



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61B 5/00 (2022.08); G01N 33/50 (2022.08)

(21)(22) Заявка: 2021139294, 28.12.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
28.12.2021

Дата регистрации:
04.10.2022

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 28.12.2021

(45) Опубликовано: 04.10.2022 Бюл. № 28

Адрес для переписки:

197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул.
Ленинградская, 70, ФГБУ "РНЦРХТ имени
А.М.Гранова, Попова Алена Александровна

(72) Автор(ы):

Молчанов Олег Евгеньевич (RU),
Майстренко Дмитрий Николаевич (RU),
Гранов Дмитрий Анатольевич (RU),
Попова Алена Александровна (RU),
Семёнов Константин Николаевич (RU),
Шаройко Владимир Владимирович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
учреждение "Российский научный центр
радиологии и хирургических технологий
имени академика А.М. Гранова"
Министерства здравоохранения Российской
Федерации (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2251692 C2, 10.05.2005. RU
2563437 C1, 20.09.2015. RU 2623869 C1,
29.06.2017. RU 2715551 C1, 28.02.2020. RU
2413231 C2, 27.02.2011. CN 112904006 A,
04.06.2021. US 2013143753 A1, 06.06.2013. Иванов
С.Д. и др. Прогнозирование длительности
безрецидивного периода при лучевой и
химиолучевой терапии больных раком
молочной железы. Вопросы онкологии. (см.
прод.)

(54) Способ прогнозирования длительности безрецидивного периода у больных резектабельным трижды негативным раком молочной железы

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, точнее к онкологии, и касается способа прогнозирования длительности безрецидивного периода у больных резектабельным трижды негативным раком молочной железы. У больной с резектабельным трижды негативным раком молочной железы определяют уровень спонтанной продукции IL-4 (X2), IL-6 (X1), IL-8 (X3); индуцированной продукции TNF-α (X4) и концентрацию гамма/дельта Т-лимфоцитов (X5), затем по полученным значениям рассчитывают дискриминантные

функции: F1, F2, F3, F4, где F1 соответствует продолжительности безрецидивного периода от 0 до 4 месяцев, F2 - от 4 до 10 месяцев, F3 - от 10 до 14 месяцев, F4 - более 14 месяцев. Прогноз продолжительности безрецидивного периода оценивают по наибольшему значению функции. Изобретение позволяет увеличить точность прогнозирования длительности безрецидивного периода больных трижды негативным раком молочной железы. 5 табл., 4 пр.

(56) (продолжение):

2008. Т. 54. N 1. С. 34-39. Ma Y. et al. IL-6, IL-8 and TNF- α levels correlate with disease stage in breast cancer patients. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2017; 26 (3): 421-426. Dong Wang et al. High YKL-40 Serum Concentration Is Correlated with Prognosis of Chinese Patients with Breast Cancer. *PLOS ONE*. December 2012, Volume 7, Issue 12, e51127 - e51127.

R U 2 7 8 0 9 2 2 C 1

R U 2 7 8 0 9 2 2 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61B 5/00 (2022.08); G01N 33/50 (2022.08)(21)(22) Application: **2021139294, 28.12.2021**(24) Effective date for property rights:
28.12.2021Registration date:
04.10.2022

Priority:

(22) Date of filing: **28.12.2021**(45) Date of publication: **04.10.2022 Bull. № 28**

Mail address:

**197758, Sankt-Peterburg, pos. Pesochnyj, ul.
Leningradskaya, 70, FGBU "RNTSRKHT imeni
A.M.Granova, Popova Alena Aleksandrovna**

(72) Inventor(s):

**Molchanov Oleg Evgenevich (RU),
Maistrenko Dmitrii Nikolaevich (RU),
Granov Dmitrii Anatolevich (RU),
Popova Alena Aleksandrovna (RU),
Semenov Konstantin Nikolaevich (RU),
Sharoiko Vladimir Vladimirovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe biudzhethnoe
uchrezhdenie "Rossiiskii nauchnyi tsentr
radiologii i khirurgicheskikh tekhnologii imeni
akademika A.M. Granova" Ministerstva
zdravookhraneniia Rossiiskoi Federatsii (RU)**

(54) **METHOD FOR PREDICTING THE DURATION OF A RELAPSE-FREE PERIOD IN PATIENTS WITH RESECTABLE THRICE-NEGATIVE BREAST CANCER**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine, more precisely to oncology, and concerns a method for predicting the duration of a relapse-free period in patients with resectable thrice-negative breast cancer. In a patient with resectable triple-negative breast cancer, the level of spontaneous production of IL-4 (X2), IL-6 (X1), IL-8 (X3) is determined; the induced production of TNF- α (X4) and the concentration of gamma/delta T-lymphocytes (X5) is determined, then the discriminant functions are calculated from the obtained

values: F1, F2, F3, F4, where F1 corresponds to the duration of the relapse-free period from 0 to 4 months, F2 - from 4 to 10 months, F3 - from 10 up to 14 months, F4 - more than 14 months. The prediction of the duration of the relapse-free period is estimated by the highest value of the function.

EFFECT: invention makes it possible to increase the accuracy of predicting the duration of a relapse-free period in patients with thrice-negative breast cancer.

1 cl, 5 tbl, 4 ex

Изобретение относится к медицине, точнее, к онкологии, и может найти применение при лечении злокачественных новообразований.

Рак молочной железы (РМЖ) - гетерогенное заболевание с переменными биологическими характеристиками и различным клиническим течением. Он занимает первое место в мире (около 25%) по заболеваемости и смертности среди других опухолей у женщин. Согласно информации глобальной базы данных по онкологическим заболеваниям (GLOBOCAN), в 2020 году в мире выявлен 34650951 случай, и 11210413 человек умерли от этого заболевания (Pharmacol. Ther. 2019, 199: 30-57). В Российской Федерации в 2019 году выявлено 66990 новых случаев РМЖ. Распространенность составила 489,6 случаев на 100000 человек.

