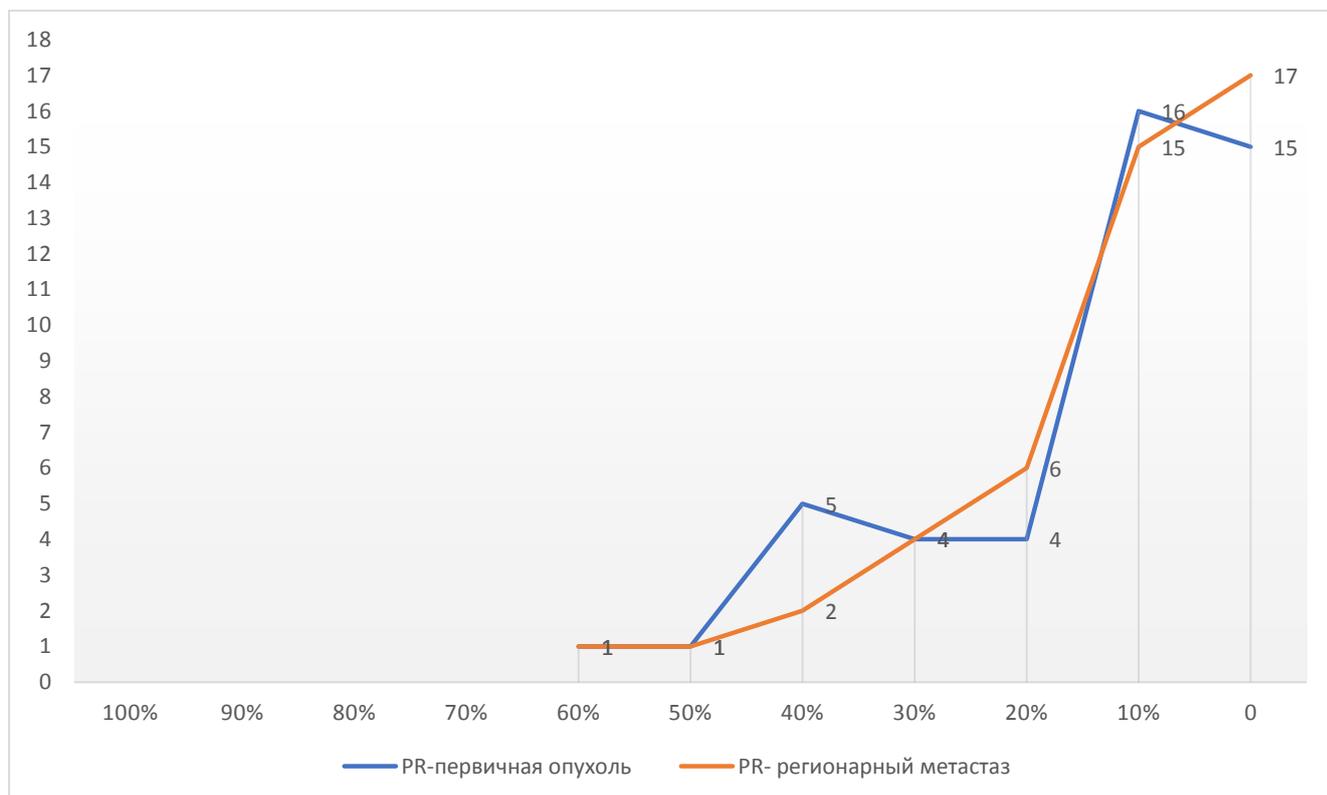


Рисунок 24 - Сравнительный анализ уровня экспрессии PR в первичном очаге и регионарных метастазах (операционный материал, n=46)

У 10 (21,7%) больных выявлен рост уровня экспрессии PR, у 15 (32,6%) больных - снижение уровня экспрессии PR в регионарном метастазе.

Проведение НАТ привело к заметному снижению уровней экспрессии ER и PR как в первичной опухоли, так и в регионарном метастазе: экспрессии ER в опухоли и метастазе составила 12,8% и 12,1% соответственно, экспрессия PR опухоли и метастазе - 10,0% и 10,0% соответственно (Таблица 26).

Таблица 26 - Показатели уровня экспрессии ER и PR в опухоли до начала лечения и после НАТ (кор-биопсия, операционный материал, n=46)

	До начала НАТ (кор-биопсия)		Первичная опухоль после НАТ (операция)		Регионарный метастаз после НАТ (операция)	
	ER	PR	ER	PR	ER	PR
Медиана	80,0%	60,0%	50,0%	10,0%	55,0%	10,0%

Для оценки достоверности различий экспрессии ER и PR в первичной опухоли до начала и после НАТ нами был применен тест Mann-Whitney (альфа-критерий). В группы сравнения было включено 42 парных случая (исключены Her2+ и ТНPMЖ подтипы рака). Медианы экспрессии ER группы «кор-биопсия» и группы «операционный материал» составили 80,0% и 50,0% соответственно ($p=0,000$). Медианы экспрессии PR группы «кор-биопсия» и группы «операционный материал» составили 60,0% и 10,0% соответственно ($p=0,000$).

3.4.2 Сравнительный анализ экспрессии Her2/neu и пролиферативной активности в первичной опухоли и регионарных метастазах в группе больных с НАТ

При сравнительном анализе Her2/neu-статуса первичной и метастатической опухолей после проведения НАТ нами не было обнаружено ни одного нового случая с появлением гиперэкспрессии Her2/neu или утратой клетками опухоли, ранее являвшейся Her2-позитивной.

При анализе пролиферативной активности в первичной опухоли и регионарных метастазах у 46 больных было обнаружено, что проведение НАТ вызвало снижение индекса Ki-67 первичной опухоли во всех случаях. Так, различия в показателях до и после НАТ в среднем составляли 28,4% (мед. – 25%), варьируя от 2 до 62%. Внутри различных суррогатных подтипов PMЖ уровень снижения индекса Ki-67 был представлен по-разному: ЛюмА – 13,7% (мед. – 14,0%), ЛюмВ/Her2- - 36,6% (мед. – 35,0%), ЛюмВ/Her2+ - 18,7% (мед. – 22,5%),

Her2+ - 6,4% (мед. – 5,0%). ТНРМЖ был представлен единственным наблюдением – разница в индексе Ki-67 до и после НАТ составила 60%.

При сравнении пролиферативной активности в парах «первичная опухоль – метастаз» в 24 (52,1%) случаях отмечался рост индекса Ki-67 в метастазе в среднем на 5,0% (мед. – 5,0%). В свою очередь, в 15 (32,6%) наблюдениях было выявлено снижение пролиферативной активности соответствующего метастаза в среднем на 5,0% (мед. – 5,0%) (Таблица 27 и Рисунок 25).

Таблица 27 - Показатели пролиферативной активности РМЖ до начала лечения и после НАТ (кор-биопсия, операционный материал, n=46)

	Индекс Ki-67 опухоли до начала НАТ (трепан)	Индекс Ki-67 первичной опухоли после НАТ (операция)	Индекс Ki-67 регионарного метастаза после НАТ (операция)
Медиана	43,5%	18,0%	20,0%

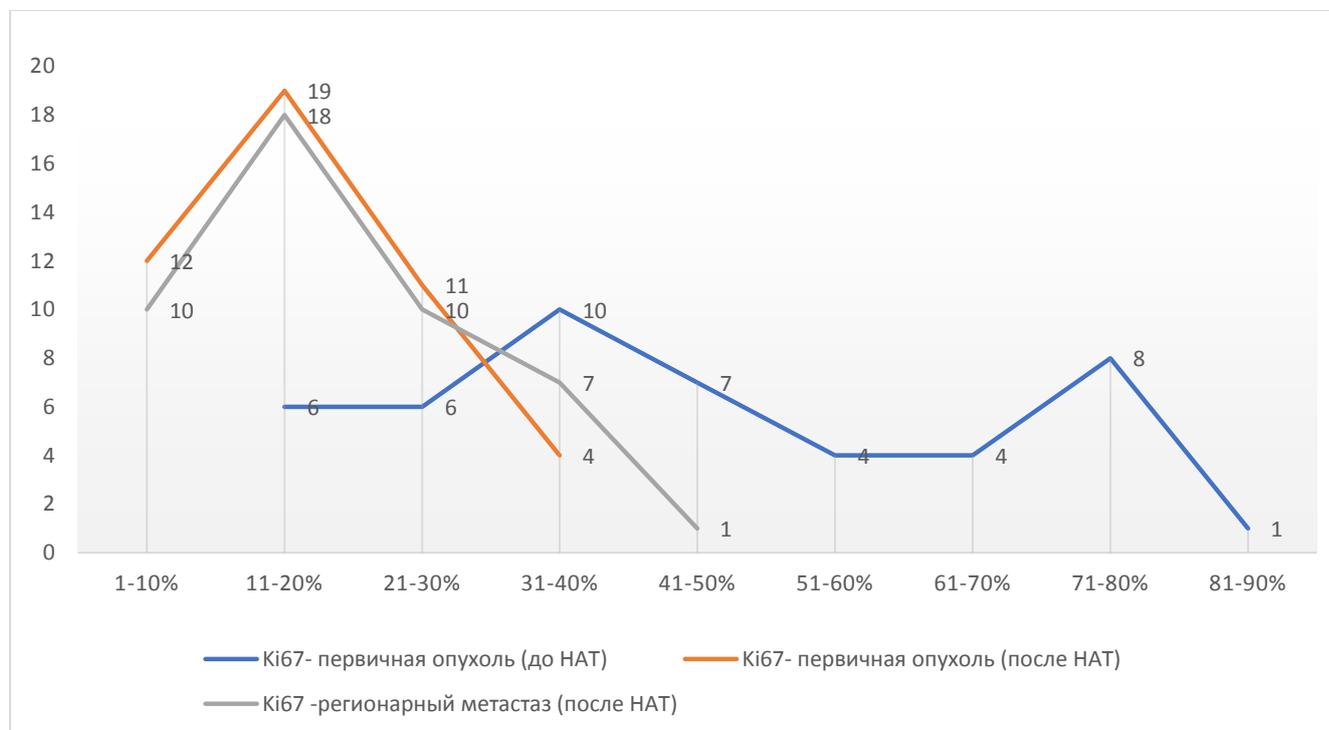


Рисунок 25 - Распределение пролиферативной активности в первичных опухолях и регионарных метастазах до начала и после окончания НАТ (кор-биопсия, операционный материал, абс.).

Заключение. Проведенный анализ показал, что характер изменений экспрессии маркеров в первичной и метастатической опухолях после проведения НАТ в целом сходен с таковыми в группе больных без НАТ, однако выраженность различий показателей экспрессии маркеров заметно больше проявляется в группе больных, перенесших НАТ.

При сравнении результатов иммунофенотипирования первичной опухоли и регионарных метастазов после НАТ нами не было обнаружено ни одного случая конверсии суррогатного типа РМЖ, а именно в 8 (17,4%) случаях молекулярно-биологические характеристики первичного очага в метастатической опухоли соответствовали ЛюмА подтипу, в 26 (56,5%) – ЛюмВ/Her2- подтипу, в 6 (13,0%) – ЛюмВ/Her2+ подтипу, в 5 (10,9%) – Her2+ подтипу и в 1 (2,2%) случае – тройной негативный подтип. Достоверно доказано, что НАТ приводит к снижению пролиферативной активности первичной опухоли. В нашей работе было показано, что медиана индекса Ki-67 в 2,5 раза снижается после проведенного предоперационного лекарственного лечения.

3.5 Анализ выживаемости больных с различными суррогатными подтипами РМЖ (кор-биопсия, операционный материал)

Принимая во внимание тот факт, что суррогатный подтип РМЖ ассоциирован с прогнозом заболевания мы провели сравнительный анализ прогностической ценности суррогатного подтипа первичной опухоли, который оценивался на кор-биопсии и операционном материале. В исследовании прогностической значимости суррогатного типирования материала кор-биопсии было включено 168 случаев (использован log-rank test). Достоверные различия ОВ были достигнуты между группами ЛюмА и ТНРМЖ ($p=0,002$), группами ЛюмА и ЛюмВ-Her2+ ($p=0,019$), группами ЛюмВ-Her2- и ТНРМЖ ($p=0,011$), группами ЛюмВ-Her2- и ЛюмВ-Her2+ ($p=0,031$). Различия между остальными суррогатными подтипами не были статистически достоверны.

Сходным образом была проведена оценка значимости суррогатного типирования материала кор-биопсии при анализе БРВ (168 случаев, log-rank test).

Достоверные различия БРВ были достигнуты между группами ЛюмА и ТНРМЖ ($p=0,012$), группами ЛюмВ-Her2- и ТНРМЖ ($p=0,000$), группами ЛюмВ-Her2- и ЛюмВ-Her2+ ($p=0,016$). Различия между остальными суррогатными подтипами не были статистически достоверны.

В исследовании прогностической значимости суррогатного типирования операционного материала также было включено 168 случаев (использован log-rank test). Достоверные различия ОВ были достигнуты между группами ЛюмА и ЛюмВ-Her2- ($p=0,009$), группами ЛюмА и ТНРМЖ ($p=0,000$), группами ЛюмА и ЛюмВ-Her2+ ($p=0,000$), группами ЛюмВ-Her2- и ТНРМЖ ($p=0,003$), группами ЛюмВ-Her2- и ЛюмВ-Her2+ ($p=0,028$). Различия между остальными суррогатными подтипами не были статистически достоверны.

В исследование взаимосвязи суррогатного типирования операционного материала с БРВ также было включено 168 случаев (использован log-rank test). Достоверные различия БРВ были достигнуты между группами ЛюмА и ТНРМЖ ($p=0,004$), группами ЛюмА и ЛюмВ-Her2+ ($p=0,046$), группами ЛюмВ-Her2- и ТНРМЖ ($p=0,000$), группами ЛюмВ-Her2- и ЛюмВ-Her2+ ($p=0,011$). Различия между остальными суррогатными подтипами не были статистически достоверны.

Проведенный нами анализ продемонстрировал, что точность оценки прогноза заболевания в зависимости от суррогатного подтипа достоверно выше при типировании первичной опухоли на операционном материале.

Дополнительно мы провели сравнительный анализ показателей выживаемости в зависимости от суррогатного подтипа РМЖ на парах «кор-биоптат – операционный материал» для каждого подтипа по-отдельности (log-rank test) (Рисунок 26, Рисунок 27).

