

на правах рукописи

НЕНАХОВА ЮЛИЯ НИКОЛАЕВНА

**ПРЕДИКТОРЫ РАННЕГО ОТВЕТА НА НЕОАДЪЮВАНТНУЮ
ХИМИОТЕРАПИЮ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ II-III СТАДИИ**

14.01.12 – Онкология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва - 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ректор – академик РАН, профессор Мошетова Лариса Константиновна), федеральном государственном автономном учреждении «Лечебно-реабилитационный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор – профессор Никитин Игорь Геннадиевич), Клинической больнице №1 АО «Группа компаний МЕДСИ» в Отрадном (главный врач – профессор Шаповаленко Татьяна Владимировна).

Научный руководитель:

академик РАН, профессор,
доктор медицинских наук

Поддубная Ирина Владимировна

Официальные оппоненты:

Борисов Василий Иванович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий дневным стационаром государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая онкологическая больница №1 Департамента здравоохранения города Москвы».

Синицын Валентин Евгеньевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры многопрофильной клинической подготовки факультета фундаментальной медицины федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова.

Ведущая организация: московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «13» июня 2019 г. в 14-00 часов на заседании диссертационного совета Д001.017.01 на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России по адресу: 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 23.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России по адресу: 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24 и на сайте www.ronc.ru.

Автореферат разослан « _____ » _____ 2019г

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Кадагидзе Заира Григорьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ.

Актуальность темы исследования

Рак молочной железы (РМЖ) устойчиво занимает 1 место в структуре онкологической заболеваемости у женщин, являясь социальной и клинически значимой проблемой [Поддубная И.В. и соавт., 2015]. В нашей стране у 29,6 % впервые заболевших женщин диагностируется III или IV стадия заболевания [Каприн А.Д. и соавт., 2017]. Даже при наличии данных о факторах прогноза, предсказать с уверенностью течение заболевания затруднительно. По данным литературы приблизительно у 25% пациенток с относительно благоприятным прогнозом (первично локализованным РМЖ) после успешно проведенного лечения отмечается прогрессирование заболевания. В то же время, приблизительно у трети больных с неблагоприятным прогнозом (метастазами в подмышечные лимфатические узлы) после окончания лечения может развиваться длительный безрецидивный период [Mirza A.N. и соавт., 2002; Fisher В. и соавт., 2002]. В связи с этим поиск индивидуальных факторов прогноза течения заболевания представляется актуальной задачей. Раннее определение ответа опухоли на лекарственное лечение может способствовать своевременному изменению лечебной тактики, избавлению женщины от высокотоксичной и неэффективной для неё химиотерапии, вовремя и в нужном объеме провести хирургическое лечение, тем самым, улучшить качество жизни и прогноз заболевания [Колядина И.В. и соавт., 2017; Павликова О.А. и соавт., 2017].

Степень разработанности темы исследования

Не менее 30% всех заболевших раком молочной железы женщин получают на первом этапе лечения предоперационную (неoadъювантную) химиотерапию (НПХТ). Важным критерием благоприятного прогноза для жизни таких пациенток является выраженность ответа на неoadъювантную полихимиотерапию. Ответ опухоли на лечение в значительной мере зависит от подтипа рака молочной железы [Bonnetfoi Н. и соавт., 2014; Колядина И.В. и соавт., 2017; Павликова О.А. и соавт., 2017]. Наиболее часто полный клинический и патоморфологический ответы наблюдаются в группе больных с

высокоагрессивными опухолями. Полный патоморфологический ответ в такой группе больных является одним из предикторов улучшения показателей общей и безрецидивной выживаемости [Cirier J. И соавт., 2017; Колядина И.В. и соавт., 2017; Павликова О.А. и соавт., 2017; 140]. В то же время, на сегодняшний день, не существует надежных предикторных факторов, позволяющих в процессе химиотерапии прогнозировать степень реализации последующего патоморфологического ответа. Решение подобной задачи позволило бы у целого ряда пациенток своевременно изменить лечебную тактику: поменять схему химиотерапии либо провести оперативное вмешательство, не подвергая больных рискам токсичного и недостаточно эффективного лечения.

Наряду со стандартными методами обследования, используемыми в процессе лечения, в клиническую практику постепенно внедряются дополнительные методики - лучевые и лабораторные, позволяющие контролировать динамику опухолевого ответа в процессе лечения. Среди лучевых методов необходимо отметить магнитно-резонансную томографию молочных желез (МРТ) с внутривенным контрастированием, рекомендованную в 2015 г. на конференции в Санкт-Галлене в качестве метода выбора при оценке эффективности НПХТ [Семиглазов В.Ф. и соавт., 2016].

Большое внимание в настоящее время уделяется магнитно-резонансной спектроскопии (МР-спектроскопии) и магнитно-резонансной томографии с использованием диффузионно-взвешенных последовательностей (МР-диффузии), повышающих чувствительность МРТ и позволяющих на ранних этапах лечения выявлять функциональные изменения в опухолевой ткани. К перспективным лабораторным методам оценки ответа опухоли на лечение относится определение биологических маркеров, например, таких как циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), диагностика эпигенетических изменений - аномальное метилирование ДНК.

Таким образом, на сегодняшний день существует целый ряд радиологических и серологических тестов, имеющих потенциал для раннего прогнозирования эффективности предоперационной химиотерапии у больных

раком молочной железы. В то же время, возможность сочетанного применения нескольких методов для повышения точности такого прогноза остается малоизученным вопросом и представляется актуальной областью для исследований.

Цель исследования

Оценка роли рентгенологических методов и серологических маркеров как предикторов раннего ответа на предоперационную химиотерапию при II-III стадии рака молочной железы.

Задачи исследования

1) Изучить возможности использования МРТ молочных желез с динамическим контрастированием в оценке эффективности предоперационной химиотерапии у больных со II-III стадиями рака молочной железы.