Основными биомаркерами, отражающими свойства РМЖ, являются: 1) рецепторы эстрогенов (α -субъединица, ER α); 2) рецепторы прогестерона (PR); 3) рецепторов эпидермального фактора роста второго типа (HER2/new); 4) рецепторы эпидермального фактора роста (EGFR); 5) сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF); 5) цитокератины (CK5/6, CK14, CK17); 6) ядерный белок, отражающий уровень пролиферативной активности (Ki-67). В 2000 году С. Perou, используя технологию ДНК - микрочипа, выявил четыре молекулярных подтипа РМЖ, отличавшихся друг от друга экспрессией первых трех биомаркеров, выявляемой методами иммуногистохимии: люминальный А (PR+, ER+, Her-2-), люминальный В (PR \pm , ER+, Her-2+), с гиперэкспрессией Her-2 (PR-, ER-, гиперэкспрессия Her-2), базально-подобный или тройной негативный (PR-, ER-, Her-2-, а также CK5/6+, CK14+, CK17+, EGFR+). Позднее, в работах других исследователей, а также самого С. Perou с соавторами, позволили выделить еще несколько молекулярных вариантов рака молочной железы. Один из них по профилю экспрессии сходен с нормальной тканью (PR-и/или ER-, Her-2-, CK5/6-, CK14-, CK17-, EGFR-), второй характеризуется низкой экспрессией генов клаудина, обеспечивающего взаимодействие между эпителиальными клетками (Mol. Oncol. 2011; 5: 5-23). Последний вариант относится к тройному негативному раку. Он характеризуется низкой экспрессией E - кадгерина, наличием маркеров эпителиально-мезенхимального перехода (EMT, epithelial-mesenchymal transition) и стволовых опухолевых клеток (CSC, cancer stem cells), выраженной лимфоидной инфильтрацией, плохим прогнозом и высокой вероятностью появления отдаленных метастазов.

Базально-подобный трижды негативный рак молочной железы (ТНРМЖ) в разных странах составляет 12 - 20% среди других гистологических типов, и имеет ряд клинико-патологических и молекулярных особенностей, которые влияют на тактику лечения. Он встречается у женщин младше 50 лет и характеризуется высокой частотой рецидивирования, а также высоким риском метастазирования в паренхиматозные органы и головной мозг. По сравнению с другими вариантами опухоли чаще выявляется лимфоидная инфильтрация, центральные некрозы и фиброз.

В настоящее время прогнозирование вероятности появления рецидивов и отдаленных результатов осуществляется путем оценки гистологического строения и молекулярного подтипа опухоли, а также биомаркеров.

К настоящему времени предложено несколько классификаций ТНРМЖ. В основу их положены гистологические признаки, паттерны мутаций или экспрессия РНК.

В прошлом десятилетии, до первых работ по молекулярному анализу ТНРМЖ, были попытки изучить прогностическую значимость различных гистологических подтипов опухоли. По современным представлениям преобладающим вариантом является неспецифический тип (NST, no special type), который составляет около 75% среди всех морфологических вариантов и характеризуется высоким пролиферативным индексом,

наличием полиморфным ядер и низкой степенью дифференцировки. Остальные 25% составляют 47 морфологических подтипов с разной частотой выявления. Наиболее распространенными из них являются метапластическая, медуллярная, муцинозная, секреторная и протоковая карциномы. Реже всего встречается гликогенсодержащая светлоклеточная аденокарцинома (Ann. Diagn. Pathol. 2020; 46: 151490).

NST по сравнению с другими гистологическими вариантами характеризуются меньшей агрессивностью. Медиана времени до появления рецидива по разным данным составляет от 31,4 до 34 мес. Медуллярная аденокарцинома составляет менее 1% среди всех гистологических вариантов и характеризуется наилучшим прогнозом. Метапластическая карцинома обладает уникальными морфологическими характеристиками. Железистые компоненты в ряде случаев частично или полностью замещаются не железистыми. В зависимости от дифференцировки этот вариант подразделяется на 4 подтипа, различающихся по прогнозу: 1) плоскоклеточный тип с кератинизацией и плоскоклеточной дифференцировкой (время до появления рецидива - 21 - 24 мес.); 2) матрикс- продуцирующий тип (время до появления рецидива: 29 - 32 мес.); 3) смешанный тип, сочетающий плоскоклеточную дифференцировку с большими клетками, содержащими крупные ядра (время до появления рецидива: 25 - 27 мес.); 4) веретенклеточный тип (время до появления рецидива: 8 - 10 мес.). Слизистая кистозная аденокарцинома содержит миоэпителиальные и эпителиальные клетки, продуцирующие слизь и экспрессирующие СК 5, 6, 14. Она составляет 0,1% среди других морфологических вариантов и характеризуется наихудшим прогнозом (время до появления рецидива составляет около 2 мес.). Секреторная карцинома имеет солидное или железистое строение и крупные вакуолизированные опухолевые клетки, продуцирующие большое количество секрета. Этот вариант встречается чаще у молодых пациенток, менее, чем в 1% случаев, и является одним из прогностически благоприятных. Гликогенсодержащая светлоклеточная карцинома состоит из полигональных клеток со светлой цитоплазмой, содержащей большое количество гликогена. С прогностической точки зрения он занимает промежуточное положение среди других подтипов (время до появления рецидива составляет 10-16 мес.).

Недостатком методов прогнозирования, основанных на иммуногистохимическом исследовании, является низкая точность, так как помимо строения опухоли на отдаленные результаты оказывают влияние также противоопухолевая резистентность организма. Кроме того, большинство опухолей относится к NST типу, который включает разнородные по прогнозу опухоли.