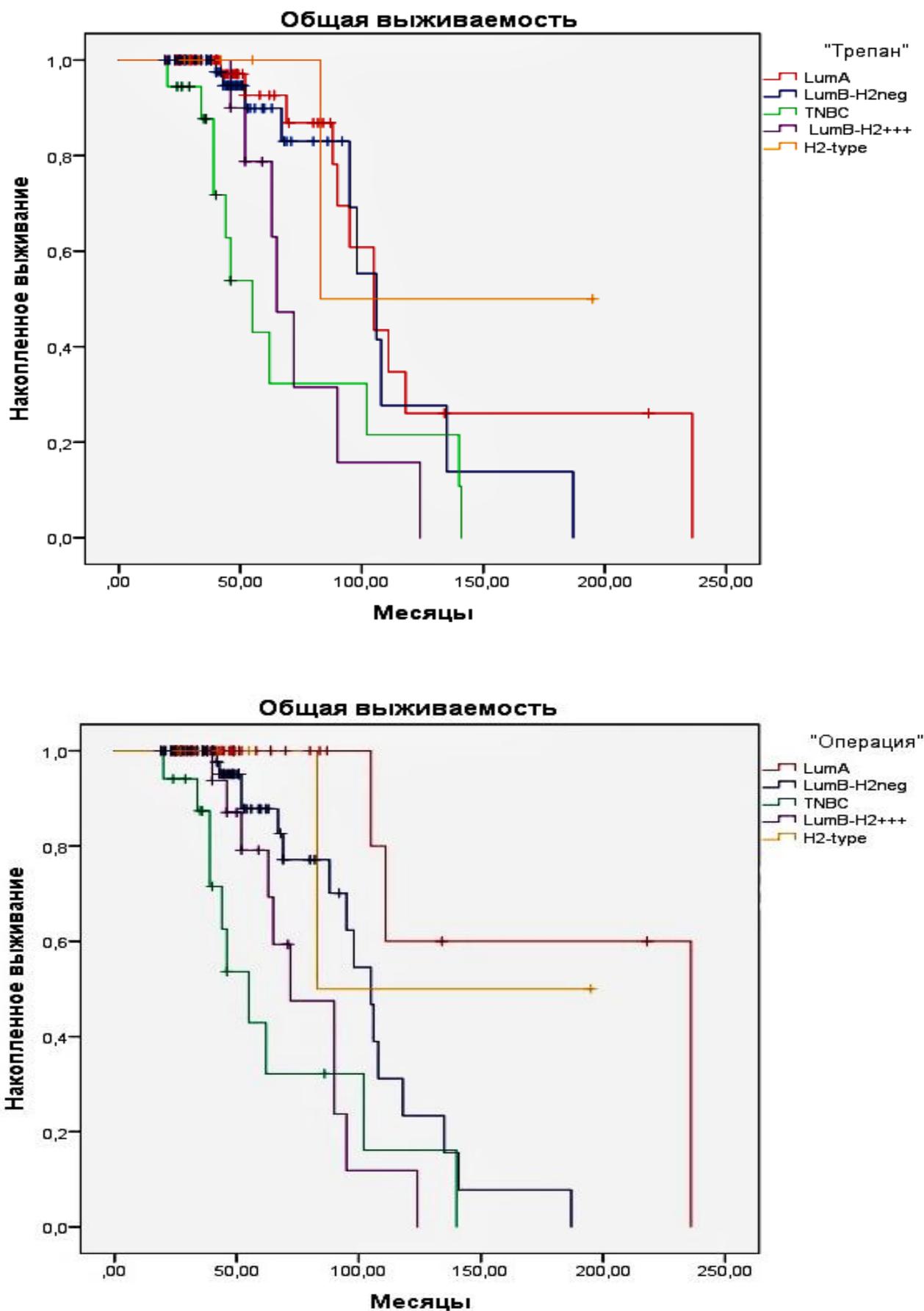


Рисунок 26 - Общая выживаемость больных различными суррогатными подтипами РМЖ А - кор-биопсия, Б -операционный материал

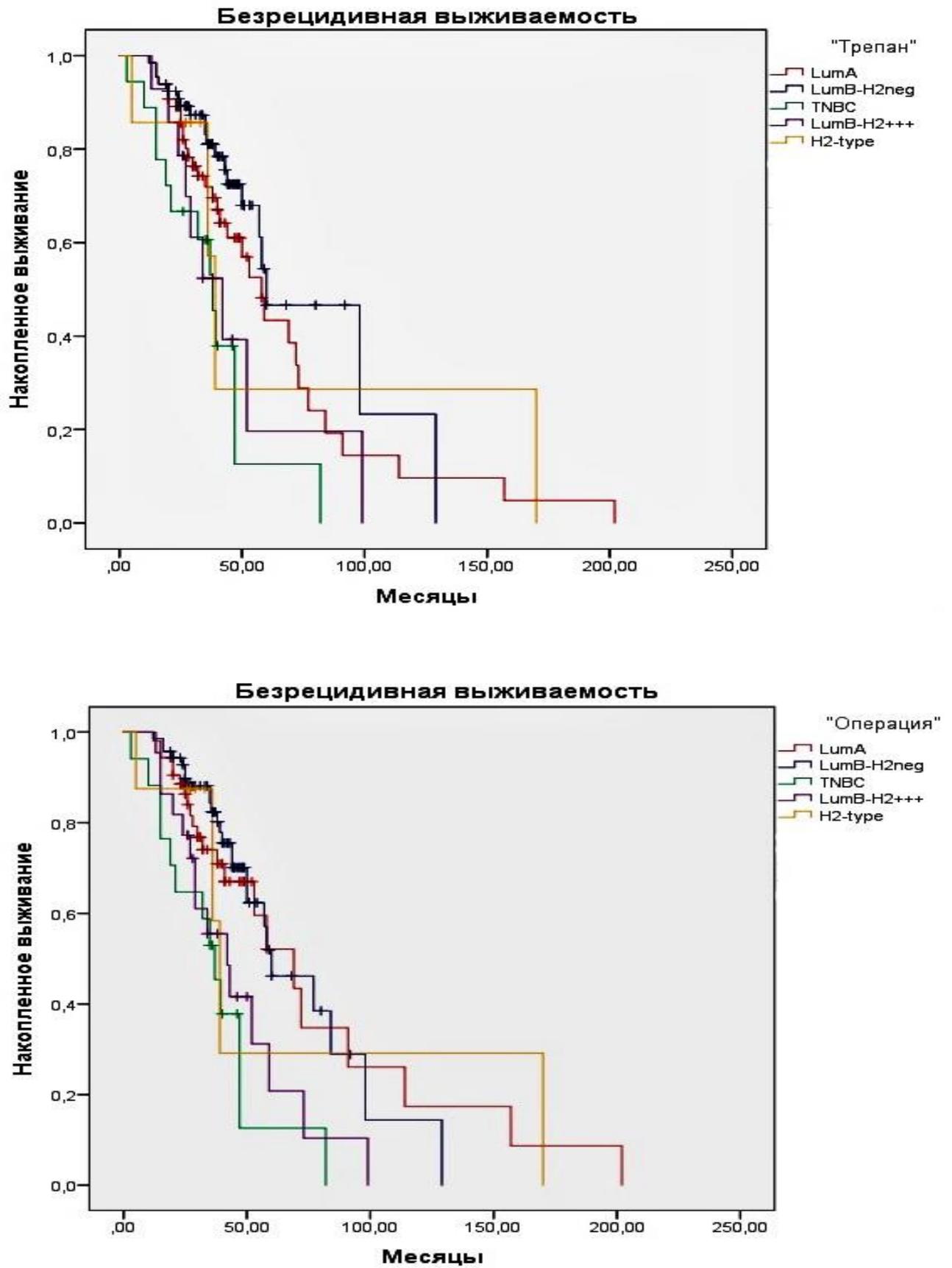


Рисунок 27 - Безрецидивная выживаемость больных различными суррогатными подтипами РМЖ А - кор-биопсия, Б - операционный материал

В сравнительный анализ выживаемости больных ЛюмА РМЖ вошло 119 первичных случаев, включавших 65 случаев, определённых на материале кор-биопсии, и 54 случая, повторно определённых на операционном материале. Медианы ОВ, определённые при типировании кор-биоптата и операционного материала составили 105 и 218 мес соответственно ($p=0,035$). Медианы БРВ, определённые при типировании кор-биоптата и операционного материала составили 58 и 69 мес соответственно ($p=0,513$).

Сравнительный анализ ОВ больных ЛюмВ-*Her2*- (кор-биопсия 66 случаев, операция-69 случаев, $p=0,73$), ЛюмВ-*Her2*+ (кор-биопсия 14 случаев, операция-22 случая, $p=0,83$), ТНРМЖ (кор-биопсия 18 случаев, операция-17 случаев, $p=0,95$) не выявил достоверных отличий в показателях.

Сравнительный анализ БРВ больных ЛюмВ-*Her2*- (кор-биопсия 66 случаев, операция-69 случаев, $p=0,67$), ЛюмВ-*Her2*+ (кор-биопсия 14 случаев, операция-22 случая, $p=0,98$), ТНРМЖ (кор-биопсия 18 случаев, операция-17 случаев, $p=0,99$) не выявил достоверных отличий в показателях.

Малое количество наблюдений *Her2*+ подтипа РМЖ (8 случаев) не позволило применить методы статистического анализа.

Однако, показатели медиан выживаемости были выше в группах больных с «рецептор-обогащёнными» опухолями (люминальные подтипы), чем в группах с «рецептор-обедненными» опухолями (ТНРМЖ), что коррелирует с данными мировой литературы о зависимости течения заболевания от суррогатного подтипа РМЖ.

ГЛАВА 4. СРАВНИТЕЛЬНОЕ СУРРОГАТНОЕ ТИПИРОВАНИЕ МЕТАХРОННЫХ РЕЦИДИВНЫХ И МЕТАСТАТИЧЕСКИХ ОЧАГОВ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

4.1. Результаты суррогатного типирования рецидивных и метакронных метастатических очагов

Среди 119 больных группы 1 (только операция) в ходе динамического контроля у 28 (23,5%) пациенток был выявлен местный рецидив заболевания, у 34 (28,5%) пациенток - отдалённые метастатические очаги. Среднее время до развития местного рецидива составило 42,7 мес (мед. – 35,0 мес), до появления отдаленных метастазов – 52,6 мес (мед. – 41,0 мес).

Проведенный анализ молекулярно-биологических характеристик в рецидивном очаге у больных группы 1, показал, что уровень экспрессии стероидных гормонов с рецептор-положительной первичной опухолью, имел тенденцию к снижению (Рисунок 28 и Рисунок 29).

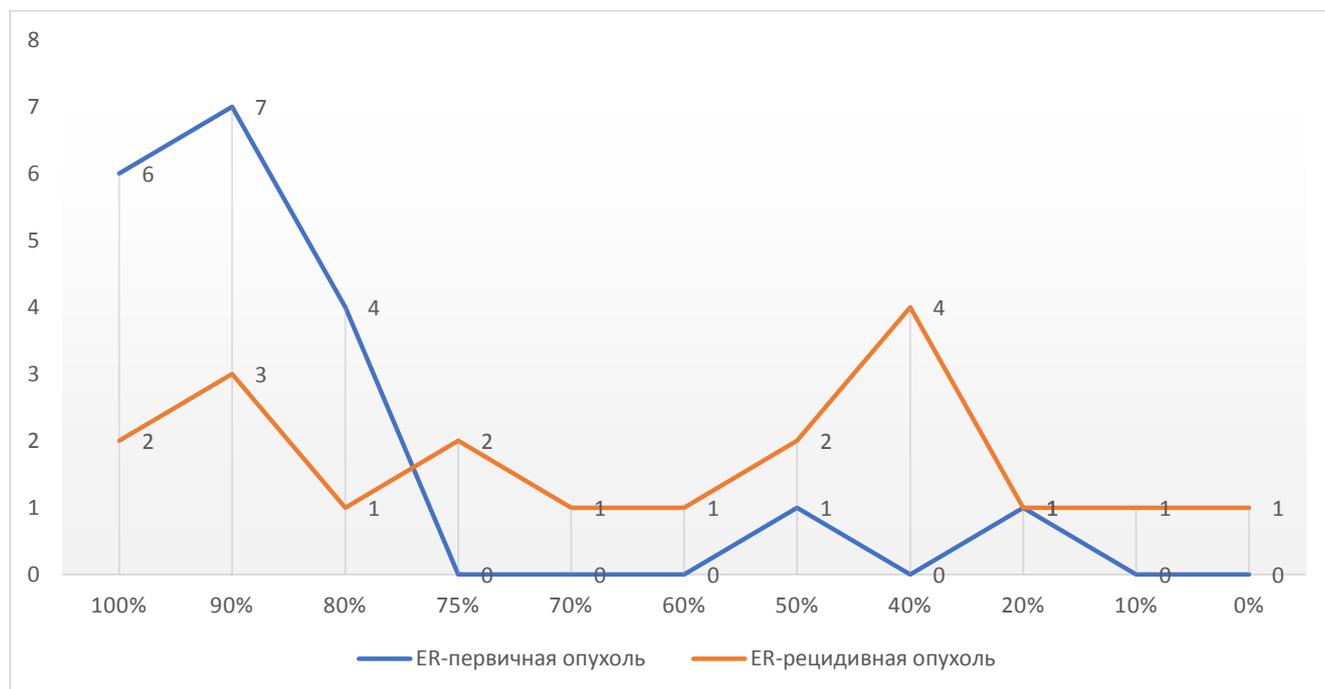


Рисунок 28 - Сравнительное распределение экспрессии ER в первичной опухоли и соответствующем рецидивном очаге