2) Изучить возможности применения МР-диффузии у больных со II-III стадиями рака молочной железы в процессе неoadьювантной химиотерапии. Оценить динамику измеряемого коэффициента диффузии (ИКД) и возможность использования данного маркера в качестве предиктора раннего ответа на предоперационную лекарственную терапию.

3) Изучить возможности применения МР-спектроскопии у больных со II-III стадиями рака молочной железы в процессе НПХТ. Оценить динамику пика холина и возможность использования маркера в качестве предиктора раннего ответа на предоперационную лекарственную терапию.

4) Изучить возможности применения ЦОК в качестве предиктора ответа на неoadьювантную химиотерапию у больных со II-III стадиями рака молочной железы.

5) Изучить возможности применения аномального метилирования ДНК в оценке эффективности предоперационной химиотерапии у больных со II-III стадиями рака молочной железы.

Научная новизна работы

Изучены возможности МР-спектроскопии и МР-диффузии в оценке степени ответа опухолей молочных желез на химиотерапию. По данным регрессионного анализа выявлена высокая прогностическая значимость ранней динамики пика холина (после 2-х курсов НПХТ) в общей группе больных, что говорит о возможности использования данного маркера в качестве предиктора раннего ответа на предоперационное лекарственное лечение. Повышение ИКД в процессе лечения явилось предиктором хорошего патоморфологического ответа в общей группе больных.

В результате работы оценена динамика уровня циркулирующих опухолевых клеток с помощью методики ISET в процессе неoadьювантной химиотерапии.

Проанализирована возможность использования аномального метилирования генов в оценке эффективности НПХТ. По результатам генетического исследования выявлена выраженная положительная корреляция между метилированием гена KCNQ2 в биоптате и клиническим ответом у больных с тройным негативным раком молочной железы.

Теоретическая и практическая значимость

В ходе работы изучены прогностические возможности использования перспективных рентгенологических и серологических методов неинвазивной оценки эффективности неoadьювантной химиотерапии (МР-спектроскопия, МР-диффузия, ЦОК, аномального метилирования ДНК). Проведено сравнение возможностей МРТ молочных желез с динамическим контрастированием с используемыми в рутинной практике осмотром, УЗИ молочных желез и рентгеновской маммографией.

Положения, выносимые на защиту

1) Включение МРТ молочных желез с динамическим контрастированием в классический алгоритм диагностики (осмотр, маммография, УЗИ молочных желез и регионарных лимфатических узлов), проводимой в процессе предоперационного лекарственного лечения РМЖ, позволяет увеличить точность в предсказании полного патоморфологического ответа опухоли на лечение.

Вероятностный коэффициент достижения полного патоморфологического ответа (сCR/ pCR) для МРТ составил 0,90 (по данным осмотра – 0,64, УЗИ молочных желез – 0,50, маммографии – 0,81).

2) МРТ молочных желез с динамическим контрастированием - наиболее точный метод визуализации отсевов в ткани молочной железы и их динамики в процессе НПХТ ($p=0,003$), обладает самой высокой информативностью в оценке статуса регионарных лимфатических узлов в процессе НПХТ (точность МРТ 85,7%, УЗИ -72,4%).

3) Увеличение ИКД определяемое при МР-диффузии в процессе НПХТ у больных со II-III стадиями рака молочной железы может являться предиктором выраженного ответа опухоли на лекарственное лечение ($p=0,001$). Метод обладает высокой прогностической значимостью в предсказании полного ответа на НПХТ, коэффициент сCR/ pCR = 0,75.

4) Уменьшение пика холина в процессе НПХТ по данным МР-спектроскопии у больных со II-III стадиями рака молочной железы может являться ранним предиктором выраженного ответа опухоли на лекарственное лечение ($p=0,001$). Маркер способен предсказать ответ опухоли после 2-х курсов химиотерапии с критическим уровнем выше 0,0001635 (95% ДИ 0,514-0,835). Вероятностный коэффициент сCR/pCR по данным МР-спектроскопии составил 0,87, был выше рассчитанных коэффициентов для других методов обследования и приближался по своему значению к коэффициенту сCR/pCR рассчитанному для МРТ молочных желез с динамическим контрастированием (0,90).

5) Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), определяемые с помощью ISET методики, не показали своей значимости в прогнозировании ответа на неоадьювантную химиотерапию, методика требует дальнейшего изучения.

6) Метилирование ДНК - прогностический и предиктивный маркер нового поколения, изучение которого является перспективным направлением. Аномальное метилирование гена KCNQ2 может являться предиктором хорошего клинического ответа на предоперационную химиотерапию у больных тройным

негативным раком молочной железы II-III стадий заболевания и требует дальнейшего изучения.

Методология и методы исследования

В качестве методологической базы использовалась группа из 85 больных II-III стадиями рака молочной железы, получивших лечение на базах кафедры онкологии РМАНПО (ФГБУ «ЛРЦ» Минздрава России, Клинической больнице № 1 «МЕДСИ» в Отрадном). Статистическая обработка материала и расчеты показателей проведены с использованием компьютерной программы электронных таблиц Microsoft Excel, PASW Statistics 22.

Личный вклад

Автор самостоятельно провел тщательный анализ отечественной и зарубежной литературы по избранной научной теме, изучил степень разработанности проблемы, на основании чего были сформулированы цель и задачи исследования, разработан дизайн исследования. Соискателем сформирована база данных, произведена обработка и статистический анализ проспективного клинического материала. Автор принимала участие в наборе больных в протокол исследования, выполнении диагностических биопсий до начала лечения, клинического осмотра, ультразвукового исследования молочных на всех этапах исследования, сборе материала для анализа на циркулирующие опухолевые клетки и маркеры метилирования ДНК. Автор самостоятельно оценивала динамику ответа опухоли на лечение, обсуждала больных на онкологическом консилиуме, принимала участие в хирургическом лечении больных.