Классификации, основанные на профилях экспрессии генов, представляют собой более совершенный инструмент с прогностической точки зрения по сравнению с иммуногистохимическим исследованием.

В 2012 году Curtis C. с соавторами разработал классификацию, основанную на оценке частоты точечных мутаций и дупликаций ряда генов. Модель была разработана при анализе образцов 997 первичных опухолей и валидирована с использованием 995 образцов, полученных от международного консорциума по молекулярной таксономии рака молочной железы (Molecular Taxonomy of Breast Cancer International Consortium, METABRIC) (Biomed. Rep. 2014; 2 (1): 41-52). В результате анализа авторы выделили 10 интегративных кластеров, различающихся по преобладающему характеру мутаций.

Опухоли базально-подобного типа, в основном (80%), имеют характеристики интегративных кластеров 4 и 10. Интегративный кластер 4 характеризуется наличием выраженной лимфоидной инфильтрации, а 10 - множественными хромосомными aberrациями (таблица 1).

В 2014 году Lehmann B.D. с соавторами проанализировали профили экспрессии 2188 генов 587 больных и выявили 6 типов опухолей, различающихся по биологическим свойствам: базально-подобный 1, 2 (BL1, BL2); мезенхимальный (M), мезенхимально-стволовой (MSL), иммуномодуляторный (IM), андрогенорецепторный (LAR) (J. Pathol. 2014; 232 (2): 142-150).

BL является наиболее распространенным молекулярным подтипом (BL1 - 22%, BL2 - 12%). BL1 характеризуется нарушением экспрессии генов, регулирующих клеточный цикл и репарацию ДНК: амплификация MYC, PIK3CA, CDK6, KRAS, FGFR1, IGF1R, CCNE1, CDKN2A/B; делеции BRCA2, PTEN, MDM2, RB1, TP53. M (21%) характеризуется дезорганизацией сигнальных путей, регулирующих клеточную миграцию, взаимодействие рецепторов с экстрацеллюлярным матриксом, а также дифференцировку. Большинство опухолей, имеющих гистологическую структуру метапластической карциномы, относятся к M подтипу. MSL (10%) связан с низкой экспрессией генов, регулирующих пролиферацию, и высокой - генов, ассоциированных со стволовыми клетками (ABCA8, PROCRA, ENG, ALDH1, PER1, ABCB1, BCL2, BMP2). Кроме того, клетки часто экспрессируют маркеры стволовых клеток (BMP2, ENG, KDR, NGFR, NTSE, PDGFR, VCAM1). IM (18%) характеризуется гиперэкспрессией генов, связанных с реализацией иммунного ответа: метаболические пути натуральных киллеров (NK), Т-хелперов (Th), В-клеток, дендритных клеток (DC), а также сигнальных путей, связанных с IL-7 и IL-12. IM подтип по биологическим свойствам в большинстве случаев соответствует медуллярной карциноме. LAR (9%) существенно отличается от других вариантов опухолей. Он отличается высоким уровнем экспрессии андрогеновых рецепторов (в 10 раз выше по сравнению с другими подтипами) и гиперэкспрессией генов, ассоциированных с биосинтезом стероидных гормонов.

В 2015 году Burstein M.D. с соавторами провели исследование, целью которого было модификация критериев и уточнение числа молекулярных подтипов тройного негативного рака молочной железы в соответствии с профилями экспрессии 80 генов (Clin. Cancer Res. 2015; 21(7): 1688-1698). В работе проводился анализ мутаций ДНК и экспрессии РНК. Всего было проанализировано 198 образцов (84 для разработки метода и 114 для валидации). В результате анализа было выделено 4 молекулярных подгруппы, определяемых гиперэкспрессией или амплификацией ряда генов, а также обозначены специфические биомаркеры для каждой из них: 1) люминальный -AR (LAR): андрогеновые рецепторы, муцин (MUC 1); 2) мезенхимальный (MES): IGF-1, ADRB2, EDBRB, PTGER 3/4, PTGFR, PTGFRA; 3) базально-подобный иммуносупрессивный (BLIS): VTCN1; 4) базально-подобный иммуноактивированный (BLIA): CTLA-4. Подгруппы обладают прогностической значимостью в отношении вероятности появления рецидива ($p=0,019$). В обоих случаях прогноз ухудшается в следующем порядке: BLIS > MES > LAR > BLIA.

В 2016 году Liu Y.R. с соавторами провели интегральный транскрипционный анализ матричных (mRNA) и длинных не кодирующих РНК (lncRNA) 165 образцов ткани, и предложили классификацию, основанную на превалирующих нарушениях в ключевых процессах канцерогенеза. Иммуномодулирующий подтип (IM, кластер А) ассоциирован с процессами иммуногенеза: экспрессия цитокинов, компонентов Т и В-клеточного рецепторов, хемокинов, элементов трансдукции сигнала внутрь клетки. Люминальный -AR подтип (LAR, кластер В) связан с активацией биосинтеза андрогенов и эстрогенов. Мезенхимальный подтип (MES, кластер С) ассоциирован с активацией компонентов экстрацеллюлярного матрикса. Базально-подобный иммуносупрессивный подтип (BLIS, кластер D) в отличие от мезенхимального, связан с гиперактивацией процессов

пролиферации клеток, что обусловлено гиперэкспрессией ряда регуляторных генов: CENPF, BUB1, PRC1. При этом процессы регуляции иммунного ответа в этом подтипе резко подавлены. С точки зрения прогнозирования рецидива BLIS подтип наименее благоприятный (Breast Cancer Res. 2016; 18(1): 33).