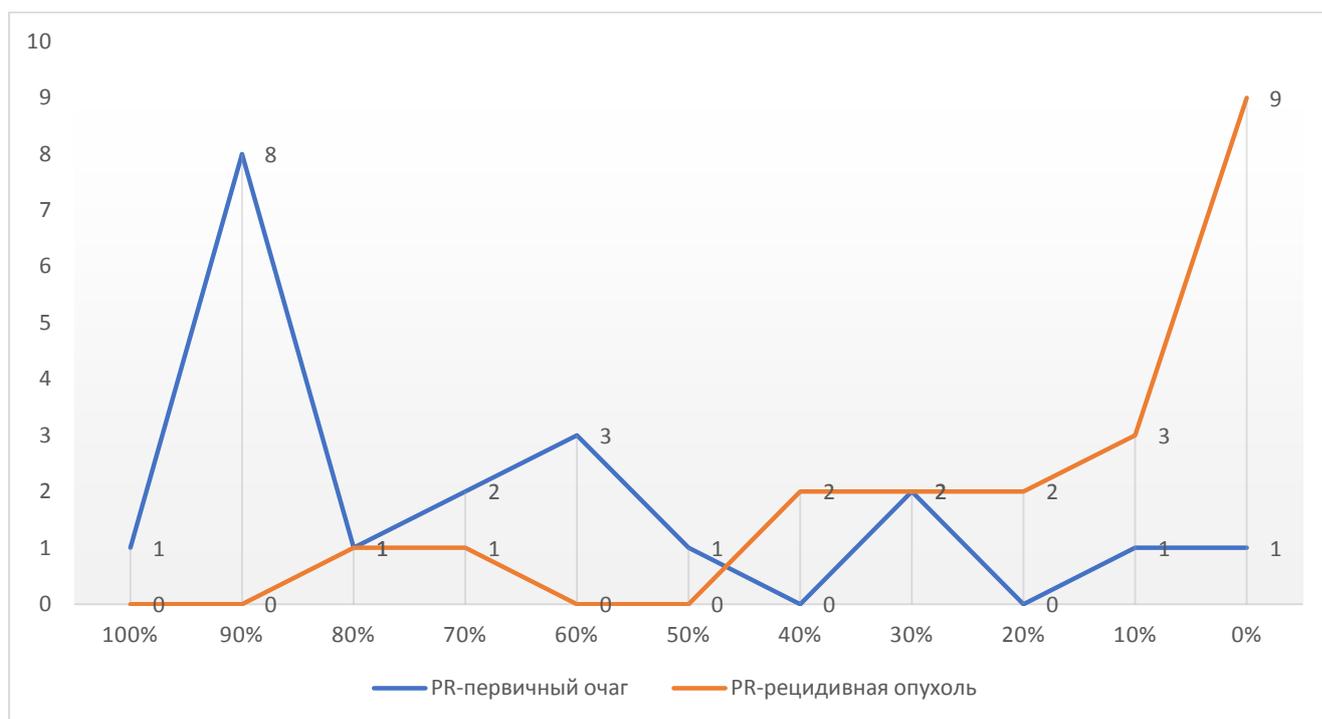


Рисунок 29 - Сравнительное распределение экспрессии PR в первичной опухоли и соответствующем рецидивном очаге

Так, уровень экспрессии ER в рецидивной опухоли в отличие от первичного очага снижался в среднем на 24,7% (min=10,0%, max=60,0%), тогда как уровень PR в рецидивном очаге снижался в среднем на 52,2% (min=20,0%, max=90,0%).

Новых случаев амплификации Her2 в рецидивных очагах не обнаружено.

При анализе пролиферативной активности в рецидивной опухоли наибольшую группу составили больные (8 человек – 30,8%), у которых пролиферативная активность опухоли находилась в диапазоне 50-40% (Рисунок 30).

Сравнительный анализ пролиферативной активности рецидивных опухолей выявил рост индекса Ki-67 у 19 (73,1%) больных, особенно в группах рецептор-обедненных опухолей. Увеличение индекса Ki-67 в рецидивном очаге в среднем составило 35,6% (min=10, max=30%). Однако в 7 (26,9%) случаях, у больных люминальной группы в процессе гормонотерапии (ингибиторами ароматазы), отмечено снижения пролиферативной активности в рецидивной опухоли в среднем на 7,8% (min=10, max=30%).

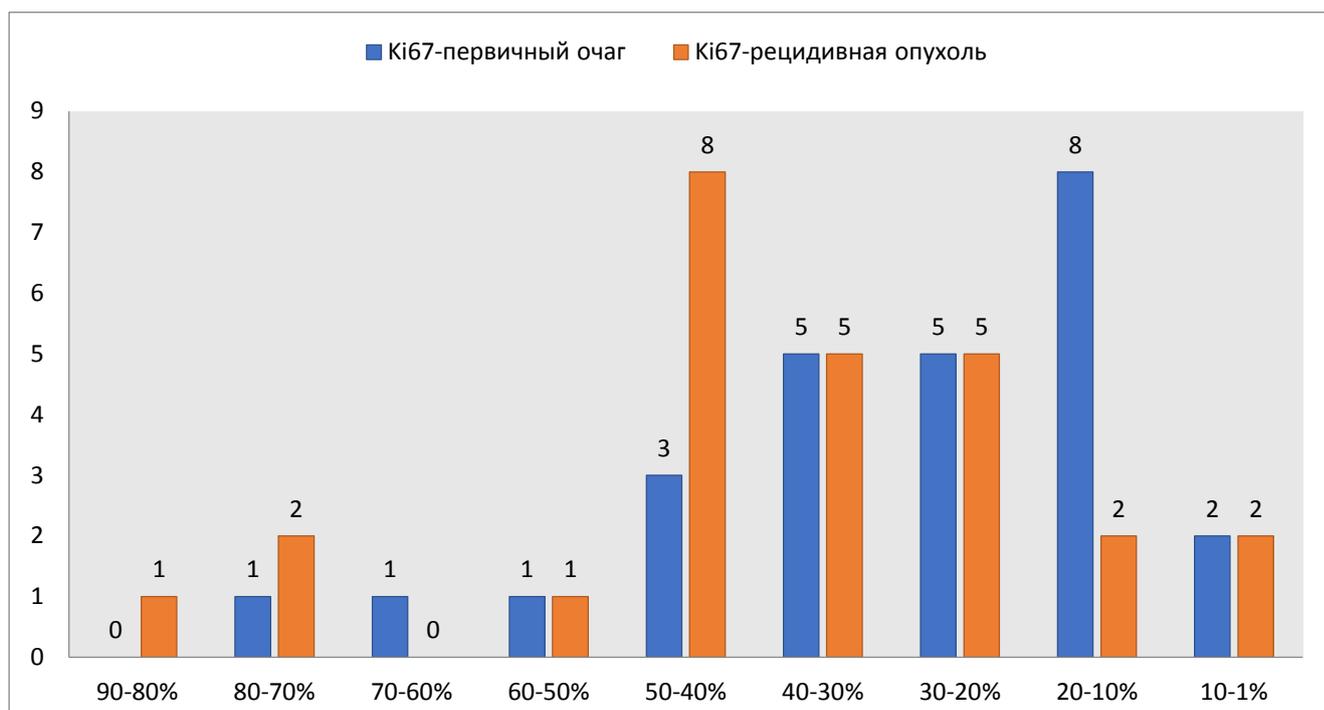


Рисунок 30 - Распределение пролиферативной активности в рецидивных опухолях (индекс Ki-67, абс.)

Проведенный анализ молекулярно-биологических характеристик в отдалённых метастазах у I группы больных, показал, что уровень экспрессии стероидных гормонов был идентичен по сравнению с первичной опухолью. Однако, стоит отметить, что в большинстве случаев в отдалённом метастатическом очаге экспрессия PR не выявлена (Рисунок 31 и Рисунок 32).

Снижение в метастатическом очаге уровня стероидных гормонов в среднем составило на 28,7% (min=15,0%, max=55,0%).

Новых случаев гиперэкспрессии Her2/neu в отдалённых метастазах не обнаружено.

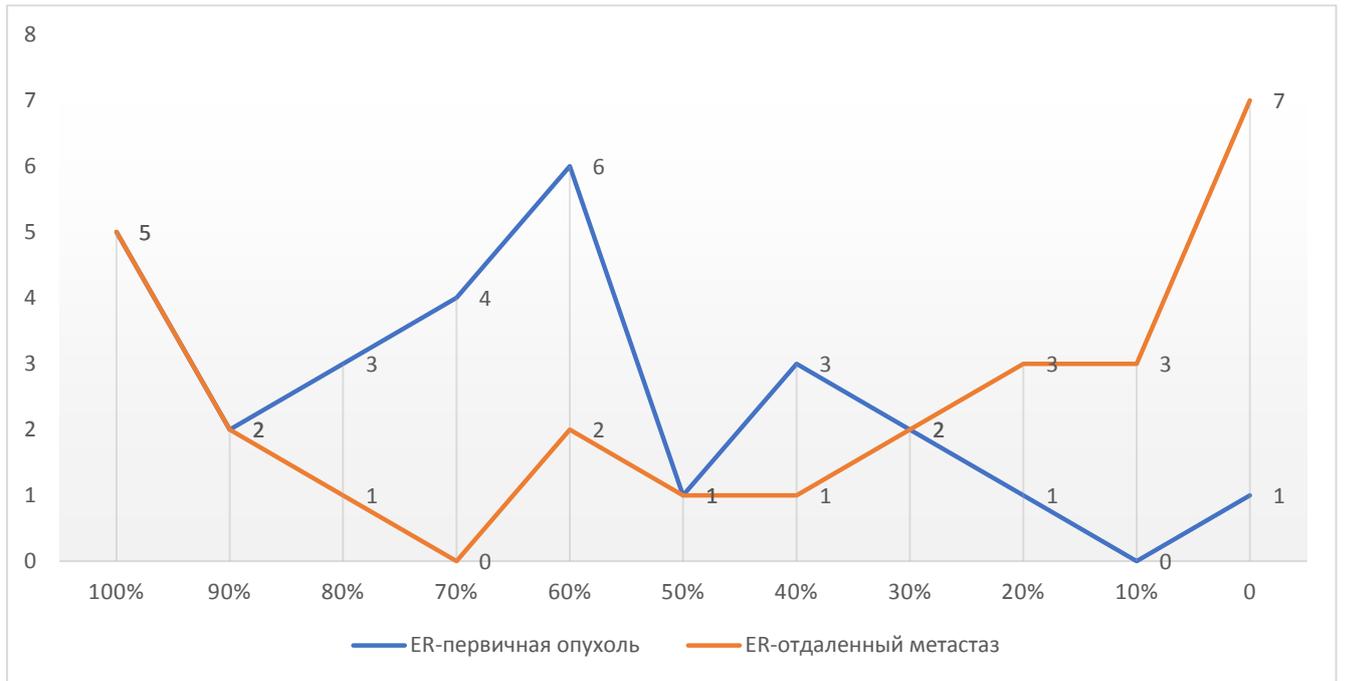


Рисунок 31 - Сравнительное распределение экспрессии ER в первичной опухоли и отдаленных метастазах

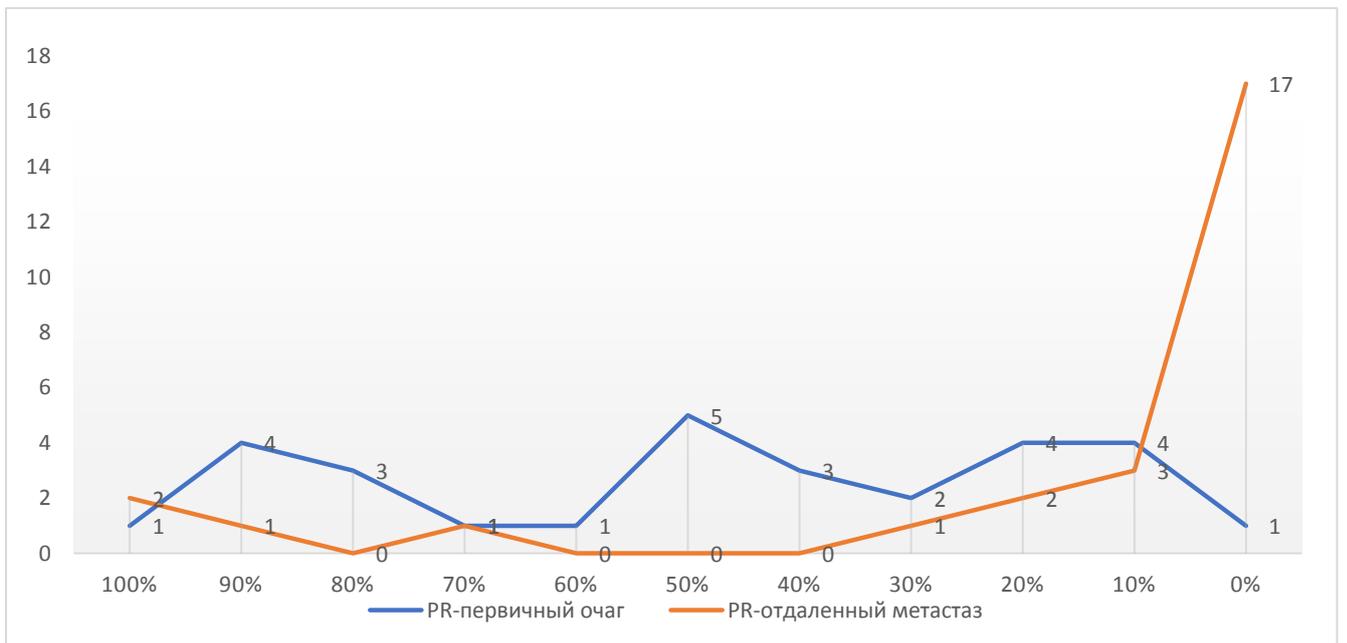


Рисунок 32 - Сравнительное распределение экспрессии PR в первичной опухоли и метастаза

При анализе индекс Ki67 потенциал пролиферативной активности в метастатическом очаге незначительно отличался от первичной опухоли (Рисунок 33).