Автором определена эффективность различных методов диагностики с учетом клинико-патоморфологических и молекулярно-генетических характеристик опухоли, сформулированы выводы, разработаны рекомендации и оформлена диссертационная работа.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.01.12 – онкология («медицинские науки») и области исследований п. 2 «Исследования

по изучению этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии и др.)» и п. 4 «Дальнейшее развитие оперативных приемов с использованием всех достижений анестезиологии, реаниматологии и хирургии».

Внедрение результатов исследования

Результаты работы внедрены и используются в практической и научно-исследовательской работе Клинической больницы №1 АО группы компаний «МЕДСИ» в Отрадном и учебном процессе кафедры онкологии и паллиативной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО.

Апробация работы

Диссертация обсуждена на расширенном заседании кафедры онкологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России состоявшейся 22 ноября 2018 года.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 3 научных статьи в журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве высшего образования и науки Российской Федерации.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 163 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, содержащего 145 источников (41 отечественных и 104 зарубежный). Материал диссертации иллюстрирован 42 рисунками и 39 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Материалы и методы

Исследование проведено на базах кафедры онкологии ФГБОУ ДПО РМАНПО: ФГАУ «ЛРЦ» Минздрава России, Клиническая больница № 1 «МЕДСИ» в Отрадном. В период с 2015 по 2018 г. в проспективное исследование было включено 85 женщин старше 18 лет с верифицированным раком молочной

железы- с операбельными и первично-неоперабельными (местно-распространенными) формами рака молочной железы (II и III стадии заболевания, T 1 – T 4, N1 – N 3, M0).

Возраст больных на момент постановки диагноза варьировал от 30 лет до 81 года (медиана возраста 55 лет). Среди них 42 (49,4 %) женщины с сохранной функцией яичников, 43 (50,6 %) – в менопаузе.

Анализ крови на генетические мутации, чаще всего встречающиеся при РМЖ (BRCA1, BRCA2, CHEK2, tp 53), был выполнен 48 (56,5%) женщинам в исследовании. Все эти пациентки входили в группу риска по выявлению наследственного РМЖ. При этом у 7 (14,6%) женщин были обнаружены генетические мутации: у 5 (10,4%) из них в гене BRCA1, у 2 (4,2%)- в гене CHEK2. Профилактическая мастэктомия контрлатеральной молочной железы была выполнена 3 (42,8%) из них.

Большая часть пациенток, включенных в протокол исследования, имели IIb и IIIb стадии заболевания – 33(38,8%) и 18 (21,2%), соответственно. Стадии IIa, IIIa и IIIc встречались примерно с одинаковой частотой – 15,3%, 12,9%, 11,8%, соответственно.

Распределение по локализации процесса: заболевание левой молочной железы встречалось – у 43 (50,6%) женщин, правой – у 42 (49,4%). Размер опухоли варьировал от 2,0 до 5,0 см в 57 (67,1%) случаях. Наличие пораженных лимфатических узлов до начала лечения, подтвержденное тонкоигольной аспирационной биопсией, а также по данным УЗИ молочных желез и МРТ желез с контрастированием наблюдалось в 71 (83,5%) случае: N1 (метастаз(ы) подвижный подмышечный лимфатический узел (узлы) I, II уровня, расположенный на той же стороне тела) – у 45 (52,9%) женщин, N2 (метастазы в расположенных на той же стороне тела подмышечных лимфоузлах I, II уровня, клинически определяющихся как конгломерат) - у 17 (20%), N3 (метастазы в подключичном и/или надключичном лимфатическом узле (узлах) расположенном на той же стороне тела) – у 9 (10,6%). По данным комплексного обследования

поражение внутригрудных лимфатических узлов у данной группы больных не встречалось.

На первом этапе лечения всем пациенткам проведено предоперационное лекарственное лечение, которое назначалось с учетом стадии заболевания и гистологического и биологического подтипов опухоли.

В нашем исследовании наиболее часто встречающимся гистологическим типом опухоли был инфильтративный протоковый рак, который наблюдался у 73 (85,8%) женщин. Инфильтративный дольковый рак встречался у 8 (9,4%) пациенток. Значительно реже встречались смешанные раки и другие гистологические варианты (папиллярный, тубулярный, медуллярный, слизистый и др.) – 4 (4,7%) случая.

Равное количество больных в протоколе исследования имели люминальный В Her2-отрицательный и тройной негативный подтипы опухолей – по 27 (31,8%) женщин в каждой группе. Люминальный А и люминальный В Her2-положительный подтипы встречались также примерно с одинаковой частотой – 12 (14,1%) и 11 (12,9%), соответственно. HER2-положительный подтип опухоли наблюдался у 8 (9,4%) женщин.

У большей части больных выявлены высокоагрессивные низкодифференцированные опухоли: степень дифференцировки опухоли G3 (grade3 – низкодифференцированная опухоль) встречалась у 49 (58,3%) женщин, G2 (grade2 – умеренно дифференцированная опухоль) – у 34 (40,5%).

Среднее значение индекса пролиферации Ki67 составило 37,5%. Положительный рецепторный статус Her2-neu определялся у 20 (23,5%) женщин, рецепторов эстрогенов в опухоли - у 49 (57,6%), рецепторов прогестерона – у 43 (50,6%) больных.

Анализ крови на генетические мутации, чаще всего встречающиеся при РМЖ (BRCA1, BRCA2, CHEK2, tp53), был выполнен 48 (56,5%) женщинам в исследовании. При этом у 7 (14,6%) женщин были обнаружены генетические мутации: у 5 (10,4%) из них в гене BRCA1, у 2 (4,2%) - в гене CHEK2.

Профилактическая мастэктомия контрлатеральной молочной железы и профилактическая овариоэктомия были выполнены 3 (42,8%) из них.