5 В настоящее время продолжают работы по выявлению и описанию молекулярных подтипов тройного негативного рака молочной. Большинство исследований базируются на оценке уровня mRNA различных генов. Недостаток подобного подхода связан с тем, что этот показатель далеко не всегда коррелирует со спектром и количеством белков, структура которых закодирована в mRNA. Связано это с многоуровневой
10 регуляцией пептидного синтеза. Кроме того, методы оценки mRNA дороги и трудоемки, что затрудняет их внедрение в клиническую практику.

В последние десятилетия появляется все больше свидетельств того, что присутствие CSC обуславливает высокий риск появления рецидивов. CSC являются одним из перспективных биомаркеров прогноза ТНПМЖ.

15 CSC представляют собой небольшую субпопуляцию клеток с поверхностным фенотипом CD 44+/CD24-, высоким уровнем экспрессии альдегиддегидрогеназы (ALDH), высоким пролиферативным потенциалом, инвазивностью и ЕМТ. В отношении них до сих пор остается не ясным, образуются ли эти клетки из опухолевых или в результате мутации резидентных стволовых (Adv. Cancer Res. 2019; 141: 43-84).

20 На современном этапе изучения канцерогенеза получены данные, подтверждающие, что гиперэкспрессия компонентов сигнальных путей, обеспечивающих ЕМТ, способствует генерации пула CSC, их выживанию в условиях гипоксии и недостаточности нутриентов, а также приобретению способности к аутофагии и самообновлению. Даже небольшое число CSC способствует формированию патологического микроокружения,
25 обеспечивающего резистентность к проводимому лечению и плохой прогноз в отношении ранних рецидивов (Sci. Rep. 2017; 7 (11): 13856). В отношении возможности использования CSC в качестве биомаркера рецидивов данные противоречивы. Имеется множество экспериментальных исследований, которые подтверждают роль CSC в канцерогенезе и прогрессировании. Но клинические данные противоречивы.

30 Молекулярные биомаркеры ТНПМЖ включают мутации генов, связанных с системами репарации ДНК, мутации сигнальных путей, экспрессия ростовых факторов и их рецепторов, циркулирующие опухолевые клетки и ДНК, микросателлитная нестабильность, мутационная нагрузка, молекулы - мишени для стандартных и разрабатываемых иммуноонкологических препаратов. Отдельную группу составляют
35 иммунологические биомаркеры. К ним относятся микроокружение опухоли, периферические иммунологические компоненты и третичные лимфоидные структуры.

BRCA 1 и BRCA2 - аутосомно-доминантные гены, имеющие критическое значение в репарации ДНК путем гомологичной рекомбинации (homologous recombination repair, HRR). BRCA1 локализуется на хромосоме 17q21. Он контролирует различные
40 компоненты сигнальной трансдукции, вовлеченные в репарацию ДНК, включая распознавание геномных повреждений, активацию белков, связывающих ДНК, и оценку двойных разрывов, требующих репарации. Кроме того, он принимает участие в ремоделировании хроматина и контроле транскрипции. BRCA2 локализуется на хромосоме 13 и играет ключевую роль в активации рекомбиназы RAD 51 и выявлении
45 локализации повреждения ДНК. Наследственные мутации BRCA 1 и BRCA2 (gBRCAm) встречаются в небольшой популяции (примерно 1 на 400 тыс. или 0,25%), в то время как у женщин с ТНПМЖ их частота составляет, по разным данным, от 11% до 31%. Риск развития рецидивов ТНПМЖ с наследственными мутациями BRCA1 и BRCA2

составляет 65% и 45% соответственно (J. Exp. Clin. Cancer Res. 2019; 38 (1): 195).

В 2015 году Domogala P. с соавторами изучили распределение 36 мутаций в генах, участвующих в гомологичной рекомбинации. Было выявлено, что они есть у 22 % (35 из 158) больных ТНРМЖ. Эти данные были подтверждены в другом исследовании, где продемонстрировано, что дефицит гомологичной рекомбинации (homologous recombination deficiency, HRD) встречается также и при мутациях в ряде других генов, включая PALB2, BARD1, BRIP1, RAD51, RAD51C, RAD51D, ATM, FAAP20, CHECK2, FAM1, FANCE, FANCM, POLQ. Как и в случае с мутациями BRCA1/2 мутации в других генах, связанных с гомологичной рекомбинацией являются факторами неблагоприятного прогноза в отношении появления рецидивов (PLoS ONE. 2015; 10 (6): e0130393).

Общим недостатком методов прогнозирования рецидивов путем оценки мутаций в генах, связанных с репарацией ДНК, является отсутствие четкого алгоритма, который бы позволял точно спрогнозировать рецидив, что обусловлено вовлечением множества генов и многих этапов посттраскрипционной модификации, влияющих на клинические проявления.

Циркулирующие опухолевые клетки (СТС, circulating tumor cell) потенциально являются биомаркером, связанным с предсказанием рецидивов ТНРМЖ. На протяжении последних двадцати лет было предложено множество способов детекции СТС, включая фильтрацию, ультрафильтрацию и электрофорез. Однако общепризнанным стандартизованным методом выделения в настоящее время является CellSearch technology (Menarini Silicon Biosystems, Huntigton Valley, USA), предложенная в 2004 году и основанная на изоляции СТС, экспрессирующих молекулы адгезии ЕpСAM (J. Clin. Oncol. 2005; 23 (7): 1420-1430.).

В 2004 году Cristofanilli M. с соавторами на группе из 177 больных с метастатическим РМЖ продемонстрировали, что более 5 СТС/7,5 мл крови является независимым прогностическим фактором в отношении раннего рецидива (N. Engl. J. Med. 2004; 351 (8): 781-791).