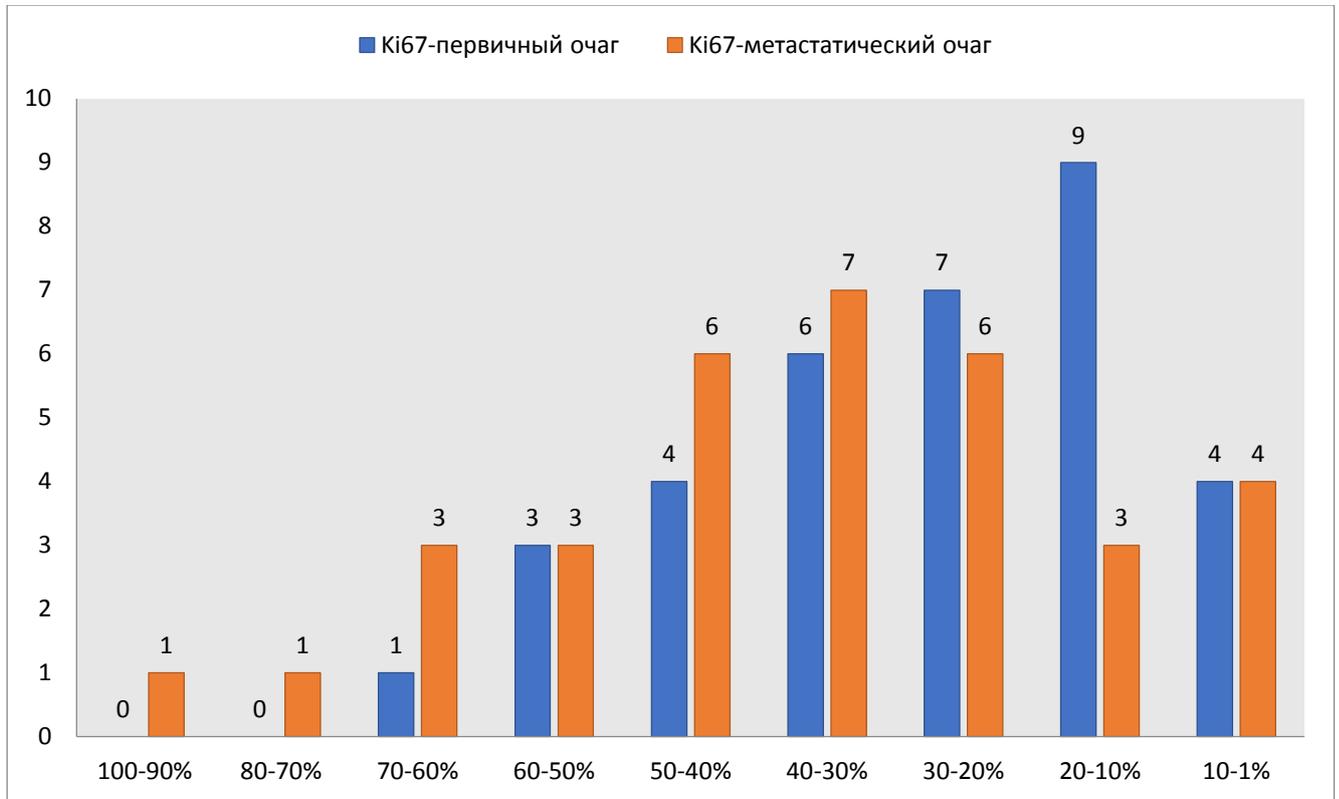


Рисунок 33 - Распределение пролиферативной активности в рецидивной опухоли (индекс Ki-67, абс.)

Однако, в целом при анализе распределения пролиферативной активности в метастатическом очаге отмечен рост индекса Ki-67% у 24 больных, в остальных 10 случаях индекс Ki-67 остался неизменным. Увеличение индекса Ki-67 в метастатическом очаге в среднем составило на 16,7% (min=10, max=25%).

Во второй группе (НАТ + операция) у 5 (9,8%) больных был выявлен местный рецидив, у 12 (23,5%) больных – отдаленные метастазы. Среднее время до развития рецидива - 22,8 мес (мед. – 20,0 мес), до появления отдаленных метастазов – 35,8 мес (мед. – 32,5 мес).

Молекулярно-биологические характеристики рецидивных очагов и отдалённых метастазов после проведенной НАХТ были идентичны по сравнению с первичной опухолью, однако, данный анализ выполнен на небольшой выборке больных и не может носить достоверный характер.

Общее число больных с местным рецидивом заболевания составило 33 наблюдения, с отдаленными метастазами – 49 наблюдений.

Всем 28 больным с учетом клинико-морфологических данных АХТ было продолжено стандартными схемами: в 14 случаях была назначена ГТ, в 4 случаях - ХТ антрациклинами с последующей ГТ, у 3 больных - ПХТ группами препаратов в комбинации антрациклинов и таксанов, в 3 случаях – ХТ/ГТ в комбинации антрациклинов, таксанов и анти-Her2 таргетной терапии, у 2 больных - после проведения ПХТ (антрациклины, таксаны, анти-Her2-ТТ) была назначена ГТ.

В целом, у 33 больных местными рецидивами РМЖ были выявлены все суррогатные подтипы опухоли: ЛюмА – 13 (39,4%) случаев, ЛюмВ/Her2- – 10 (30,3%) случаев, ЛюмВ/Her2+ и Her2+ РМЖ - по 3 (9,0%) случая, ТНРМЖ – 4 (12,1%) случая. При этом, в связи с частичной или полной утратой рецидивной опухолью экспрессии ER и PR была выявлена конверсия одного (3,0%) случая первичного ЛюмВ/Her2+ рака в ER-/PR-/Her2+ опухоль (Her2+ подтип) и 7 (21,2%) случаев первичного ЛюмА рака в ЛюмВ/Her2- рецидивный рак. При анализе временного интервала БРВ нами было обнаружено, что медиана БРВ до появления местного рецидива среди ЛюмА опухолей без утраты экспрессии ER-PR составляла 28,5 мес, при утрате ER-PR - 53,0 мес.

Сходная конверсия наблюдалось среди 49 больных с отдаленными метастазами РМЖ, также включавшими различные суррогатные типы рака: 10 (19,5%) случаев ЛюмА, 17 (32,6%) случаев ЛюмВ/Her2-, 12 (26,0%) случаев ЛюмВ/Her2+, один (2,1%) Her2+ РМЖ, 10(19,5%) случаев ТНРМЖ. В связи с частичной или полной утратой рецидивной опухолью экспрессии ER и PR отмечена конверсия двух (4,2%) случаев ЛюмВ/Her2+ в Her2+ рак, а также 6 (13,0%) случаев конверсии ЛюмА рака в ЛюмВ/Her2-, 5 (10,8%) случаев ЛюмВ/Her2- в ТНРМЖ, одного (2,1%) случая ТНРМЖ в ЛюмВ/Her2-. Медиана БРВ больных РМЖ ЛюмА типа без утраты экспрессии ER-PR составляла 69,0 мес, при утрате экспрессии ER-PR - 33,0 мес; у больных группы ЛюмВ/Her2- без утраты экспрессии ER-PR - 57,5 мес, при утрате ER-PR - 50,0 мес; у больных

ЛюмВ/Her2+ РМЖ без утраты экспрессии ER-PR составляла 32,5 мес, при утрате ER-PR - 31,0 мес.

Таким образом, с учётом агрессивного течения заболевания РМЖ, после проведённого хирургического лечения (иссечение рецидивной опухоли и удаления отдалённого метастаза), с учётом повторного иммунофенотипирования опухоли, всем больным проведена химиотерапия, однако в 6,3% случаях дополнительно назначена гормонотерапия в связи с выявленной экспрессией ER - PR, где в первичной опухоли данная экспрессия отсутствовала.

Отдельно мы провели сравнение медианы ОВ и БРВ больных РМЖ в зависимости от характера экспрессии ER, PR, Her2/neu, а также пролиферативной активности в метакронных очагах опухолевого роста. Так, медиана ОВ больных с сохранной и утраченной экспрессией ER в опухоли составила 33,0 мес и 63,0 мес соответственно; медиана БРВ больных независимо от сохранности экспрессии ER составляла 35,0 мес.

Медиана ОВ больных с сохранной и утраченной экспрессией PR в опухоли составила 59,0 мес и 63,0 мес соответственно; медиана БРВ больных при сохранной и утраченной экспрессии PR – 34,0 мес и 37,5 мес соответственно.

Для оценки взаимосвязи изменчивости индекса Ki-67 в отдаленных метастазах с выживаемостью больных, нами был проведен анализ ОВ и БРВ в трех группах сравнения: 1- без изменения индекса Ki-67 (22 человека), 2- снижение индекса Ki-67 (17 человек), 3- рост индекса Ki-67 (40 человек). Медианы ОВ в 1,2 и 3 группах составили 90, 108, 98 мес, соответственно ($p=0,37$) (Рисунок 34).

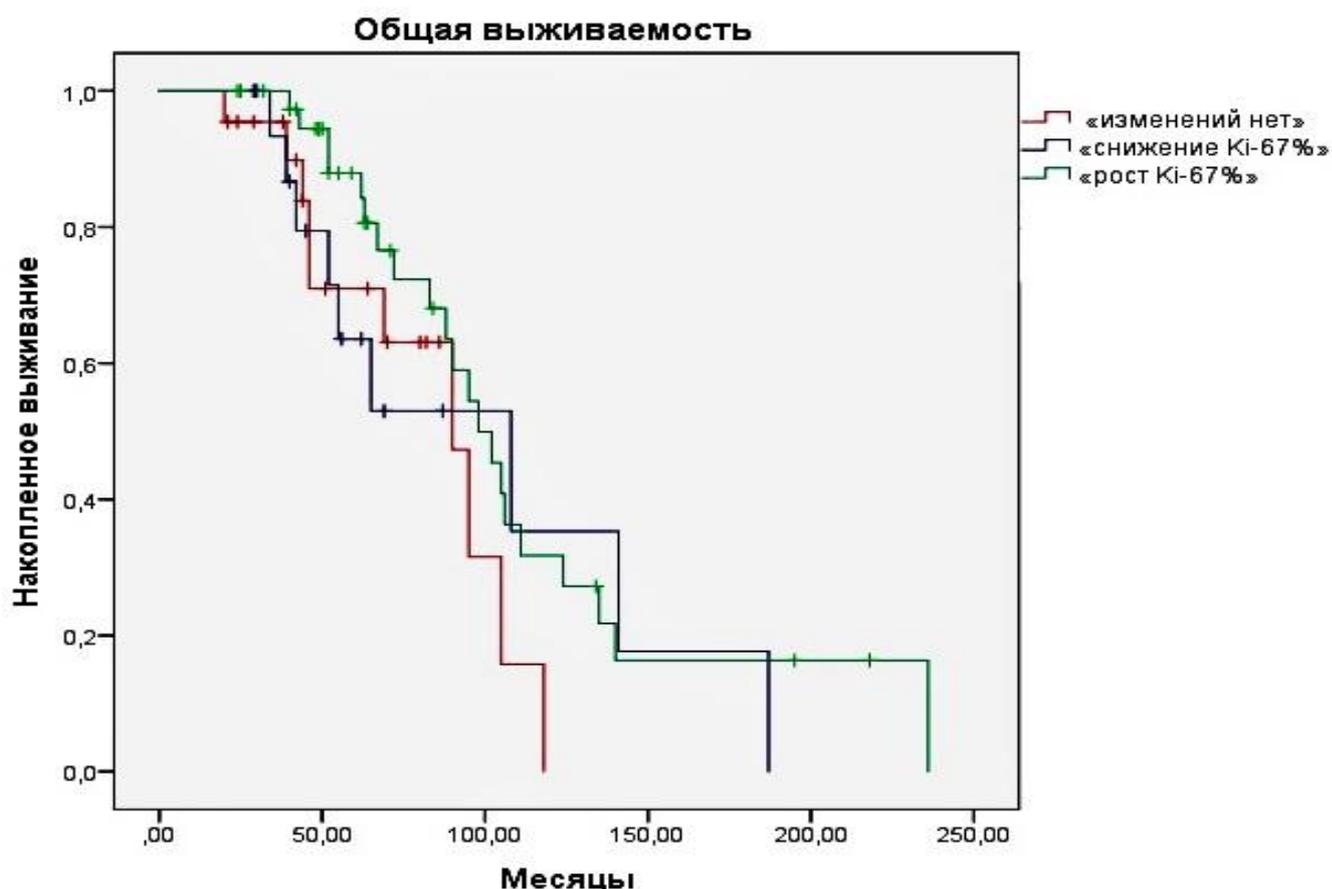


Рисунок 34 - Взаимосвязь индекса пролиферации в метакронных очагах РМЖ с выживаемостью

Учитывая небольшое количество наблюдений, нами не была обнаружена взаимосвязь выживаемости с изменением пролиферативной активности в опухолевой ткани.

Ни в одном из 79 метакронных очагов РМЖ не было отмечено изменение Her2-статуса метакронной рецидивной или метастатической опухоли.

4.2 Сравнительное типирование метакронных очагов люминального А типа рака молочной железы

Среди 54 больных ЛюмА РМЖ у 13 пациенток был выявлен местный рецидив заболевания, у девяти – отдаленные метастазы. За время наблюдения, варьировавшее от 12 до 202 мес (медиана – 32 мес), частота рецидивирования заболевания в данной группе достигла 40,7% (22 случая), летальность за период наблюдения от 19 до 236 мес (медиана – 40 мес) составила 5,5% (3 случая).

Медиана наблюдения группы больных ЛюмА РМЖ составила 40 мес. Среди 9 больных с отдаленными метастазами трое умерли через 105, 111 и 236 мес.

Время возникновения местного рецидива варьировало от 15 до 157 мес (медиана – 30 мес), отдаленных метастазов - от 12 до 202 мес (медиана – 38 мес). Среди 13 больных с местным рецидивом у 8 (61,5%) больных в связи со снижением экспрессии ER-PR или ростом индекса Ki-67 была отмечена конверсия в ЛюмВ/Her2- РМЖ (Таблица 28).

Таблица 28 - Конверсия ЛюмА подтипа в рецидивных опухолях

Первичная опухоль	Рецидивный очаг
Люминальный А (ER=90%, PR=30%, Her2/neu 0, Ki67=28%)	Люминальный В Her2 негативный (ER=40%, PR=0% , Her2/neu 0, Ki67=45%)
Люминальный А (ER=100%, PR=100%, Her2/neu 0, Ki67=14%)	Люминальный В Her2 негативный (ER=75%, PR=5% , Her2/neu 0, Ki67=45%)
Люминальный А (ER=100%, PR=60%, Her2/neu +1, Ki67=20%)	Люминальный В Her2 негативный (ER=40%, PR=30% , Her2/neu 0, Ki67=45%)
Люминальный А (ER=80%, PR=60%, Her2/neu 0, Ki67=18%)	Люминальный В Her2 негативный (ER=70%, PR=40% , Her2/neu 0, Ki67=45%)
Люминальный А (ER=90%, PR=90%, Her2/neu 0, Ki67=18%)	Люминальный В Her2 негативный (ER=90%, PR=0% , Her2/neu 0, Ki67=40%)
Люминальный А (ER=100%, PR=90%, Her2/neu 0, Ki67=20%)	Люминальный В Her2 негативный (ER=40%, PR=10% , Her2/neu 0, Ki67=40%)

Люминальный А (ER=70%, PR=70%, Her2/neu +1, Ki67=10%)	➔	Люминальный В Her2 негативный (ER=100%, PR=40% , Her2/neu 0, Ki67=40%)
Люминальный А (ER=70%, PR=70%, Her2/neu +1, Ki67=12%)	➔	Люминальный В Her2 негативный (ER=50%, PR=40% , Her2/neu 0, Ki67=45%)

В свою очередь, среди 9 больных с отдаленными метастазами РМЖ у 5 (55,5%) больных отмечена конверсия в ЛюмВ/Her2- тип (Таблица 29).