Все пациентки перед началом химиотерапии (первый этап исследования) были обследованы согласно рекомендациям Российского общества клинической онкологии (RUSSCO). Выполнялась толстоигольная биопсия опухоли (core-биопсия) с патоморфологическим исследованием опухолевой ткани с определением рецепторного статуса опухоли и уровня пролиферативной активности, производился дополнительный забор материала для выполнения генетического исследования.

На всех этапах исследования для оценки местного статуса больным проводились: клинический осмотр, маммография, УЗИ молочных желез и регионарных лимфатических узлов, МРТ молочных желез с контрастированием, забор крови для исследования биологических маркеров (ЦОК, аномальное метилирование ДНК).

Перед проведением биопсии, помимо стандартных методов обследования, проводили МРТ молочных желез с внутривенным контрастированием + МР-диффузия + МР-спектроскопия, а также забор крови для определения ЦОК по методике ISET, определение аномального метилирования ДНК в опухоли и крови. Данный комплекс диагностических процедур выполнялся в том же объёме (за исключением core-биопсии) после двух курсов химиотерапии, а также по завершению лекарственной терапии, перед выполнением хирургического вмешательства (Таблица 1).

Таблица 1 — Объем исследований, проведенных пациенткам на всех этапах лечения

Метод исследования/ количество больных	1 этап (до начала лечения)	2 этап (после 2-х курсов НПХТ)	3 этап (предоперационное обследование)
Осмотр	85 (100,0%)	85 (100,0%)	85 (100,0%)
УЗИ молочных желез	85 (100,0%)	85 (100,0%)	85 (100,0%)
Маммография	84 (98,8%)	83 (97,6%)	83 (97,6%)
МРТ молочных желез	84 (98,8%)	84 (98,8%)	84 (98,8%)

МР-спектроскопия	58 (68,2%)	56 (68,2%)	57 (68,2%)
МР-диффузия	82 (96,4%)	82 (96,4%)	82 (96,4%)
ЦОК	59 (69,4%)	59 (69,4%)	59 (69,4%)
Маркеры аномального метилирования ДНК	36 (42,3%)	36 (42,3%)	36 (42,3%)

Клинический ответ опухоли на лечение сравнивался с результатами патоморфологического ответа.

Лечение с использованием препаратов антрациклинового ряда проведено 32 (37,6%) женщинам, таксанового ряда и (или) препаратами платины – 25 (29,4%), их комбинацией - 28 (32,9%).

После окончания химиотерапии всем пациенткам было проведено хирургическое лечение: радикальная мастэктомия по Мадену была выполнена 44 (51,8%) женщинам, радикальная резекция со срочным гистологическим исследованием краев резекции - 12 (14,1%) женщинам, из них 7(58,3%) – в онкопластическом варианте (методикой ротационного лоскута-5 (71,4%), резекции по типу «Т-инверс»-2 (28,6%)). Подкожная (кожесохранная) мастэктомия с одномоментной реконструкцией экспандером выполнена 24 (28,2%) женщинам. Подкожная мастэктомия с одномоментной реконструкцией имплантом и торако-дорсальным лоскутом (ТДЛ) выполнена 2 (2,4%) пациенткам. Подкожная мастэктомия с одномоментной реконструкцией экспандером (имплантом+ТДЛ) симультанно с профилактической мастэктомией здоровой железы выполнена 3 (4,28%) женщинам - носителям генетических мутаций от общего количества женщин с выявленными генетическими нарушениями (7(8,2%)).

Ответ опухоли на лечение по радиологическим критериям RECIST 1.1. (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) сравнивался со степенью патоморфологического ответа. Для патоморфологической оценки эффективности лекарственного лечения использовалась классификация Г.А. Лавниковой.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При анализе результатов у 22 (25,9%) больных, получавших неоадьювантную терапию, наблюдался полный патоморфологический регресс (pathologic complete response, pCR) по данным гистологического исследования послеоперационного материала (4 степень по шкале Лавниковой). Лекарственный ответ 3 степени по шкале Лавниковой имели 20 (23,5%) женщин, 2-й степени - 35 (41,2%), 1-й степени – 6 (7,0%) пациенток. Отсутствие ответа опухоли на лечение (0 степень по шкале Лавниковой) зарегистрировано у 2 (2,3%) женщины (Рисунок 1).