Несмотря на длительную историю изучения, данные касающиеся роли СТС в качестве фактора прогноза у больных ТНРМЖ, противоречивы. Ряд авторов отмечают, что прогностическая значимость ограничена вследствие склонности ЕMT, в результате чего утрачиваются ЕpСAM и появляются признаки CSC. Munzone E. с соавторами в ретроспективном анализе данных 203 больных продемонстрировали, что число СТС коррелирует с показателями общей выживаемости, но не с прогрессированием и ранними рецидивами (Clin. Breast Cancer. 2012; 12 (5): 340-346).

Помимо СТС, опухолевая ткань является источником экзосом, циркулирующей опухолевой ДНК (ctDNA) и РНК (miRNA). ctDNA в крови - потенциальный биомаркер, с помощью которого можно прогнозировать прогрессирование и появление рецидивов. Идентификация опухолевых специфических мутаций в ctDNA может служить фактором персонализации лечения, а при наличии метастатических поражений - хорошей альтернативой биопсии. Stover D.G. с соавторами в ретроспективном анализе 164 больных метастатическим ТНРМЖ продемонстрировали, что ctDNA является независимым прогностическим фактором общей выживаемости. Медиана общей выживаемости в подгруппе, где опухолевая фракция ctDNA превышает 10% составила 6,4 мес., в альтернативной - 15,9 мес. (J. Clin. Oncol. 2018; 36 (6): 543-553). В исследовании Parsons H.A. показана 70% конкордантность генетических изменений в метастатических очагах и в ctDNA (62). В исследовании Riva F. с соавторами у 27 из 36 больных (75%) до лечения была выявлена ctDNA. Идентичность ее с опухолью оценивалась путем выявления мутаций в гене TP53. Выявление ctDNA коррелировало метастатическим

индексом ($p=0,003$), степенью дифференцировки опухоли ($p=0,003$) и стадией ($p=0,03$). У всех больных с ctDNA отмечалось прогрессирующее на фоне неoadъювантной химиотерапии. При этом корреляции между полным ответом на лечение и ctDNA не было выявлено (Clin. Chem. 2017; 63 (3): 691-699).

5 MiRNA - небольшие молекулы РНК, которые регулируют экспрессию mRNA. Дополнительной функцией miRNA являются участие в трансляции mRNA путем рекрутинга протеинового комплекса формирования рибосом. У человека в настоящее время описано 2654 последовательности miRNA. Роль miRNA в канцерогенезе ТНПМЖ в последние годы интенсивно изучается. PubMed в настоящее время включает более
10 500 публикаций, касающихся роли miRNA (из них более 30 касаются циркулирующей miRNA) в ТНПМЖ.

Исторически первой RNA, выявленной у больных ТНПМЖ, была has-miR-210. Она была ассоциирована с плохим прогнозом. Li H.Y. с соавторами в 2017 году провели сравнение экспрессии miRNA в 204 образцах ТНПМЖ и 1095 образцах других РМЖ
15 других молекулярных подтипов. Авторы выявили 376 miRNA с различающейся экспрессией, но лишь 10 из них были связаны с плохим прогнозом в отношении рецидива при ТНПМЖ: а) усилена экспрессия has-miR-301b, has-miR-181a-2-3p, has-miR-105-5p, has-miR-93-3p; б) снижена экспрессия has-miR-7-1-3p, has-miR-135a, has-miR-628-5p, has-miR-638, has-miR-3173, has-miR-4245 (65). Сходные данные с дифференцированной
20 экспрессией различных типов miRNA в тканях и периферической крови были получены рядом других авторов (J. Cell Physiol. 2019; 234 (7): 11768-11779).

Недостатками методов оценки вероятности рецидивов ТНПМЖ путем оценки ctDNA и MiRNA являются отсутствие стандартизованных методов оценки и четких алгоритмов, связывающих уровень DNA и RNA в крови с вероятностью рецидива.

25 Биомаркеры, являющиеся предикторами эффективности иммунотерапии у больных ТНПМЖ включают ко-ингибирующие молекулы - мишени иммуноонкологических препаратов, микросателлитную нестабильность, мутационную нагрузку, а также опухоль-инфильтрирующие лимфоциты. Они также обладают прогностическим потенциалом в отношении рецидивов.

30 PD-1 - ко-ингибирующая молекула, регулирующая функции компонентов врожденного и адаптивного иммунного ответа. Она экспрессируется на поверхности Т-лимфоцитов, В - лимфоцитов, МФ, моноцитов, DC. В физиологических условиях она способствует формированию толерантности к аутоантигенам, в микроокружении опухоли - опухолевой иммунологической толерантности (Blood. 2009; 114 (8): 1537-
35 1544.). PD-L1 экспрессируется в 20% случаев ТНПМЖ. PD-L1 экспрессируется примерно в 10% на опухолевых клетках, и в 40-65% на клетках микроокружения опухоли. Экспрессия PD-L1 на опухолевых клетках является предиктором позднего рецидива и маркером чувствительности к химиотерапии. Но эти данные еще не подтвердились в других исследованиях (2018; 70 (2): 73-86. Engl. J. Med. 2016; 375 (18): 1767-1778).

40 Мутационная нагрузка (ТМВ, tumor mutational burden) рассчитывается как отношение общего числа мутаций на единицу генома. Потенциально мутационная нагрузка приводит к образованию новых антигенов и активации Т-клеточного ответа. Для некоторых опухолей, таких как меланома, колоректальный рак, рак легкого, мутационная нагрузка, определяемая методами сиквенса следующего поколения (NGS)
45 является предиктивным маркером для иммуноонкологических препаратов, не связанным с PD-L1 статусом. Мутационная нагрузка коррелирует с частотой лимфоидной инфильтрации опухоли. В настоящее время вопрос о предиктивной роли мутационной нагрузки у больных ТНПМЖ остается дискуссионным. Частота высокой мутационной

нагрузки при РМЖ составляет 3,1 - 5% (преимущественно метастатические формы и ТНРМЖ). Высокая ТМВ является независимым благоприятным предиктором общей выживаемости на фоне лечения иммуноонкологическими препаратами (J. Clin. Oncol. 2018; 36: 1010). В исследовании GeparNuevo, где оценивалась эффективность

5 Дюрвалумаба (анти-PD-L1) в сочетании с химиотерапией таксанами и антрациклинами в неoadъювантном режиме у больных ТНРМЖ выявлено, что ТМВ и профиль экспрессии генов, связанных с иммунным ответом, являются независимыми предикторами полного морфологического ответа на лечение и позднего рецидива (Ann. Oncol. 2020; 31(9): 1216-1222).