Таблица 29 - Конверсия ЛюмА подтипа в метастазах

Первичная опухоль		Отдаленный метастаз
Люминальный А (ER=100%, PR=80%, Her2/neu 0, Ki67=10%)	➔	Люминальный В Her2 негативный (ER=50% , PR=10% , Her2/neu 0, Ki67=8%)
Люминальный А (ER=100%, PR=90%, Her2/neu +1, Ki67=14%)	➔	Люминальный В Her2 негативный (ER=40% , PR=10% , Her2/neu+1, Ki67=10%)
Люминальный А (ER=90%, PR=90%, Her2/neu 0, Ki67=12%)	➔	Люминальный В Her2 негативный (ER=100% , PR=20% , Her2/neu+1, Ki67=55%)
Люминальный А (ER=70%, PR=70%, Her2/neu 0, Ki67=20%)	➔	Люминальный В Her2 негативный (ER=5% , PR=5% , Her2/neu +1, Ki67=9%)
Люминальный А (ER=70%, PR=70%, Her2/neu +1, Ki67=10%)	➔	Люминальный В Her2 негативный (ER=100% , PR=100% , Her2/neu 0, Ki67=40%)

Медиана наблюдения (медиана БРВ) для группы местного рецидива со стабильным ЛюмА типом и трансформированным «ЛюмА → ЛюмВ/Her2-» составила 27 и 47 мес соответственно ($p=0,044$). Медиана наблюдения (медиана БРВ) для всей группы прогрессирования со стабильным ЛюмА типом и трансформированным «ЛюмА → ЛюмВ/Her2-» составила 27 и 41 мес соответственно ($p=0,046$).

При сравнительном типировании метакронных очагов ЛюмА РМЖ было выявлено, что при более длительном существовании заболевания отмечается утрата экспрессии стероидных рецепторов в опухоли и/или рост пролиферативной активности, что у 55,5% больных привело к конверсии суррогатного типа опухоли в ЛюмВ/Her2-.

4.3 Сравнительное типирование метакронных очагов люминального В-Her2-негативного типа рака молочной железы

Среди 69 больных ЛюмВ/Her2- РМЖ у 10 пациенток был выявлен местный рецидив заболевания, у 17 – отдаленные метастазы. Кроме того, у 2 больных с местным рецидивом РМЖ через 35 и 37 мес возникли отдаленные метастазы. В целом, за время наблюдения, варьировавшее от 12 до 129 мес (медиана – 38 мес), частота рецидивирования заболевания достигла 36,2% (25 случаев), летальность за период наблюдения от 19 до 187 мес (медиана – 45 мес) составила 23,2% (16 случаев). Медиана наблюдения группы больных ЛюмВ/Her2- РМЖ составила 45 мес. Среди 16 умерших больных подавляющее большинство (14 человек) имели отдаленные метастазы, еще 2 больных - местные рецидивы с метакронными отдаленными метастазами.

Медиана времени до возникновения местного рецидива составила 37 мес, до возникновения отдаленных метастазов - 50 мес. Среди 10 больных с местным рецидивом РМЖ не у одной пациентки не было отмечено изменения суррогатного типа опухоли. При этом, из 17 больных с отдаленными метастазами в связи с полной утратой экспрессии опухолью стероидных рецепторов в 7 (41,1%) наблюдениях отмечена конверсия в ТНРМЖ (Таблица 30).

Таблица 30 - Конверсия ЛюмВ/Her2- подтипа в метастазах

Первичная опухоль	Отдаленный метастаз
Люминальный В Her2 негативный (ER=30%, PR=18%, Her2/neu 0, Ki67=20%)	Тройной негативный (ER=0, PR=0, Her2/neu 0, Ki67=40%)
Люминальный В Her2 негативный (ER=60%, PR=18%, Her2/neu 0, Ki67=35%)	Тройной негативный (ER=0, PR=0, Her2/neu 0, Ki67=40%)
Люминальный В Her2 негативный (ER=60%, PR=30%, Her2/neu 0, Ki67=15%)	Тройной негативный (ER=0, PR=0, Her2/neu 0, Ki67=50%)
Люминальный В Her2 негативный (ER=35%, PR=15%, Her2/neu+1, Ki67=53%)	Тройной негативный (ER=0, PR=0, Her2/neu 0, Ki67=95%)
Люминальный В Her2 негативный (ER=30%, PR=10%, Her2/neu 0, Ki67=20%)	Тройной негативный (ER=0, PR=0, Her2/neu 0, Ki67=18%)
Люминальный В Her2 негативный (ER=25%, PR=15%, Her2/neu+1, Ki67=43%)	Тройной негативный (ER=0, PR=0, Her2/neu 0, Ki67=78%)
Люминальный В Her2 негативный (ER=20%, PR=10%, Her2/neu 0, Ki67=18%)	Тройной негативный (ER=0, PR=0, Her2/neu 0, Ki67=25%)

Медиана БРВ больных с отдаленными метастазами со стабильным суррогатным типом и трансформированным типом «ЛюмВ/Her2- → ТНРМЖ» составила 57,5 и 50,0 мес. соответственно ($p=0,64$). В свою очередь, медиана ОВ больных со стабильным суррогатным типом и трансформированным «ЛюмВ/Her2- → ТНРМЖ» в метастазах РМЖ составила 88,5 и 98,0 мес. соответственно ($p=0,30$). Нами не получены доказательства негативного влияния

конверсии в ТНРМЖ на ОВ больных. Однако, следует отметить, что частота метастатического ЛюмВ/Her2- РМЖ с тройным негативным фенотипом возрастает с течением времени. Так, при сроке наблюдения не более 5 лет она составляла 20%, при наблюдении более 5 лет - 30% ($p=0,157$). Несмотря на то, что нам не удалось подтвердить достоверность взаимосвязи длительности существования ЛюмВ/Her2- РМЖ с частотой его трансформации в ТНРМЖ, нами выявлена тенденция к утрате экспрессии стероидных рецепторов с течением времени. В таблице 31 приведены медианы уровней экспрессии стероидных рецепторов и пролиферативной активности первичных опухолей и соответствующих метакронных метастазов в группе больных ЛюмВ/Her2- РМЖ.

Таблица 31 – Медиана экспрессии стероидных рецепторов и пролиферативной активности первичного и метакронного метастатического очага (ЛюмВ/Her2- РМЖ)

Живые больные (n=53)			
	ER	PR	Индекс Ki-67
Первичная опухоль	70,0%	30,0%	30,0%
Умершие больные (n=16)			
	ER	PR	Индекс Ki-67
Первичная опухоль	60,0%	18,0%	30,0%
Отдаленный метастаз	11,5%	0%	37,5%

Для анализа достоверности различий экспрессии ER и PR в первичном ЛюмВ-Her2- РМЖ в группе живых ($n=53$) и умерших ($n=16$) пациентов нами был использован тест Mann-Whitney. Медианы экспрессии ER в группе живых и умерших пациентов составили 70,0% (95%ДИ,30-100%) и 60,0% (95%ДИ,20-90%) соответственно ($p=0,003$). Медианы экспрессии PR в группе живых и умерших пациентов составили 30,0% (95%ДИ,0-90%) и 18,0% (95%ДИ,0-60%) соответственно ($p=0,22$). Таким образом, высокий уровень экспрессии ER в первичной опухоли был достоверно ассоциирован с более высокими

показателями выживаемости. Однако, подобная зависимость с экспрессией PR нами не была выявлена.

Различия в уровне пролиферативной активности были не достоверны ($p=0,68$).

Полученные данные позволяют говорить, что наличие отдаленных метастазов у больных ЛюмВ/Her2- РМЖ было ассоциировано с наступлением летального исхода.

Иммунофенотипическими отличительными особенностями метакронных отдаленных метастазов ЛюмВ/Her2- РМЖ являлись утрата экспрессии стероидных рецепторов и рост пролиферативной активности. Принимая во внимание тот факт, что группа живых пациентов с отдаленными метастазами была представлена единственным наблюдением, нам не удалось провести сравнительный анализ взаимосвязи утраты экспрессии стероидных рецепторов и выживаемости больных.

4.4 Сравнительное типирование метакронных очагов люминального В- Her2-позитивного типа рака молочной железы

Среди 22 больных ЛюмВ/Her2+ РМЖ у 3 пациенток был выявлен местный рецидив заболевания, у 12 – отдаленные метастазы. За время наблюдения в диапазоне от 13 до 99 мес (медиана – 22 мес) общая частота рецидивирования ЛюмВ/Her2+ РМЖ составила 68,2% (15 случаев), а частота летальных исходов за время наблюдения от 26 до 124 мес (медиана – 51 мес) достигла 45,4% (10 случаев). В целом, медиана наблюдения группы больных ЛюмВ/Her2+ РМЖ составила 51 мес. У всех умерших пациентов были выявлены отдаленные метастазы. У 11 (91,6%) из 12 больных отдаленные метастазы были выявлены в головном мозге, у одной больной – в печени. В группе 10 умерших больных с отдаленными метастазами медиана времени от момента прогрессирования до летального исхода составила 30,5 мес. Среди пациенток с местным рецидивом заболевания за период наблюдения не было выявлено случаев прогрессирования или летальных исходов.

Медиана возникновения местного рецидива составляла 15 мес, отдаленных метастазов - 31,5 мес. Среди 3 больных с местным рецидивом у одной (33,3%) больной в связи с утратой экспрессии ER и PR в опухоли была отмечена конверсия в Her2+ РМЖ. В свою очередь, среди 12 больных с отдаленными метастазами РМЖ у 3 (25,0%) больных отмечена конверсия РМЖ в Her2+ суррогатный тип (Таблица 32).

Таблица 32 - Конверсия ЛюмВ/Her2+ подтипа в метастазах

Первичная опухоль	Отдаленный метастаз
Люминальный В Her2 позитивный (ER=70%, PR=50%, Her2/neu +3, Ki67=35%)	Her2 подтип (ER=0, PR=0, Her2/neu+3, Ki67=55%)
Люминальный В Her2 позитивный (ER=55%, PR=40%, Her2/neu +3, Ki67=40%)	Her2 подтип (ER=0, PR=0, Her2/neu+3, Ki67=60%)
Люминальный В Her2 позитивный (ER=60%, PR=50%, Her2/neu +3, Ki67=50%)	Her2 подтип (ER=0, PR=0, Her2/neu+3, Ki67=50%)

В целом, в группе 15 больных медиана времени до прогрессирования при стабильном суррогатном типе и трансформированном в Her2+ РМЖ составила 29 и 27 мес соответственно (p=0,32).

В таблице 33 приведены медианы уровней экспрессии стероидных рецепторов и пролиферативной активности первичных опухолей и соответствующих метастазов в группе больных ЛюмВ/Her2+ РМЖ.

Таблица 33 - Медиана экспрессии стероидных рецепторов и пролиферативной активности первичного очага и метакронного метастаза ЛюмВ/Her2+ РМЖ

Живые больные (n=12)			
	ER	PR	Индекс Ki-67
Первичная опухоль	60,0%	7,5%	26,0%
Умершие больные (n=9)			
	ER	PR	Индекс Ki-67
Первичная опухоль	50,0%	40,0%	30,0%
Отдаленный метастаз	13,5%	0,0%	55,0%

Из приведенных в таблице 33 данных видно, что метакронные отдаленные метастазы ЛюмВ/Her2+ РМЖ отличает утрата экспрессии стероидных рецепторов и рост пролиферативной активности.

Для анализа достоверности различий экспрессии ER и PR в первичном ЛюмВ-Her2+ РМЖ в группе живых (n=12) и умерших (n=9) пациентов нами был использован тест Mann-Whitney. Медианы экспрессии ER в группе живых и умерших пациентов составили 60,0% (95%ДИ,0-100%) и 50,0% (95%ДИ,5-100%) соответственно (p=0,80). Медианы экспрессии PR в группе живых и умерших пациентов составили 8,0% (95%ДИ,0-90%) и 40,0% (95%ДИ,0-90%) соответственно (p=0,16). Таким образом, уровень экспрессии рецепторов стероидных гормонов в данной группе не был ассоциирован с прогнозом заболевания. Последнее, на наш взгляд, может быть связано с малой выборкой больных.

Показано, что наличие отдаленных метастазов у больных ЛюмВ/Her2+ РМЖ было ассоциировано с наступлением летального исхода (p=0,033).

В связи с тем, что группа живых пациентов с отдаленными метастазами была представлена лишь 2 наблюдениями, нам не удалось провести сравнительный анализ взаимосвязи утраты экспрессии стероидных рецепторов и выживаемости больных.

4.5 Сравнительное типирование метакронных очагов Her2-позитивного рака молочной железы

Среди 8 больных Her2+ РМЖ у 3 (37,5%) пациенток был выявлен местный рецидив заболевания, у одной (12,5%) – отдаленные метастазы. При медиане наблюдения, равной 31 мес, общая частота рецидивирования Her2+ РМЖ составила 50,0% (4 случая), а частота летальных исходов за время наблюдения от 26 до 195 мес (медиана – 37,5 мес) - 12,5% (1 случай). В целом, медиана наблюдения группы больных Her2+ РМЖ составила 37,5 мес. У единственной умершей пациентки были выявлены отдаленные метастазы (головной мозг). Стоит отметить, что в данном случае метастатические очаги были удалены хирургическим методом, после чего, учитывая повторное иммунофенотипирование опухоли и соматическое состояние пациентки, в адъювантном периоде была назначена анти-Her2-ТТ совместно с ГТ – смерть наступила через 47 мес от момента прогрессирования. Среди пациенток с местным рецидивом заболевания за период наблюдения не было выявлено ни одного случая прогрессирования или летальных исходов. Также, за весь период наблюдения данной группы больных ни в одном из случаев не была отмечена конверсия суррогатного типа РМЖ.