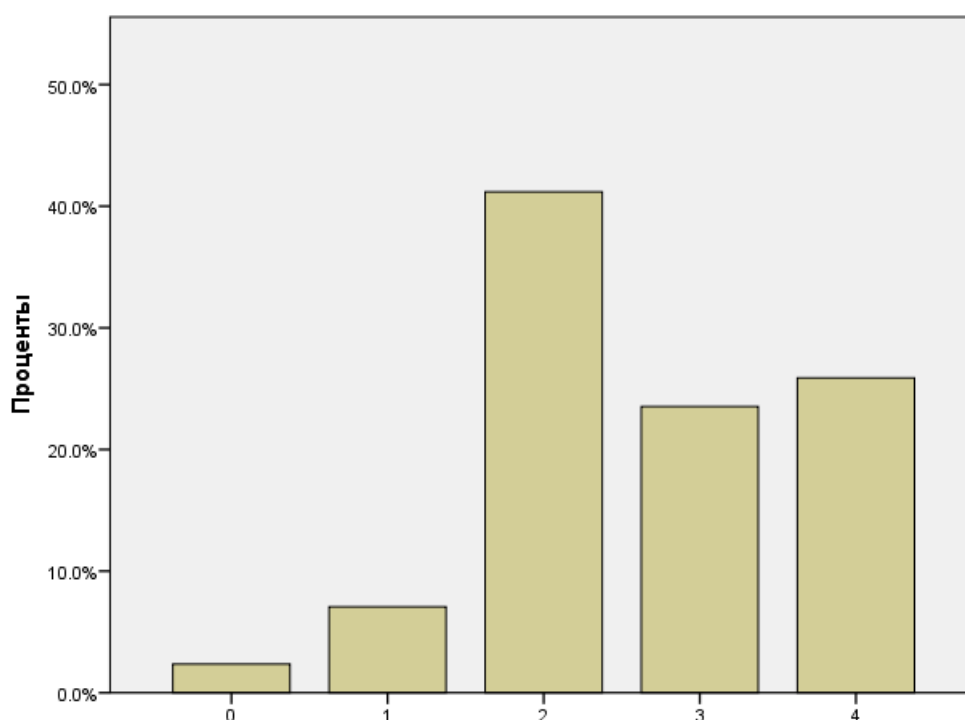


Рисунок 1 – Распределение больных в зависимости от степени лекарственного патоморфоза (по шкале Г.А. Лавниковой) по результатам планового патоморфологического исследования послеоперационного материала

Нами отмечено, что среднее значение индекса пролиферации Ki67 в группе пациенток с pCR было выше и составило 51,0% ($p=0,003$). При достижении pCR чаще встречались высокоагрессивные подтипы опухоли и не встречались больные с люминальным А подтипом РМЖ. Тройной негативный фенотип

опухоли отмечен у 45,4% (10) пациенток, люминальный В Her2-положительный и Her2-положительный подтипы - у 36,4% (8) ($p=0,034$).

Частота достижения pCR не зависела от возраста больных ($p=0,924$), менопаузального статуса ($p=0,401$), гистологического типа опухоли ($p=0,615$), стадии заболевания ($p=0,404$), схемы и количества курсов НПХТ ($p=0,404$). Однако, в группе женщин, получавших лечение комбинацией препаратов антрациклинового и таксанового ряда с включением или без препаратов платины (28 (33,0%) больных) частота достижения pCR была самой высокой и составила 54,5% ($p=0,003$).

Для более детального анализа выполнено разделение больных по подгруппам: 1) с выраженным ответом на лечение (3-4 степень лекарственного патоморфоза по шкале Лавниковой), 2) слабым (1-2 степень) и 3) отсутствием ответа на лечение (0 степень). Учитывая, небольшое количество женщин с отсутствием ответа на лечение – 2(2,3%), данная группа больных не включена в анализ.

Установлены определенные закономерности. При анализе результатов исследования в группах женщин с выраженным и слабым ответом на лечение выявлена достоверно значимая корреляция с биологическим подтипом опухоли и уровнем индекса пролиферации Ki67. В группе больных с выраженным ответом на лечение преобладали женщины с тройным негативным раком молочной железы - 17(40,5%), а в группе больных со слабым ответом на лечение (43 пациентки (50,6%)) - люминальный А и люминальный В HER2 – негативный подтипы опухолей зарегистрированы у 27 (62,8%) ($p=0,008$).

У пациенток с выраженным лекарственным патоморфозом отмечался достоверно более высокий индекс пролиферации клеток Ki67 по сравнению с другими пациентками ($44,6\pm 24,6$ vs. $30,5\pm 21,6$, $p=0,005$).

По данным нашего исследования возраст больных ($p=0,817$), менопаузальный статус ($p=0,798$), стадия заболевания ($p=0,114$), гистологический тип опухоли ($p=0,548$) не повлияли на распределении больных по группам с

выраженным (3-4 степень по шкале Лавниковой) и слабым (1-2 степень по шкале Лавниковой) ответом на лечение.

Клинико-рентгенологическая оценка эффективности неоадьювантной химиотерапии

До начала, в процессе и по окончании лекарственной терапии производилась оценка местного статуса заболевания. При физикальном осмотре особое внимание уделялось наличию кожных симптомов, размеру опухоли, состоянию регионарных лимфатических узлов. Среднее значение размеров опухолевого образования до начала лечения по результатам клинического осмотра составило 31,4 мм. На момент окончания лечения средний размер опухоли по данным физикального осмотра составлял 16,3мм. Такие размеры опухоли значительно не различались с результатами планового гистологического исследования ($16,3 \pm 11,5$ vs. $15,8 \pm 16,0$, $p=0,388$). А уменьшение средних размеров образования в 1,9 раз по данным осмотра свидетельствовало об эффекте лекарственного лечения. Разница в размерах опухоли менее 5 мм по данным клинического осмотра на 3-м этапе исследования и планового патоморфологического заключения была отмечена в 53,6 % (45) случаев. Разница в размерах опухоли менее 10 мм выявлена в 72,6 % (61) случаев.

Частота полных регрессов по данным клинического осмотра оказалось больше, чем по данным патоморфологического заключения, коэффициент cCR/pCR составил 0,64. Из этого мы можем сделать вывод, что информативности одного этого метода для оценки эффективности неоадьювантного лечения у больных раком молочной железы недостаточно.

По результатам маммографии уменьшение средних размеров образования в процессе лечения в 1,7 раз (с $28,5 \pm 13,7$ до $16,8 \pm 14,6$) говорило об эффективности лечения и подтверждалось результатами планового патоморфологического исследования. Разница в размерах опухоли менее 5 мм по данным маммографии на 3-м этапе исследования и результатами планового патоморфологического заключения была отмечена в 55,4 % (46) случаев. Разница в размерах опухоли менее 10 мм выявлена в 66,3 % (55) случаев. Коэффициент (cCR/pCR) составил

0,81, что говорит о высокой точности исследования в предсказании полного патоморфологического регресса опухоли по окончании предоперационного лекарственного лечения.