10 Микросателлитная нестабильность (MSI, microsatellite instability) - фенотип, обусловленный дефицитом механизмов репарации ДНК (dMMR, deficient mismatch repair). MSI ассоциирована с высокой частотой образования неоантигенов, и, как следствие, чувствительностью к иммуноонкологическим препаратам. Частота MSI-H/dMMR при ТНРМЖ очень низка (0%-1,5%), и ее прогностическая и предиктивная
15 значимость продолжает изучаться Cancer Res. 2018; 78, PD6-03 (90, 91).

Общим недостатком использования предикторов эффективности иммунотерапии для прогнозирования ранних рецидивов ТНРМЖ является отсутствие достаточных клинических данных. Во всех исследованиях делается акцент на прогнозировании эффективности иммунотерапии, а информация о влиянии на прогноз раннего рецидива
20 является дополнительной, а иногда и просто случайной находкой.

Взаимное влияние опухоли и иммунной системы изучается уже более 50 лет. В середине XX века эксперименты на животных по ксенотрансплантации опухоли показали, что эффективный иммунный ответ возможен лишь при наличии опухолеспецифических антигенов в большой концентрации. Основываясь на этих
25 данных, в 1957 году М. Bernet. сформулировал «клонально-селекционную теорию» и ввел термин «иммунологический надзор». Одним из постулатов нового направления было представление о том, что ежедневно в организме образуются трансформированные клетки, экспрессирующие чужеродные антигены, которые элиминируются компонентами иммунной системы. Согласно концепции «иммуноредктирования», постулированной
30 Dunn G. с соавторами, можно выделить три фазы взаимодействия иммунной системы и опухоли: элиминация, равновесие и ускользание. Фаза элиминации представляет собой аналог «иммунологического надзора», описанного М. Bernet. В этот период происходит распознавание и элиминация опухолевых клеток факторами врожденного и адаптивного иммунитета. Для фазы равновесия характерно наличие сформировавшихся опухолевых
35 масс. Длительность ее от нескольких месяцев до десятков лет. В этот период факторы адаптивного иммунитета уничтожают часть опухолевых клеток, в результате чего клиническое течение приобретает характер длительной стабилизации, появляются изменения сывороточной концентрации и функции периферических иммунологических компонентов. Фаза ускользания - финальный этап взаимодействия опухоли и иммунной
40 системы. Она самая короткая и необратимая. В этот период реализуются все варианты иммуносупрессивных воздействий, включая продукцию гуморальных факторов (цитокины, хемокины, матриксные металлопротеиназы (ММП), галектины, ганглиозиды), повышение концентрации Treg, TAM (опухоль - ассоциированные макрофаги), клеток с высокой активностью IDO (индоламин-2,3 - диоксигеназа), а также потеря ζ-цепи TCR
45 (Т-клеточный рецептор), снижение экспрессии МНС I и эффекторных цитокинов (Nat. Immun. 2002; 3 (11): 991-998).

Изучение иммунологических биомаркеров включают количественную и качественную оценку компонентов иммунной системы. Прогностическое и предсказательное значение

имеют клетки в микроокружении опухоли и в крови. В обоих случаях могут оцениваться количественные характеристики и соотношение популяций, а также концентрация и продукция цитокинов (спонтанная и индуцированная). В микроокружении прогностическим и предсказательным потенциалом обладают также третичные лимфоидные структуры и паттерны экспрессии генов, ассоциированных с генерацией иммунного ответа.

В первых работах, связанных с изучением прогностического потенциала биомаркеров у больных ТНPMЖ, проводилась оценка лимфоцитов или мононуклеаров периферической крови, а также соотношений разных субпопуляций лейкоцитов.

В 2016 году He J. с соавторами на группе из 230 больных с локальными и местнораспространенными формами ТНPMЖ выявили, что благоприятными прогностическими факторами в отношении общей и безрецидивной выживаемости являются лимфоцитоз ($p < 0,005$), моноцитоз ($p < 0,005$), а также соотношение лимфоцитов и моноцитов ($LMR \geq 4,7$; $p < 0,001$). Кроме того, LMR коррелировало с размером опухоли ($p < 0,005$) и стадией заболевания ($p = 0,013$). Сходные данные получены в исследовании Jia W. с соавторами. В ретроспективное исследование были включены 1570 больных, оперированных в период с 2000 по 2010 годы. Одномерный анализ позволил выявить, что нейтрофильно-лимфоцитарное соотношение ($NLR \leq 2$) и $LMR > 4,8$ являются предикторами раннего рецидива у больных ТНPMЖ (NLR , $p = 0,007$; LMR , $p = 0,011$).