Сравнительный анализ пролиферативной активности первичного и метакронного метастатического Her2+ РМЖ показал, что медиана индекса Ki-67 (4 наблюдения) за период 5-170 мес выросла с 30,0% до 47,5% соответственно. В связи с малым числом пациентов и непродолжительным периодом наблюдения нам не удалось выявить взаимосвязь выживаемости больных с изменчивостью уровня пролиферативной активности.

4.6 Сравнительное типирование метакронных очагов тройного негативного рака молочной железы

Среди 17 больных ТНРМЖ у 4 (23,5%) пациенток был выявлен местный рецидив заболевания, у 10 (58,8%) – отдаленные метастазы. При медиане наблюдения, равной 35 мес, общая частота рецидивирования ТНРМЖ составила

82,3% (14 случаев), а частота летальных исходов за время наблюдения от 20 до 140 мес (медиана – 40 мес) – 58,8% (10 случаев). В целом, медиана наблюдения группы больных ТНРМЖ составила 40 мес. У одной пациентки с местным рецидивом ТНРМЖ через 47 мес были выявлены метастазы в головном мозге. У всех умерших за период наблюдения больных были выявлены отдаленные метастазы. В 80% случаях отдаленные метастазы располагались в головном мозге, в 20% случаях – в печени. У одной (10%) пациентки были множественные метастазы в печень с признаками печеночной недостаточности, что не позволило начать противоопухолевую терапию, однако, в другом случае при метастатическом поражении печени (10%) была назначена лекарственная терапия капецитабином в монорежиме. У 8 (80%) больных с метастатическими очагами в головном мозге было выполнено хирургическое лечение с последующей лекарственной терапией. Медиана времени от появления отдаленных метастазов до наступления смерти от прогрессирования составляла 16,5 мес. Среди остальных 3 пациенток с местным рецидивом заболевания за период наблюдения не было выявлено случаев прогрессирования или летальных исходов.

За весь период наблюдения данной группы больных ни в одном из случаев не была отмечена конверсия суррогатного типа РМЖ.

Сравнительный анализ пролиферативной активности первичного и метастатического ТНРМЖ показал, что медиана индекса Ki-67 (10 наблюдений) за период от 3 мес до 82 мес осталась неизменной (50,0% и 50,5% соответственно). Ориентируясь на медиану индекса Ki-67 в группе больных с отдаленными метастазами (50,5%), мы разделили все наблюдения (n=10) на 2 группы сравнения, исходя из того, какой индекс Ki-67 был выявлен в метастазе. Сравнительные показатели ОВ и БРВ больных с отдаленными метастазами в зависимости от индекса Ki-67 приведены в таблице 34.

Нами была выявлена тенденция к обратной зависимости между пролиферативной активностью метастатической опухоли и показателями БРВ (p=0,67) и ОВ (p=0,77). Так, индекс пролиферации ниже медианы 50,5% был ассоциирован со снижением показателей БРВ и ОВ. Однако, крайне малое

количество случаев в группах сравнения, на наш взгляд, не позволило выявить статистически достоверные различия в показателях выживаемости больных метастатическим ТНРМЖ.

Таблица 34 - Взаимосвязь выживаемости больных с отдаленными метастазами ТНРМЖ с пролиферативной активностью метастатической опухоли (медиана Ki-67 – 50,5%)

	ОВ, мес	БРВ, мес
Индекс Ki-67 ниже 50,5% (n=5)	39	10
Индекс Ki-67 выше 50,5% (n=5)	44	37

Заключение.

При анализе выживаемости больных метастатическим ТНРМЖ нами была выявлена тенденция, показывающая что снижение пролиферативной активности отдаленных метастазов ассоциирована со снижением выживаемости больных. Несмотря на то, что малое количество наблюдений не позволило выявить достоверность различий, полученные нами результаты согласуются с данными мировой литературы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у 168 больных при повторном иммунофенотипировании первичного очага на операционном материале была обнаружена конверсия суррогатного подтипа в 20 (11,9%) случаях. Наибольший уровень изменчивости суррогатного подтипа РМЖ был зафиксирован среди «рецептор-обогащенных» опухолей (люминальная группа) (таблица 35).

Таблица 35 - Сравнительная оценка суррогатного подтипа первичной опухоли в операционном материале (n=20)

Кор-биопсия	Операционный материал	Число конверсий (в операционном материале)
ЛюмА	➔ ЛюмВ/Her2-	9 (5,3%)
ЛюмВ/Her2-	➔ ЛюмВ/Her2+	8 (4,8%)
ЛюмВ/Her2-	➔ ТНРМЖ	1 (0,6%)
ТНРМЖ	➔ Her2 подтип	1(0,6%)
ТНРМЖ	➔ ЛюмВ/Her2-	1 (0,6%)

При сравнительном анализе молекулярно-биологических характеристик опухолевых очагов у 162 больных в 6 (3,7%) случаях были отмечены значимые отличия в суррогатных подтипах первичного очага и регионарного метастаза (Таблица 36).

Таблица 36 - Конверсия суррогатных подтипов в регионарном метастазе (n=6)

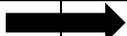
Первичная опухоль	Регионарный метастаз	Число конверсий (в операционном материале)
ЛюмА	➔ ЛюмВ/Her2-	5 (4,3%)
ЛюмВ/Her2+	➔ Her2 подтип	1 (0,9%)

Результаты исследования позволяют говорить, что в большинстве случаев основные молекулярно-биологические характеристики первичной опухоли и

регионарного метастаза значительно не отличались. Однако, у малого числа пациенток, повторное определение суррогатного подтипа в метастатическом регионарном очаге, позволило обнаружить конверсию биологического подтипа, что привело к коррекции лекарственного лечения.

При повторном иммунофенотипировании резидуальной опухоли у 51 больной после проведенной НАТ были обнаружены новые 3 (5,8%) случая гиперэкспрессии Her2/neu, вследствие чего суррогатной подтип в первичной опухоли был изменен (Таблица 37).

Таблица 37. - Конверсия суррогатных подтипов в резидуальной опухоли (n=3)

Первичная опухоль (трепан)	Резидуальная опухоль	Число конверсий (в операционном материале)
ЛюмВ/Her2- 	ЛюмВ/Her2+	2 (3,9%)
ТНРМЖ 	Her2 подтип	1 (1,9%)

При сравнении молекулярно-биологических характеристик в 46 парах «первичная опухоль - регионарный метастаз» после проведенной НАТ, конверсий суррогатного подтипа не обнаружено.

При сравнительном анализе молекулярно-биологических характеристик в местных рецидивных опухолевых очагах у 33 больных в 8 (24,2%) случаях были обнаружены отличия в суррогатных подтипах по сравнению с первичной опухолью (Таблица 38).

Таблица 38. - Конверсия суррогатных подтипов в рецидивном очаге (n=8)

Первичная опухоль	Рецидивный очаг	Число конверсий (в операционном материале)
ЛюмА 	ЛюмВ/Her2-	7 (21,2%)
ЛюмВ/Her2+ 	Her2 подтип	1 (3,0%)

При определении молекулярно-биологических характеристик в метасинхронных метастатических очагах и первичном опухолевом очаге, обнаружена конверсия суррогатных подтипов в 13 (27,7%) случаях из 47 (Таблица 39).

Таблица 39. - Конверсия суррогатных подтипов в метасинхронном метастазе (n=13)

Первичная опухоль	Метасинхронный метастаз	Число конверсий (в операционном материале)
ЛюмА	➔ ЛюмВ/Her2-	5 (10,6%)
ЛюмВ/Her2+	➔ Her2 подтип	2 (4,3%)
ЛюмВ/Her2-	➔ ТНРМЖ	5(10,6%)
ТНРМЖ	➔ ЛюмВ/Her2-	1 (2,2%)

Таким образом, в большинстве случаев местных рецидивов и метасинхронных метастазов была отмечена тенденция к снижению экспрессии рецепторов ER и PR, а также рост индекса Ki-67. Результаты анализа показывают, что процесс утраты опухолью экспрессии стероидных рецепторов и/или повышение пролиферативной активности является времязависимым параметром.

Так, нами было показано, что при медиане наблюдения более 40 мес отмечен заметный рост частоты конверсии ЛюмА в ЛюмВ/Her2- РМЖ, как в группе местного рецидива, так и у больных с отдаленными метастазами.

Результаты проведенного исследования показывают, что повторное типирование метастатических очагов РМЖ целесообразно для динамического контроля уровня экспрессии маркеров, что позволит определить прогноз заболевания и выбор оптимальной лекарственной терапии.

Анализ общей и безрецидивной выживаемости больных различными суррогатными подтипами РМЖ, продемонстрировал, что точность оценки прогноза заболевания зависит от биологического подтипа и достоверно выше при типировании первичной опухоли на операционном материале.

Нам не удалось в настоящем исследовании обнаружить взаимосвязь НАТ с выживаемостью больных.

Кроме того, анализ выживаемости больных показал, что наличие метастатических отдалённых метастазов было ассоциировано с наступлением летального исхода.

Учитывая всё вышесказанное, можно утверждать, что динамическое молекулярно-биологическое типирование рецидивных и метастатических очагов РМЖ с использованием суррогатных биомаркеров, позволяет обнаружить новые рецепторные характеристики опухоли, что является причиной коррекции лекарственной терапии, а это в свою очередь позволяет улучшить прогноз заболевания и повысить выживаемость больных РМЖ.

ВЫВОДЫ

1) Сравнительное суррогатное типирование первичной опухоли в парах «кор-биопсия - операционный материал» в группе больных без НАТ выявило клинически значимое изменение суррогатного подтипа РМЖ у 20 (11,9%) пациентов, в группе с НАТ – у 3 (5,8%) больных. Наибольшая частота изменчивости экспрессии маркеров зафиксирована в люминальных подтипах рака по сравнению с Her2-амплифицированным раком и ТНРМЖ (0% и 1,2%, соответственно).

2) Сравнительное суррогатное типирование в парах «первичная опухоль – регионарный метастаз» независимо от проведения НАТ выявило клинически значимое изменение суррогатного подтипа опухоли в 6 (3,7%) случаях. Среди пациентов с НАТ в 5 (9,8%) случаях произошла конверсия суррогатного подтипа РМЖ в регионарном метастазе.

3) Сравнительный анализ экспрессии маркеров в парах «первичная опухоль – местный рецидив» показал, что у 8 (24,2%) больных возникла конверсия суррогатного подтипа опухоли в связи со снижением экспрессии ER, PR и ростом пролиферативной активности, при стабильном Her2-статусе опухоли.

4) Сравнительный анализ экспрессии маркеров в парах «первичная опухоль – отдаленный метастаз» показал, что у 13 (27,7%) больных возникла конверсия суррогатного подтипа опухоли в связи со снижением или исчезновением экспрессии ER, PR или ростом пролиферативной активности, при стабильном Her2-статусе опухоли.

5) Частота конверсии суррогатного подтипа опухоли для групп люминального РМЖ носила времязависимый характер: при медиане наблюдения более 40 мес отмечена конверсия ЛюмА в ЛюмВ/Her2- РМЖ, как в группе местного рецидива, так и у больных с отдаленными метастазами, за счет утраты опухолью экспрессии стероидных рецепторов и/или повышение пролиферативной активности.

6) Анализ прогностической ценности суррогатного типирования РМЖ на различном гистологическом материале выявил превосходство операционного

материала над кор-биопсией для ЛюмА подтипа, ЛюмВ-Her2-негативного подтипа, ЛюмВ-Her2-позитивного подтипа. Наиболее высокие показатели ОВ были ассоциированы с ЛюмА (218 мес, $p=0,035$), ЛюмВ-Her2-негативного подтипа (105 мес, $p=0,73$), ЛюмВ-Her2-позитивного подтипа (72 мес, $p=0,83$). У больных Her2-позитивным раком и ТНРМЖ выявлена тенденция к снижению показателей выживаемости по сравнению с люминальными группами РМЖ (55 мес, $p=0,95$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1) С целью повышения точности оценки лекарственной чувствительности и прогноза РМЖ необходимо проводить повторное суррогатное типирование первичной опухоли и регионарного метастаза на операционном материале, независимо от проведения НАТ.

2) С целью динамической коррекции лекарственного лечения рецидивного и метастатического РМЖ необходимо проводить повторное суррогатное типирование опухоли.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АХТ- адъювантная химиотерапия

БРВ- безрецидивная выживаемость

ГТ-гормональная терапия

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИГХ исследование – иммуногистохимическое исследование

ИГХ-подтип – иммуногистохимический подтип

Люм А – люминальный А подтип

Люм В – люминальный В подтип

ЛюмВ/Her2⁻ -люминальный В Her2 негативный подтип

ЛюмВ/Her2⁺ - люминальный В Her2 позитивный подтип

НАТ- неoadъювантная терапия

НАХТ- неoadъювантная химиотерапия

ОВ- общая выживаемость

РМЖ-рак молочной железы

РНК-рибонуклеиновая кислота

ТНРМЖ-тройной негативный рак молочной железы

ТТ-таргетная терапия

ER- рецепторы эстрогена

FISH – Fluorescence in situ Hybridization

Her2- human epidermal growth factor receptor 2

IARC- INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER

Ki67-индекс пролиферативной активности

PR-рецепторы прогестерона

TNM – Tumor, Node, Metastases – Международная классификация стадий злокачественных новообразований

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бесова, Н.С. Выбор адъювантной лекарственной терапии на основе молекулярной классификации рака молочной железы / Н.С. Бесова // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2012. – № 3–4. – С. 61–73.
2. Божок, А.А. Эффективность хирургического лечения при метастатическом раке молочной железы / А.А. Божок, Э.Э. Топузов, В.Ф. Семиглазов // Уральский медицинский журнал. – 2014. – № 2 (116). – С. 41–47.
3. Буланов, Д.В. Актуальные аспекты молекулярно-биологической классификации рака молочной железы / Д.В. Буланов // Молекулярная медицина. – 2015. – № 2. – С. 24–26.
4. Завьялова, М.В. Особенности морфологического строения люминального А типа рака молочной железы / М.В. Завьялова, Н.С. Телегина, С.В. Вторушин // Сибирский онкологический журнал. – 2013. – № 1 (55). – С. 38–41.
5. Зикириходжаев, А.Д., Ермощенко А.Х., Исмагилов С.М. Клинические рекомендации РООМ по диагностике и лечению рака молочной железы. 2018.
6. Каприн, А.Д. Злокачественные новообразования в России в 2018 г. (заболеваемость и смертность) / Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В.// МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2018.
7. Кит, О.И. Частота встречаемости различных молекулярно-биологических подтипов рака молочной железы в зависимости от репродуктивного статуса / О.И. Кит, Ю.С. Шатова, С.С. Тодоров // Российский онкологический журнал. – 2014. – Т. 19, № 5. – С. 24–27.
8. Крахмаль, Н.В. Особенности рецепторного статуса опухоли при синхронном и метасинхронном билатеральном раке молочных желез / Н.В. Крахмаль, Е.А. Фесик, Н.С. Телегина // Уральский медицинский журнал. – 2014. – № 8 (122). – С. 40–42.