По данным УЗИ молочных желез средние размеры опухоли значимо не различались после окончания лечения с результатами планового гистологического исследования ($17,7 \pm 12,4$ vs. $15,8 \pm 16,0$, $p=0.186$). Уменьшение размеров опухоли в 1,57 раз в процессе лечения говорило об эффективности НПХТ. Разница в размерах опухоли менее 5 мм по данным УЗИ молочных желез на 3-м этапе исследования и результатам планового патоморфологического заключения была отмечена в 52,9 % (45) случаев, менее 10 мм - в 68,2 % (58) случаев

При оценке эффективности НПХТ с помощью УЗИ молочных желез коэффициент (сCR/pCR) составил 0,55, что говорит о недостаточной точности метода в предсказании полного лечебного патоморфоза в процессе НПХТ у больных РМЖ. Корреляций с гистологическим и биологическим типами опухоли, возрастом и менопаузальным статусом обнаружено не было. Стоит отметить достаточную информативность метода в предсказании метастатического поражения регионарных лимфатических узлов: у 42 из 58 (72,4 %) больных с предполагаемым по данным УЗИ молочных желез и регионарных зон метастатическим процессом в лимфоузлах, поражение лимфатических узлов подтверждено при плановом гистологическом исследовании.

Нами проанализированы данные об изменении МР-характеристик опухоли в процессе системного лечения РМЖ. Разница в размерах опухоли менее 5 мм по данным МРТ молочных желез на 3-м этапе исследования и результатам планового патоморфологического заключения была отмечена в 56,0 % (47) случаев. Разница в размерах опухоли менее 10 мм выявлена в 76,2 % (64) случаев. Однако коэффициент сCR/ pCR равнялся 0,9 и оказался самым высоким среди других методов оценки ответа, что говорит о высокой чувствительности метода в отношении определения достижения полного лекарственного патоморфоза.

Стоит отметить, что МРТ молочных желез с контрастированием была наиболее точным методом визуализации отсевов в ткани молочной железы и их динамики в процессе НПХТ ($p=0,003$).

В 85,7 % случаев определяемое по МРТ поражение регионарных лимфатических узлов было подтверждено плановым патоморфологическим исследованием. Из этого следует, что МРТ молочных желез является наиболее информативным методом в оценке статуса регионарных лимфатических узлов в процессе НПХТ.

По результатам нашего исследования наличие разницы размеров опухоли по данным МРТ молочных желез после окончания лечения и результатами планового гистологического исследования не зависело от возраста пациенток, клинического размера опухоли, стадии заболевания, индекса пролиферации клеток, ИГХ-подтипа опухоли и менопаузального статуса.

Взаимосвязь между полным клиническим ответом опухоли на лечение (сCR) по результатам методов клинического обследования (физикального осмотра, УЗИ молочных желез, маммографии и МРТ молочных желез с динамическим контрастированием) на 3-м этапе исследования и полным патоморфологическим регрессом опухоли (pCR) по результатам планового гистологического исследования оценивалась по вероятностному коэффициенту предсказания полного ответа опухоли на лечение (сCR/pCR).

По данным нашего исследования самый высокий коэффициент (сCR/pCR) наблюдался при МРТ молочных желез с динамическим контрастированием – 0,90. Наименьший показатель при УЗИ молочных желез – 0,55 и клиническом осмотре – 0,64. По данным маммографии вероятностный коэффициент оказался достаточно высоким и составил 0,81.

Отсюда можно сделать вывод, что для предсказания достижения полного лечебного патоморфоза у больных РМЖ после неоадьювантного лечения целесообразно использовать МРТ молочных желез с динамическим контрастированием (Таблица 2).

Таблица 2 – Вероятностный коэффициент предсказаний полных ответов опухоли на лечение по результатам методов клинического обследования после окончания лечения

Метод исследования	Клинический осмотр	УЗИ молочных желез	Маммография	МРТ молочных желез с динамическим контрастированием
Коэффициент cCR/pCR	0,64	0,55	0,81	0,90

Оценка возможностей использования МР-диффузии и МР-спектроскопии позволила установить четкие закономерности.

При достижении полного лечебного патоморфоза в процессе НПХТ регистрировалось увеличение ИКД, в то время как при отсутствии достижения полного патоморфологического регресса, показатель ИКД уменьшался в процессе лечения (0.0008 vs. -0.0001, $p < 0.001$). ИКД после окончания лечения (3-й этап исследования) был в среднем достоверно выше в группе женщин, достигших полного лечебного патоморфоза по результатам планового гистологического исследования, чем без него (0.0015145 vs. 0.0012226, $p = 0.001$). Прогностическая значимость для определения полного лечебного патоморфоза с учетом регрессионного анализа была выше в группе больных с выраженной динамикой ИКД на 3-м этапе исследования ($B = 2652.4$, $p = 0,001$). По литературным данным, увеличение ИКД в процессе лечения, сопровождающееся уменьшением контрастности изображения на ДВИ, уменьшением клеточности и расширением межклеточных пространств на молекулярном уровне, происходит быстрее, чем изменение объёма опухоли и может служить ранним предиктором ответа на проводимую химиотерапию у больных РМЖ [Kim Y. и соавт., 2017; Virostko J. и соавт., 2018; Hu X.Y. и соавт., 2017].

Вероятностный коэффициент cCR/pCR по данным МР-диффузии на 3-м этапе исследования составил 0,75. Таким образом, прогностическая значимость метода в предсказании полного ответа на НПХТ оказалась выше

прогностического значения УЗИ молочных желез (0,55) и клинического осмотра (0,64), но не превысила значения показателя cCR/pCR по результатам маммографии (0,81) и МРТ молочных желез с динамическим контрастированием (0,9).

Значение и динамика ИКД в процессе лечения не зависели от стадии заболевания, индекса пролиферации клеток, гистологического и биологических подтипов опухоли, менопаузального статуса.