Многомерный анализ продемонстрировал, что только NLR является независимым положительным прогностическим фактором в отношении общей выживаемости ($p = 0,035$) и раннего рецидива ($p = 0,012$). Предсказательные свойства, по данным этих исследователей, актуальны лишь при оценке их до начала лечения (Tumor Biol. 2016; 37 (7): 9037-9043. PLOS. 2015; 10 (11): 1371.). В то же время, в работе Losada B. с соавторами, оценивая абсолютное количество лимфоцитов (ALC), NLR, LMR и PLR (тромбоцитарно-лимфоцитарное соотношение) на группе больных ≥ 65 лет (104 человека) при проведении одномерного анализа продемонстрировали, что только PLR является независимым предсказательным фактором в отношении раннего рецидива ($p = 0,04$) и общей трехлетней выживаемости ($p = 0,03$), а при многомерном анализе в подгруппе, пережившей трехлетний период (69 человек), из иммунологических факторов предиктивные свойства есть лишь у ALC ($p = 0,04$) (Clin. Transl. Oncol. 2019; 21 (1): 855-863).

Оценка субпопуляций клеток миелоидного и лимфоидного ряда как в периферической крови, так и в микроокружении является более точным методом оценки прогноза. Среди клеток лимфоидного ряда изучалась роль лимфоцитов (CTL, Treg, В-лимфоциты), миелоидного - моноцитов/макрофагов (M1,2), дендритных клеток (DC), супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC). Прогностическое значение, кроме того, имеют компоненты врожденного иммунитета: натуральные киллеры (NK), нейтрофилы, эозинофилы (Cancers. 2021; 13 (6): 1305).

К настоящему времени показано, что моноциты и клетки моноцитарной линии связаны с канцерогенезом PMЖ, а также с прогнозом и эффективностью различных вариантов лечения. В микроокружении опухоли и периферической крови существует две субпопуляции МФ - M1 и M2. M1 - классически активируемые МФ, поляризация которых из предшественников происходит под действием липополисахарида, IFN- γ и TNF- α . M2 - сборное название группы клеток макрофагального ряда, индуцирующихся под влиянием IL-4, IL-13, IL-10, TGF- β , Fc-рецепторов, комплемента и глюкокортикоидов. M2 образуются из моноцитов периферической крови, рекрутированных в очаг хемокиновыми лигандами (CCL-2, MCP-1), колоние-стимулирующими факторами (M-CSF, CSF-1) и сосудистым эндотелиальным фактором роста (VEGF), концентрация

которых повышена в зонах с низким давлением кислорода. В зонах хронической гипоксии в макрофагах синтезируются гипоксия - индуцированные факторы (HIF-1 и HIF-2). Они дерепрессируют синтез ряда белков, повышающих ангиогенный потенциал опухоли (VEGF, bFGF, PDGF), инвазивный потенциал, метастазирование и EMT (MMP, CCL2, CCL18). Кроме того, в них отмечается избыточная экспрессия аргиназы (Arg) и IDO, снижающих концентрацию аргинина и триптофана, необходимых для нормального функционирования Т - лимфоцитов и NK (ВМС Cancer. 2018; 18 (1): 366).

В периферической крови больных ТНPMЖ концентрация M2 существенно выше по сравнению с M1, что коррелирует с коротким безрецидивным периодом. M2 макрофаги чаще встречаются в крови больных с отдаленными метастазами. Соотношение субпопуляций моноцитов при ТНPMЖ отличается от других вариантов PMЖ:

преобладает вариант альтернативной поляризации ($CD14^+CD16^+$) по сравнению с классическим ($CD14^{hi}CD16^-$). Высокая концентрация моноцитов ($CD14^+$) является предиктором хорошего ответа на высокодозную системную терапию циклофосфамидом и таксанами, а также благоприятным прогностическим фактором в отношении рецидива (Front. Immunol. 2019; 10: 1767).

MDSC представляют собой гетерогенную группу клеток, образующихся из кроветворного предшественника - не зрелых миелоидных клеток (IMC, $CD31+CD11b+CD15+$). В норме созревание происходит в костном мозге и селезенке. В микроокружении опухоли под действием гуморальных факторов (VEGF, IL-3, IL-4, IL-6) и лигандов хемокинов (CXCL2, 5, 12; CCL2, 5) блокируется их дальнейшая дифференцировка, и они накапливаются в первичных и метастатических очагах. У человека выявляется две субпопуляции MDSC: гранулоцитарные MDSC (gMDSC, $CD11b+CD14-CD15+CD33+$) и моноцитарные MDSC (mMDSC, $CD11b+CD14+CD15-CD33+HLADR-low$). MDSC - ключевые компоненты в индукции иммуносупрессии на фоне хронического воспаления. За счет активных метаболитов кислорода и азота они индуцируют анергию эффекторных клеток, способствуя рекрутингу Treg в опухоль и поляризации предшественников МФ в сторону M2. Кроме того, они стимулируют ангиогенез и способствуют поддержанию популяции CSC (Oncotarget. 2017; 8(2):3649-65).

Высокая концентрация MDSC коррелирует с объемом опухолевой массы. У больных ТНPMЖ их концентрация значительно выше по сравнению с другими молекулярными вариантами PMЖ. MDSC обладают предиктивной значимостью в плане эффективности химиотерапии. Вероятность положительного эффекта связана с увеличением соотношения gMDSC/mMDSC. Вместе с другими показателями (CTL ($CD8+$)) mMDSC являются положительным прогностическим фактором в отношении раннего рецидива (Cancer Immunol. Immunother. 2020; 69(3):435-448).