9. Кудайбергенова, А.Г. Перевод рекомендаций CAP. Протокол исследования инвазивного рака молочной железы. Общероссийская общественная организация «Российское общество онкомамологов», 2016.

10. Леонтьев, С.Л. Создание системы пересмотра иммуногистохимических исследований при диагностике рака молочной железы / С.Л. Леонтьев, С.В. Сазонов // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2012. – № 1 (38). – С. 18–22.

11. Новикова, И.А. Проллиферативные и иммунологические характеристики молекулярно-биологических подтипов рака молочной железы / И.А. Новикова, Ю.С. Шатова, Е.Ю. Златник // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – № 11-1. – С. 116–119.

12. Орлова, Р.В. Химиотерапия злокачественных опухолей: проблемы и перспективы / Р.В. Орлова, Р.И. Вайзьян // Вопросы онкологии. – 2015. – № 2. – С. 244–251.

13. Пономарева, О.М. Современные представления о возможностях лекарственной терапии пациенток с тройным негативным раком молочной железы (ASCO 2011) / Пономарева О.М. // Онкология. – 2011. – Т. 13, № 3. – С. 214–223.

14. Семиглазов, В.Ф., Палтуев Р.М. Клинические рекомендации ROOM по диагностике и лечению рака молочной железы. 2018.

15. Семиглазов, В.Ф. Молекулярно-генетические обоснования гетерогенности злокачественных опухолей / В.Ф. Семиглазов, Е.Н. Имянитов, Г.А. Дашян, В.В. Семиглазов // Медицинский академический журнал. – 2009. – Т. 9, № 4. – С. 37–40.

16. Семиглазов, В.Ф. Общие рекомендации по лечению раннего рака молочной железы St . Gallen-2015, адаптированные экспертами Российского общества онкомамологов / В. Ф. Семиглазов, Р. М. Палтуев, В. В. Семиглазов и др. // Маммология – 2015. – С. 43 – 60.

17. Слонимская, Е.М. Роль морфологических и генетических особенностей строения рецепторов эстрогенов в развитии резистентности к

эндокринотерапии тамоксифеном у пациенток с люминальным раком молочной железы / Е.М. Слонимская, С.В. Вторушин, Н.Н. Бабышкина // Сибирский онкологический журнал. – 2014. – № 3. – С. 39–44.

18. Стенина, М.Б. Практические рекомендации по лекарственному лечению инвазивного рака молочной железы / М.Б. Стенина, Л.Г. Жукова, И.А. Королева и др. // Злокачественные опухоли. – 2016. – Т. 4, Спецвыпуск - 2. – С. 97–122.

19. Федоров, В.Э. Распространенность и факторы риска рака молочной железы / В.Э. Федоров, М.Ю. Чебуркаева // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1-2. – С. 414–419.

20. Allison, K.H., Hammond M.E., Dowsett M. et al. Estrogen and Progesterone Receptor Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Update/Arch Pathol Lab Med. 2020 Jan 13.

21. Amir, E., Miller N., Geddie W., et al. Prospective study evaluating the impact of tissue confirmation of metastatic disease in patients with breast cancer // J Clin Oncol.- 2012.- Vol.30.- P.587–92.

22. Assersohn, L., Salter J., Powles T.J., et al. Studies of the potential utility of Ki67 as a predictive molecular marker of clinical response in primary breast cancer // Breast Cancer Res Treat. - 2003.- Vol. 82 (2).- P. 113–123.

23. Aurilio, G, Monfardini L, Rizzo S., et al. Discordant hormone receptor and human epidermal growth factor receptor 2 status in bone metastases compared to primary breast cancer // Acta Oncol. – 2013. - Vol. 52(8). - P. 1649-1656.

24. Balic, M., Thomssen C., Würtle R., et al. St. Gallen/Vienna 2019: A Brief Summary of the Consensus Discussion on the Optimal Primary Breast Cancer Treatment // Breast Care (Basel). - 2019 Apr. - Vol. 14(2). – P. 103-110.

25. Bedard, P.L. Tumour heterogeneity in the clinic / P. L. Bedard, A. R. Hansen, M. J. Ratain [et al.] // Nature. – 2013. – Vol. 501 – P. 355–364c.

26. Berruti, A. Presurgical Systemic Treatment of Nonmetastatic Breast Cancer: Facts and Open Questions / A. Berruti, P. Brizzi, D. Generali [et al.] // *Oncologist*. – 2008. – Vol. 13. – P. 1137–1148.
27. Bhatia, S. The challenges posed by cancer heterogeneity / S. Bhatia, J. V Frangioni, R. M. Hoffman [et al.] // *Nat. Biotechnol.* – 2012. – Vol. 30(7). – P. 604–610
28. Bonacho, T., Rodrigues F., Liberal J. Immunohistochemistry for diagnosis and prognosis of breast cancer: a review// *Biotech Histochem.* - 2020 Feb. - Vol.95 (2).- P.71-91.
29. Botteri, E., Disalvatore D., Curigliano G. et al. Biopsy of liver metastasis for women with breast cancer: impact on survival. *Breast*. 2012;21(3):284-288.
30. Burrell, R.A. The causes and consequences of genetic / R. A. Burrell, N. Mcgranahan, J. Bartek [et al.] // *Nature*. – 2013. – Vol. 501. – P. 338–345.
31. Bustreo, S., Osella-Abate S., Cassoni P., et al. Ki67 cut-off for luminal breast cancer prognostic evaluation: a large case series study with a long-term follow-up// *Breast Cancer Res Treat.* - 2016 Jun. - Vol.157 (2). - P.363-371.
32. Byrski, T. Pathologic complete response rates in young women breast cancers after neoadjuvant chemotherapy / T. Byrski, J. Gronwald, T. Huzarski // *Ibid.* – 2010. – Vol. 28. – P.375–379.
33. Campbell, L.L. Breast Tumor Heterogeneity / L. L. Campbell, K. Polyak // *Cell Cycle*. – 2007. – Vol. 6(19). – P. 2332–2338.
34. Cejalvo, J.M., Martínez de Dueñas E., Galván P., et al. Intrinsic Subtypes and Gene Expression Profiles in Primary and Metastatic Breast Cancer/*Cancer Res.* 2017 May 1;77(9):2213-2221
- Berruti A. Presurgical Systemic Treatment of Nonmetastatic Breast Cancer: Facts and Open Questions / A. Berruti, P. Brizzi, D. Generali [et al.] // *Oncologist*. – 2008. – Vol. 13. – P. 1137–1148.
35. Coates, A.S., Winer E.P., Goldhirsch A., et al. Tailoring therapies--improving the management of early breast cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015 // *Ann Oncol.* - 2015 Aug.-Vol.26 (8). - P.1533-46.

36. Cheang, M. C., S. K. Chia, D. Voduc, D. Gao, S. Leung, J. Snider, et al., Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer // *J Natl Cancer Inst.*- 2009. – Vol.101 (10). - P. 736- 750.
37. Chen, J. A restricted cell population propagates glioblastoma growth after chemotherapy / J. Chen, Y. Li, T. Yu [et al.] // *Nature.* – 2012. – Vol. 488. – P. 522–526.
38. Colomer, R., Aranda-López I., Albanell J., et al. Biomarkers in breast cancer: A consensus statement by the Spanish Society of Medical Oncology and the Spanish Society of Pathology // *Clin Transl Oncol.* - 2018 Jul. - Vol. 20(7). - P.815-826.
39. Curigliano, G., Bagnardi V., Viale G, et al. Should liver metastases of breast cancer be biopsied to improve treatment choice? // *Ann Oncol.* – 2011.-Vol. 22(10). – P.2227-2233.
40. De Thonel, A., Hazoumu A., Kochin V., et al. Regulation of the proapoptotic functions of prostate apoptosis response-4 (Par-4) by casein kinase 2 in prostate cancer cells // *Cell Death Dis.* - 2014. – Vol.5. - P. 1016.
41. Denison, T.A. Tumor heterogeneity and its implication for drug delivery / T. A. 140 Denison, Y. Han // *J. Control. Release.* – 2012. – Vol. 164(2). – P. 187–191.
42. Denisov, E.V., Gerashchenko T.S., Zavyalova M.V. [et al.] // *Neoplasma.* - 2015. - Vol. 62. № 3. - P. 405–411.
43. Denkert, C., Wienert S., Poterie A., et al., “Standardized evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer: results of the ring studies of the international immuno-oncology biomarker working group // *Modern Pathology.* - 2016. - Vol. 29. № 10. - P.1155.
44. Dent, R., Trudeau M., Pritchard K.I. et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence // *Clin Cancer Res.*- 2007.- Vol.13.- P.4429-34.
45. Dieci, M.V., Barbieri E., Piacentini F., et al. Discordance in receptor status between primary and recurrent breast cancer has a prognostic impact: a single-institution analysis // *Ann Oncol.*- 2013.- Vol.24(1).-P.101-108.

46. Driessens, G. Defining the mode of tumour growth by clonal analysis / G. Driessens, B. Beck, A. Caauwe // *Nature*. – 2012. – Vol. 488. – P. 527–530.
47. Erdem, G.U., Altundag K., Ozdemir N.Y., et al. Comparative study of receptor discordance between primary and corresponding metastatic lesions in breast cancer // *J BUON*. – 2017. – Vol. 22(2).- P.365 - 376.
48. Esteller, M. Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone - modification maps / M. Esteller // *Nat. Rev. Genet.* – 2007. – Vol. 8. – P. 286–298.
49. Foulkes, W.D., Brunet J.B., Stefansson I.M. et al. The prognostic implication of the basal-like (cyclin E high/ p27low/p53+/glomeruloid-microvascular-proliferation+) phenotype of BRCA1-related breast cancer // *Cancer Res.* – 2004.- Vol.64. – P.830-835.
50. Gerlinger, M. How Darwinian models inform therapeutic failure initiated by clonal heterogeneity in cancer medicine / M. Gerlinger, C. Swanton // *Br. J. Cancer.* – 2010. – Vol. 103(8). – P. 1139–1143.
51. GLOBOCAN 2018. Official web-site. – Mode of access: <https://gco.iarc.fr/>.
52. Gnant, M. St . Gallen / Vienna 2015: A Brief Summary of the Consensus Discussion / M. Gnant, C. Thomssen, N. Harbeck // *Breast Care.* – 2015. – Vol. 10. - P. 124–130.
53. Goldhirsch, A., Ingle J.N., Gelber R.D., et al. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009//*Ann Oncol.* 2009 Aug. – Vol.20 (8). – P.1319-29.
54. Goldhirsch, A., Winer E.P., Coates A.S., et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013 // *Ann Oncol.* 2013 Sep. – Vol.24 (9). – P.2206-23.
55. Goldhirsch, A., Wood W.C., Coates A.S., et al. Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011 // *Ann Oncol.* 2011 Aug. – Vol.22 (8). – P.1736-47.

56. Greaves, M. Clonal evolution in cancer / M. Greaves, C. C. Maley // Nature. – 2012. – Vol. 481. – P. 306–313
57. Guarneri, V., Broglio K., Kau S.W. et al. Prognostic value of pathologic complete response after primary chemotherapy in relation to hormone receptor status and other factors // J Clin Oncol. - 2006. - Vol. 24 (7). - P.1037–1044.
58. Harris, L., Fritsche H., Mennel R. et al. American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer // J Clin Oncol. - 2007. - Vol. 25 (33). - P. 5287–5312.
59. Holohan, C. Cancer drug resistance: an evolving paradigm / C. Holohan, S. Van Schaeybroeck [et al.] // Nat. Rev. Cancer. – 2013. – Vol. 13(10). – P. 714–726.
60. Houssami, N. Meta-analysis of the association of breast cancer subtype and pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy / N. Houssami, P. Macaskill, G. Von Minckwitz [et al.] // Eur. J. Cancer. – 2012. – Vol. 48(18). – P. 3342–3354.
61. Ilgun, S., Sarsenov D., Erdogan Z., et al. Receptor discordance rate and its effects on survival in primary and recurrent breast cancer patients // J BUON. – 2016.- Vol.21 (6).-P.1425-1432.
62. Jemal, A. Atlas of cancer. Second edition [Электронный ресурс] / A. Jemal, P. Vineis, F. Bray, L. Torre, D. Furman (editor). – Atlanta, GA: American cancer society, 2018. – Режим доступа: www.cancer.org/canceratlas.
63. Jones, R.L., Salter J., A'Hern R., et al. The prognostic significance of Ki67 before and after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer // Breast Cancer Res Treat. -2009. - Vol. 116 (1). - P.53–68.
64. Jonsson, G, Staaf J, Vallon-Christersson J, Ringner M, Holm K, Hegardt C, et al. Genomic subtypes of breast cancer identified by array comparative genomic hybridization display distinct molecular and clinical characteristics // Breast Cancer Res. – 2010. - Vol.12. - P.42.
65. Jung, J., Lee S.H., Park M., et al. Discordances in ER, PR, and HER2 between primary breast cancer and brain metastasis //J Neurooncol. - 2018. – Vol.137 (2).-P.295-302.