Частота встречаемости и площадь под пиком холина в процессе лечения зависели от размера узлового образования по данным инструментальных методов обследования: с увеличением размера образования увеличивалась частота регистрации пика холина, площадь под пиком холина ($p=0,001$). Так, у женщин с индексом пролиферации Ki67 более 50,0%, средняя площадь под пиком холина была больше, чем в группе женщин с меньшим индексом пролиферации ($r=0,555$, $p<0,001$).

Снижение пика холина в процессе НПХТ наблюдалось чаще и было более выраженным в группе пациенток с полным лекарственным патоморфозом ($-693,88\pm 478,27$ vs. $-200,60\pm 501,43$, $p=0,041$). Прогностическая значимость для определения полного лечебного патоморфоза с учетом регрессионного анализа была выше в группе больных, имевших положительную динамику (снижение площади под пиком холина, исчезновение пика) к 3-му этапу исследования (после окончания лечения) ($B=-0,002.6$, $p=0,019$).

Исчезновение пика холина после 2-х курсов лечения с высокой частотой наблюдалось в группе больных с констатацией в последующем pCR. По данным регрессионного анализа нами выявлена высокая прогностическая значимость ранней динамики пика холина (уменьшение площади под пиком после 2-х курсов НПХТ) в общей группе больных (95% ДИ 0,514-0,835, AUC 0,674) с критическим уровнем выше 0,0001635. Это говорит о возможности использования данного маркера в качестве предиктора раннего ответа на неоадьювантную химиотерапию у РМЖ II-III стадии. Результаты нашего исследования совпадают с данными

мировой литературы [Cheng M. и соавт., 2017; Baek H.M. и соавт., 2009; Cho N. и соавт., 2016].

Частота определения пика холина и площадь под пиком не зависели от гистологического и биологического подтипов опухоли, менопаузального статуса и возраста женщин.

Вероятностный коэффициент sCR/pCR по данным МР-спектроскопии на 3-м этапе исследования составил 0,87, был выше рассчитанных коэффициентов для других методов обследования и приближался по своему значению к коэффициенту sCR/pCR рассчитанному для МРТ молочных желез с динамическим контрастированием (0,9). Данный анализ говорит о высокой значимости МР-спектроскопии в предсказании полного патоморфологического регресса опухоли после НПХТ у больных РМЖ II-III стадии.

Роль биологических маркеров в оценке эффективности неoadьювантной химиотерапии

Циркулирующие опухолевые клетки в оценке эффективности НПХТ

Оценка ЦОК в крови пациенток проводилась с использованием фильтрационной методики ISET, определенным достоинством которой является то, что факт наличия ЦОК устанавливает врач-цитолог, а дальнейшие иммуноцитохимические и молекулярно-генетические исследования являются важными, но не обязательными элементами исследования. В то же время, такой подход неизбежно снижает специфичность метода, потенциально приводя к появлению ложно-положительных результатов. Эта проблема не была решена в нашем исследовании: мы не можем исключить, что на мембранах могла содержаться примесь эпителиальных или эндотелиальных клеток неопухолевого происхождения.

По данным нашего исследования у 22 (37,3 %) женщин ЦОК были обнаружены до начала лечения (1-й этап исследования). По литературным данным, частота встречаемости ЦОК в крови больных местно-распространенным РМЖ составляет около 36,0% [Лядов В. К. и соавт., 2014].

Частота встречаемости и количество ЦОК зависели от стадии заболевания ($p=0,03$), размера опухолевого образования ($p=0,009$), статуса регионарных лимфатических узлов (N+) ($r=0.289$, $p=0,026$) и их размера ($r=0.293$, $p=0,024$) (по данным УЗИ молочных желез и регионарных зон) до начала лечения. Так, у больных с III стадией заболевания ЦОК на 1-м этапе исследования выявлялись чаще. Так, ЦОК были выявлены исходно у 15 (51,7%) пациенток с III стадией РМЖ и лишь у 7 (23,3%) больных со II стадией заболевания ($p=0,03$). При размерах опухоли более 2,5 см (по данным УЗИ молочных желез) частота обнаружения клеток была выше (43,7%), чем при размерах опухоли менее 2,5 см (29,6%) ($p=0,009$).

Также стоит отметить, что частота встречаемости и количество ЦОК было выше в группе женщин с наличием пораженных лимфатических узлов и коррелировало с размером наибольшего лимфатического узла (по данным УЗИ регионарных лимфатических узлов). Количество ЦОК в крови до начала лечения коррелировало со статусом регионарных лимфатических узлов (N+) ($r=0.289$, $p=0,026$), размером регионарных лимфоузлов до начала лечения по данным УЗИ ($r=0.293$, $p=0,024$). Количество ЦОК в крови после 2-х курсов ПХТ имело среднюю прямую корреляцию с размером регионарных лимфоузлов до начала лечения по данным УЗИ ($r=0.473$, $p<0,001$).

Частота встречаемости и количество ЦОК в крови до начала лечения, после 2-х курсов НПХТ, а также динамика ЦОК на 2-м и на 3-м этапах исследования не имели значимых корреляций со степенью лечебного патоморфоза по шкале Лавниковой и не зависели от менопаузального статуса женщин, гистологического и биологического подтипов опухоли ($p>0,05$).

Малое количество включенных в исследование пациенток с каждым из биологических подтипов РМЖ и короткий период наблюдения за ними не позволяют нам на сегодняшний день говорить о клиническом значении этих наблюдений. В целом, мы полагаем, что оценка динамики ЦОК в процессе лекарственного лечения, является перспективным направлением и требует дальнейшего изучения.

Аномальное метилирование ДНК в оценке эффективности НПХТ

В нашем исследовании проанализирована возможность использования метилирования генов TERT, SYNDIG, SKOR, SLC9A3, ADCY8, DPYS, IRF4, KCNQ2 в биоптатах и образцах крови для оценки эффективности лекарственного лечения больных, получавших неoadъювантную химиотерапию по поводу местно-распространенного РМЖ.

Метилирование генов TERT, SYNDIG, SKOR, DPYS, IRF4 в крови до начала и после окончания лечения обнаружено не было.

Значимых корреляций метилирования генов ADCY8, KCNQ2 в биоптатах и крови на всех этапах исследования с биологическим подтипом опухоли не выявлено. Метилирование гена SLC9A3 в биоптате чаще встречалось в подгруппе с люминальным В Her2-отрицательным и люминальным В Her2-положительным подтипами РМЖ ($p=0,009$).

По результатам генетического исследования выявлена положительная корреляция между метилированием гена KCNQ2 в биоптате и клиническим ответом по результатам методов инструментальной диагностики после окончания лечения у больных с тройным негативным РМЖ. Мутация KCNQ2 в биоптате в данной группе больных чаще встречалась среди пациентов с полным клиническим регрессом опухоли в процессе лечения (100% vs. 14,3%, $p=0,040$).

ВЫВОДЫ

1) Включение МРТ молочных желез с динамическим контрастированием в классический алгоритм диагностики (осмотр, маммография, УЗИ молочных желез и регионарных лимфатических узлов), проводимой в процессе предоперационного лекарственного лечения РМЖ, позволяет увеличить точность в предсказании полного патоморфологического ответа опухоли на лечение. Вероятностный коэффициент достижения полного патоморфологического ответа (сCR/ pCR) для МРТ составил 0,90 (по данным осмотра – 0,64, УЗИ молочных желез – 0,50, маммографии – 0,81).

2) МРТ молочных желез с динамическим контрастированием - наиболее точный метод визуализации отсевов в ткани молочной железы и их динамики в процессе НПХТ ($p=0,003$), обладает самой высокой информативностью в оценке статуса регионарных лимфатических узлов в процессе НПХТ (точность МРТ 85,7%, УЗИ -72,4%).

3) Увеличение ИКД определяемое при МР-диффузии в процессе НПХТ у больных со II-III стадиями рака молочной железы может являться предиктором выраженного ответа опухоли на лекарственное лечение ($p=0,001$). Метод обладает высокой прогностической значимостью в предсказании полного ответа на НПХТ, коэффициент $cCR/ pCR = 0,75$.

4) Уменьшение пика холина в процессе НПХТ по данным МР-спектроскопии у больных со II-III стадиями рака молочной железы может являться ранним предиктором выраженного ответа опухоли на лекарственное лечение ($p=0,001$). Маркер способен предсказать ответ опухоли после 2-х курсов химиотерапии с критическим уровнем выше 0,0001635 (95% ДИ 0,514-0,835). Вероятностный коэффициент cCR/pCR по данным МР-спектроскопии составил 0,87, был выше рассчитанных коэффициентов для других методов обследования и приближался по своему значению к коэффициенту cCR/pCR рассчитанному для МРТ молочных желез с динамическим контрастированием (0,90).

5) Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), определяемые с помощью ISET методики, не показали своей значимости в прогнозировании ответа на неоадьювантную химиотерапию, методика требует дальнейшего изучения.

6) Метилирование ДНК - прогностический и предиктивный маркер нового поколения, изучение которого является перспективным направлением. Аномальное метилирование гена *KCNQ2* может являться предиктором хорошего клинического ответа на предоперационную химиотерапию у больных тройным негативным раком молочной железы II-III стадий заболевания и требует дальнейшего изучения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

При планировании неoadьювантного лечения первично-операбельных и местно-распространенных форм рака молочной железы целесообразно использовать весь комплекс диагностических методов: физикальное обследование, УЗИ молочных желез и регионарных зон, маммографию и магнитно-резонансную томографию.

Магнитно-резонансная томография с динамическим контрастированием позволяет наиболее точно предсказать полный патоморфологический регресс и тем самым решить вопрос об объеме последующего хирургического вмешательства.

МР-диффузия – легко выполнимый в рамках протокола МРТ молочных желез с динамическим контрастным усилением метод, позволяет в процессе неoadьювантного лечения предсказать выраженный ответ опухоли на химиотерапию. В виду высокой прогностической точности метода и доступности, целесообразно его использование для оценки эффективности НПХТ при РМЖ II-III стадии.

Использование МР-спектроскопии даёт возможность оценить ответ опухоли после 2-х курсов химиотерапии и тем самым максимально рано изменить лечебную тактику, предотвратив воздействие на организм женщины высокотоксичного и неэффективного лечения. Метод применим для опухолей солидного строения, размером более 2,0 см, легко выполним при наличии технических навыков. Учитывая возможности МР-спектроскопии в наиболее короткие сроки предсказывать ответ опухоли на лечение, метод может быть рекомендован для оценки ответа на НПХТ при РМЖ II-III стадии в рутинной клинической практике.

**СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ В
ЖУРНАЛАХ, РЕКОМЕНДОВАННЫХ ПЕРЕЧНЕМ ВАК ПРИ
МИНОБРНАУКИ РОССИИ**

- 1) **Ненахова Ю.Н.** Циркулирующие опухолевые клетки: биология, методы выделения, клиническое значение при раке молочной железы / **Ю.Н.Ненахова**, В.К.Лядов, И.В.Поддубная // Современная онкология, 2016, №3, С. 76-82.
- 2) **Ненахова Ю.Н.** Оценка динамики циркулирующих опухолевых клеток в процессе неoadъювантной химиотерапии у больных с местно-распространенным раком молочной железы / **Ю.Н.Ненахова**, В.К.Лядов, И.В.Поддубная // Современная онкология, 2017, №3, С. 64-68.
- 3) **Ненахова Ю.Н.** Лучевые методы диагностики в оценке эффективности неoadъювантной химиотерапии у пациенток раком молочной железы (обзор литературы) / **Ю.Н. Ненахова** // Диагностическая и интервенционная радиология, 2017, № 1, том 11, С. 67-73.