66. Kaplan, M., Arslan U., Isikdogan A., et al. Biological subtypes and distant relapse pattern in breast cancer patients after curative surgery. Study of Anatolian Society of Medical Oncology // *Breast Care (Basel)*. – 2016.- Vol.11(4). – P.248-252.
67. Khan, A. Precision Molecular Pathology of Breast Cancer /A.Khan, Ian O.Ellis, A.M.Hanby, E.F.Cosar, E.A.Rakha, D.Kandil // -2015.- Vol.81 - P.107-112
68. Li, F.Y., Wu S.G., Zhou J., et al. Prognostic value of Ki-67 in breast cancer patients with positive axillary lymph nodes: a retrospective cohort study // *PLoS One*. - 2014. – Vol.9 (2). - P. 872 - 64.
69. Lindström, L.S., Karlsson E., Wilking U.M., et al. Clinically used breast cancer markers such as estrogen receptor, progesterone receptor, and human epidermal growth factor receptor 2 are unstable throughout tumor progression // *J Clin Oncol*. 2012 Jul. – Vol.30 (21). – P.2601-8.
70. Lips, E.H., Mulder L., et al. Triple-negative breast cancer // *Br J Cancer*. - 2013 May 28. – Vol.108 (10). - P.2172-7.
71. Lower, E.E., Glass E., Blau R., Harman S: HER-2/neu expression in primary and metastatic breast cancer // *Breast Cancer Research and Treatment*. – 2009. – Vol. 113(2). - P.301-306.
72. Lower, E.E., Khan S., Kennedy D., Baughman R.P. Discordance of the estrogen receptor and HER-2/neu in breast cancer from primary lesion to first and second metastatic site // *Breast Cancer (Dove Med Press)*. – 2017. - Vol.9. – P.515-520.
73. Luporsi, E., Andre F., Spyrtos F. Ki-67: level of evidence and methodological considerations for its role in the clinical management of breast cancer: analytical and critical review // *Breast Cancer Res. Treat.* - 2012.- Vol.132. - P. 895-915.
74. Lyman, G.H. et al. Sentinel Lymph Node Biopsy for Patients With Early-Stage Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update // *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* - 2017. - Vol. 35, № 5. - P. 561–564.
75. Macrinici, V. and E. Romond, Clinical updates on EGFR/HER targeted agents in early- stage breast cancer // *Clin. Breast Cancer*. 10 Suppl 1: P. 38- 46.

76. Marusyk, A. Intra-tumour heterogeneity: a looking glass for cancer? / A. Marusyk, V. Almendro, K. Polyak // *Nat. Rev. Cancer.* – 2012. – Vol. 12(5). – P. 323–334.
77. Marusyk, A. Tumor heterogeneity: Causes and consequences / A. Marusyk, K. Polyak // *Biochim. Biophys. Acta - Rev. Cancer* – 2010. – Vol. 1805(1). – P. 105– 117.
78. Masuda, H., Baggerly K.A., Wang Y., Zhang Y., et al. Differential response to neoadjuvant chemotherapy among 7 triple-negative breast cancer molecular subtypes // *Clin Cancer Res.* - 2013 Oct.- Vol.19(19). – P.5533-40.
79. Matsubara, N., Mukai H., Itoh K., Nagai S. Prognostic impact of Ki-67 overexpression in subgroups categorized according to St. Gallen with early stage breast cancer // *Oncology.* - 2011. – Vol.81. - P. 345-52.
80. Matsuura, K., Itamoto T., Noma M., et al. Significance of lung biopsy for the definitive diagnosis of lung nodules in breast cancer patients // *Mol. Clin Oncol.*-2018. - Vol.8 (2). – P.250-256.
81. Meacham, C.E. Tumour heterogeneity and cancer cell plasticity / C. E. Meacham, S. J. Morrison // *Nature* – 2013. – Vol. 501(7467). – P. 328–337.
82. Michor, F. The Origins and Implications of Intratumor Heterogeneity / F. Michor, K. Polyak // *Cancer Prev. Res.* – 2010. – Vol. 3. – P.1361–1364.
83. Miller, S.J. Interpreting epithelial cancer biology in the context of stem cells: Tumor properties and therapeutic implications / S. J. Miller, R. M. Lavker, T. Sun // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2005. – Vol. 1756(1). – P. 25–52.
84. Mittendorf, E.A., Wu Y., Scaltriti M., et al. Loss of HER2 amplification following trastuzumab-based neoadjuvant systemic therapy and survival outcomes// *Clin Cancer Res.* - 2009 Dec.- Vol.15(23). – P.7381-8.
85. Navin, N.E. Tracing the Tumor Lineage / N. E. Navin, J. Hicks // *Mol. Oncol.* – 2011. – Vol. 4(3). – P. 267–283.
86. Navin, N.E. Tumor evolution in response to chemotherapy: Phenotype versus genotype / N. E. Navin // *Cell Rep.* – 2014. – Vol. 6(3). – P. 417–419.

87. Nowell, P.C. The Clonal Evolution of Tumor Cell Populations / P. C. Nowell // *Science*. – 1976. – Vol. 194. – P. 23–28.
88. Pan, H., Gray R., Braybrooke J., et al. EBCTCG. 20-year risks of breast-cancer recurrence after stopping endocrine therapy at 5 years // *N Engl J Med*. -2017. – Vol.377 (19). – P.1836-1846.
89. Parise, C.A., Bauer K.R., Brown M.M. et al. Breast cancer subtypes as defined by the estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and the human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) among women with invasive breast cancer in California, 1999-2004 // *Breast J*. - 2009 Nov-Dec. – Vol.15 (6). – P.593-602.
90. Perou, C.M. Molecular portraits of human breast tumors / C.M. Perou, T. Sorlie, M.B. Eisen // *Nature*. – 2000. – Vol. 406. – P. 747–752.
91. Petrelli, F., Viale G., Cabiddu M., Barni S. Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64,196 patients // *Breast Cancer Res Treat*. - 2015 Oct. - Vol.153 (3). – P. 477-91.
92. Podlaha, O. Evolution of the cancer genome / O. Podlaha, M. Riester, D.Subhajyoti [et al.] // *Trends Genet*. – 2013. – Vol. 28(4). – P. 155–163.
93. Polyak, K. Heterogeneity in breast cancer / K. Polyak // *J. Clin. Invest*. – 2011. – Vol. 121(10). – P. 3786–3788.
94. Prat, A., Adamo B., Cheang M.C., et al. Molecular characterization of basal-like and non-basal-like triple-negative breast cancer // *Oncologist*. – 2013. - Vol.18 (2). – P.123-33.
95. Qu, Q., Zong Y., Fei X.C., Chen X.S., et al. The importance of biopsy in clinically diagnosed metastatic lesions in patients with breast cancer // *World J Surg Oncol*.-2014. – Vol.12. – P.93.
96. Rajc, J., Frohlich I., Mrcela M., et al. Prognostic impact of low estrogen and progesterone positivity in luminal b (her2 negative) breast cancer // *Acta Clin Croat*. - 2018 Sep. – Vol.57 (3). – P.425-433.
97. Rakha, E.A., Allison K.H., Bu H. et al. WHO Classification of Tumours Editorial Board. Breast tumours // Lyon (France): IARC. - 2019. - P.82-102.

98. Ring, A.E., Smith I.E., Ashley S., Fulford L.G., Lakhani S.R. Oestrogen receptor status, pathological complete response and prognosis in patients receiving neoadjuvant chemotherapy for early breast cancer // *Br J Cancer.*- 2004. - Vol. 91 (12). - P. 2012–2017.
99. Robertson, S., Rönnlund C., de Boniface J., Hartman J. Re-testing of predictive biomarkers on surgical breast cancer specimens is clinically relevant // *Breast Cancer Res Treat.* - 2019 Apr. – Vol.174 (3). – P.795-805.
100. Rouzier, R. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy / R. Rouzier, C.M. Perou, W.F. Symmans // *Clin. Cancer Res.* – 2005. – Vol. 11 (16). – P. 5678–85.
101. Russnes, H.G. Insight into the heterogeneity of breast cancer through nextgeneration sequencing / H. G. Russnes, N. Navin, J. Hicks // *J. Clin. Invest.* – 2011. – Vol. 121(10). – P. 3810–3818.
102. Schepers, A.G. Lineage Tracing Reveals Lgr5+ Stem Cell Activity in Mouse Intestinal Adenomas / A. G. Schepers, H. J. Snippert, D. E. Stange [et al.] // *Science.* – 2012. – Vol. 337(6095). – P. 730–735.
103. Shin, H.C., Han W., Moon H.G., et al. Discordant ER, PR, and HER2 status between primary and metastatic breast cancer as prognostic factor // *J Clin Oncol.*- 2013. – Vol.31, №15.- P.1039.
104. Shachar, S.S., Mashiach T., Fried G., et al. Biopsy of breast cancer metastases: patient characteristics and survival // *BMC Cancer.* – 2017. Vol.17 (1). – P.7.
105. Slamon, D., Eiermann W., Robert N., et al. Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer // *N Engl J Med.* – 2011. – Vol.365. - P.1273-1283.
106. Seol, H. Intratumoral heterogeneity of HER2 gene amplification in breast cancer: its clinicopathological significance / H. Seol, H. J. Lee, Y. Choi [et al.] // *Mod. Pathol.* – 2012. – Vol. 25(7). – P. 938–948.
107. Thangarajah, F., Enninga I., Malter W., et al. Retrospective Analysis of Ki-67 Index and its Prognostic Significance in Over 800 Primary Breast Cancer Cases // *Anticancer Res.* - 2017 Apr. – Vol.37 (4). – P.1957-1964.

108. Thompson, A.M., Jordan L.B., Quinlan P., et al. Breast Recurrence in Tissues Study Group. Prospective comparison of switches in biomarker status between primary and recurrent breast cancer: the Breast Recurrence In Tissues Study (BRITS) // *Breast Cancer Res.* – 2010. - Vol.12 (6). – P.92.

109. Thorne, J.L., Khan A., Ellis I.O., et al. The Molecular Pathology of Chemoresistance During the Therapeutic Response in Breast Cancer // *Precision Molecular Pathology of Breast Cancer*. NY: Springer New York. - 2015.– P. 291-307

110. Timmer, M., Werner J.M., Röhn G., et al. Discordance and conversion rates of progesterone-, estrogen-, and HER2/neu-receptor status in primary breast cancer and brain metastasis mainly triggered by hormone therapy // *Anticancer Res.*- 2017. – Vol.37 (9). - P.4859-4865.

111. Turner, J.G. Nuclear export of proteins and drug resistance in cancer / J. G. Turner, J. Dawson, D. M. Sullivan // *Biochem. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 83(8). – P. 1021–1032

112. Tóké, T., Tóké A.M., Szentmártoni G., et al. Prognostic and Clinicopathological Correlations of Cell Cycle Marker Expressions before and after the Primary Systemic Therapy of Breast Cancer // *Pathol Oncol Res.* - 2019 Aug 24.

113. Tokuda, E., Horimoto Y., Arakawa A., et al. Differences in Ki67 expressions between pre- and post-neoadjuvant chemotherapy specimens might predict early recurrence of breast cancer // *Hum Pathol.* - 2017 May. – Vol.63. – P.40-45.

114. Urruticoechea, A., Smith I.E., Dowsett M. Proliferation marker Ki-67 in early breast cancer // *J. Clin. Oncol.* - 2005. – Vol.23. - P. 7212-20.

115. Varga, Z., Li Q., Jochum W., et al. Ki-67 assessment in early breast cancer: SAKK28/12 validation study on the IBCSG VIII and IBCSG IX cohort // *Sci Rep.* - 2019 Sep. – Vol.9(1). – P.135-34.

116. Voduc, D. The other triplenegative breast cancer: Immunohistochemical and clinicopathologic characterization of the Claudin-low subtype ASCO / D. Voduc, M.C.U. Cheang, A. Prat // *Annual Meet (June 3–7, Chicago, IL, 2011).* – 2011. – Post 1129

117. Visvader, J.E. Cells of origin in cancer / J. E. Visvader // Nature. – 2011. – Vol. 469(7330). – P. 314–322.
118. Wang, Y., Yin Q., Yu Q., et al. A retrospective study of breast cancer subtypes: the risk of relapse and the relations with treatments // Breast Cancer Res Treat. -2011 Nov. - Vol.130 (2). – P. 489-98.
119. Wang, R.X., Chen S., Jin X., et al. Weekly paclitaxel plus carboplatin with or without trastuzumab as neoadjuvant chemotherapy for HER2-positive breast cancer: loss of HER2 amplification and its impact on response and prognosis // Breast Cancer Res Treat. - 2017 Jan. – Vol.161 (2). – P.259-267.
120. Wolff, A.C., Hammond M.E., Allison K.H., et al. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/ College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update //Arch Pathol. Lab Med. - 2018 Nov. – Vol.142 (11). – P.1364-1382.
121. Wolff, A. C., M. E. Hammond, J. N. Schwartz, K. L. Hagerty, D. C. Allred, R. J. Cote, et al., American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer// Arch Pathol Lab Med. - 2007. – Vol.131 (1). - P. 18- 43.
122. Wu, Q., Li J., Zhu S., et al. Breast cancer subtypes predict the preferential site of distant metastases: a SEER based study // Oncotarget. – 2017. – Vol.8 (17). – P. 27990-27996.
123. Wu, X., Baig A., Kasymjanova G., et al. Pattern of local recurrence and distant metastasis in breast cancer by molecular subtype // Cureus. – 2016. - Vol.8 (12). – P. 924.
124. Yang, Y. , Im S., Keam B., et al. Prognostic impact of AJCC response criteria for neoadjuvant chemotherapy in stage II / III breast cancer patients: breast cancer subtype analyses // BMC Cancer. – 2016. – Vol. 16(515). – P. 1–10.
125. Yerushalmi, R., Woods R., Ravdin P.M., et al. Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential // Lancet Oncol. 2010. - Vol. 11 (2). - P. 174–183.
126. Zellmer, V.R. Evolving concepts of tumor heterogeneity / V. R. Zellmer, S. Zhang // Cell Biosci. – 2014. – Vol. 5(69). – P. 1–8.

127. Zhang, M. Developmental Insights into Breast Cancer Intratumoral Heterogeneity / M. Zhang, J. M. Rosen // Trends in Cancer. – 2015. – Vol. 1(4). – P. 242–251.

128. Zhang, Y., Schroeder B.E., Jerevall P.L., et al. A novel breast cancer index for prediction of distant recurrence in HR+ early-stage breast cancer with One to three positive nodes // Clin Cancer Res.- 2017. - Vol.23 (23). – P.7217-7224.

129. Zenzola, V., Cabezas-Quintario M.A., Arguelles M., et al. Prognostic value of Ki-67 according to age in patients with triple-negative breast cancer // Clin Transl Oncol. - 2018 Nov. – Vol.20 (11). – P.1448-1454.

130. Zhang, M. Developmental Insights into Breast Cancer Intratumoral Heterogeneity / M. Zhang, J. M. Rosen // Trends in Cancer. – 2015. – Vol. 1(4). – P. 242–251.

131. Zurawska, U., Baribeau D.A., Giilck S. et all. Outcomes of HER2-positive early-stage breast cancer in the trastuzumab era: a population-based study of Canadian patientsn // Curr Oncol. - 2013 Dec. – Vol.20 (6). – P.539-45.