DC - это высокоспециализированная субпопуляция, основной функцией которой является поглощение, процессинг и презентация антигенов в составе главного комплекса гистосовместимости I и II типа (MHC I и II) в комбинации с ко-стимулирующими молекулами Th ($CD4+$) непосредственно, и опосредованно - CTL. Их активация происходит под действием «сигналов опасности», исходящих от опухолевых клеток, включающих хемокины и неоантигены. «Созревание» DC, помимо презентации антигенов, включает экспрессию ко-стимулирующих молекул ($CD40$, ICAM I, $CD80/86$, $CD83$), секрецию широкого спектра цитокинов (IFN- γ , IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13) и миграцию в лимфатические узлы, где происходит запуск программы активации Th. У человека морфологически и функционально различают две субпопуляции DC: миелоидные (mDC) и плазмацитоидные (pDC). mDC - классические DC, имеющие фенотип $CD11c+CD4+CD45RO+$, экспрессирующие MHC I, II и запускающие иммунный ответ

при контакте с растворимыми антигенами. pDC с фенотипом CD11c-CD4+CD45RA+CD123+ и экспрессией МНС I поглощают клеточно-ассоциированные антигены. У больных ТНРМЖ под влиянием IL-10 и TGF- β в DC снижается экспрессия цитокинов (IL-12), ко-стимулирующих молекул (CD80, CD86), активационных маркеров (HLA-DR) и способность к презентации антигенов (Nat. Rev. Immunol. 2020; 20(1):7-24.).

Данные о прогностической и предсказательной роли DC у больных ТНРМЖ противоречивы. По данным ряда исследователей, их высокий уровень в крови является благоприятным прогностическим фактором в отношении общей выживаемости и раннего рецидива (In Vivo. 2018; 32(6):1561-1569). Требуются дальнейшие исследования для выявления их потенциала в качестве биомаркеров ТНРМЖ.

Treg - субпопуляция, составляющая примерно 5 - 10 % от общего числа периферических лимфоцитов здорового человека и примерно 50% от популяции лимфоцитов с маркерами CD4+CD25+. В настоящее время им отводят ключевую роль в предотвращении развития аутоиммунных реакций и иммуносупрессии в процессе канцерогенеза. Treg имеют фенотип CD4+CD25+FoxP3. Среди CD4+CD25+ FoxP3 выделяются две субпопуляции. Одна из них имеет фенотип CD4+CD25^{hi}CTLA^{hi}FoxP3 и образуется в тимусе из недифференцированных лимфоцитов, другая, с фенотипом CD4+CD25^{variable}CTLA^{hi}FoxP3, возникает из периферических Th под действием избыточной концентрации глюкокортикоидов, эстрогенов, IL-2 и TGF- β . Однако по функциям они идентичны. Механизм действия их связан с контактным ингибированием, секрецией супрессорных цитокинов (IL-10, IL-35, TGF- β), а также прямым лизисом иммунокомпетентных клеток (Cancer Microenviron. Off J. Int. Cancer Microenviron. Soc. 2019; 12(23):119-132).

В 2019 году Peng G.L. с соавторами на группе из 122 человек продемонстрировали, что низкое соотношение Treg/CTL (экспрессия в опухоли, определяемой иммуногистохимическим методом) по сравнению с высоким является благоприятным прогностическим фактором в отношении раннего рецидива (Am. J. Trans. Res. 2019; 11(8):5039-5053). Wang L. с соавторами на группе из 118 больных исследовал экспрессию Treg, Th1 и Th2 одновременно в опухолевых очагах и периферической крови больных ТНРМЖ. Авторам удалось доказать, что эти клетки идентичны по спектру поверхностных маркеров и экспрессируемых цитокинов, а также продемонстрировать что высокая концентрация Treg является предиктором раннего рецидива (Nat. Immunol. 2019; 20(9): 1220-1230).

Прогностическая значимость субпопуляций Т-лимфоцитов (Th, CD4+; CTL, CD8+) при разных опухолях отражена во многих публикациях. При ТНРМЖ авторами отмечается выраженность молекулярных дефектов этих клеток, приводящих к снижению цитолитической функции и ухудшению распознавания чужеродных антигенов. Преобладание в периферической крови зрелых форм по сравнению с

недифференцированными (CD45RA⁺CD95-CD27⁺CD28⁺) и клетками памяти у больных с отдаленными метастазами является благоприятным фактором прогноза в отношении общей выживаемости и позднего рецидива (Int. J. Cancer. 2011; 131(7): 1611-1620).

Высокая вероятность раннего рецидива при ТНРМЖ связан с высоким уровнем CTC и коррелирующими с ними низкими уровнями CD4+ и CD8+ (J. Cancer. 2016; 7(9): 1095-1104).

Существует еще одна популяция лимфоидных клеток, влияющих на канцерогенез и формирование иммуносупрессивного микроокружения - врожденные лимфоидные клетки (ILCs). ILCs возникают из общего лимфоидного предшественника с другими

лимфоцитами. К настоящему времени выделяют три типа ILCs: ILC1s, ILC2s, ILC3s. Под действием IL-12, IL-15 и IL-18 ILC1s секретируют IFN- γ , стимулируя МФ и DC; ILC2s секретируют IL-5, IL-9, IL-13 и амфирегулин, усиливая секреторную активность Treg; ILC3s стимулируют стромальные клетки (Cell. 2018; 174(5):1054-1066). ILC1s обладают противоопухолевой активностью (Front. Immunol. 2019; 10:656). ILC3s вместе со стромальными клетками стимулируют формирование лимфогенных метастазов (Cancer Res. 2017; 77(5):1083-1096). Высокая концентрация ILC2s ассоциирована с высокой частотой раннего рецидива, а также рисков возникновения метастазов в легких и печени у больных ТНРМЖ (BMC Cancer. 2018; 18(1):341).

Оценка субпопуляций лимфоцитов в крови больных ТНРМЖ является наиболее перспективным методом оценки риска раннего рецидива. Преимущество его перед другими методами заключается в простоте использования и высокой информативности. Недостаток всех предложенных методов является отсутствие четкого алгоритма, который бы связывал количественные параметры с вероятностью рецидива.

Изучение микроокружения опухоли при ТНРМЖ является важным компонентом оценки прогноза заболевания. С клинической точки зрения микроокружение можно оценивать количественно, качественно, с учетом субпопуляционного состава, а также по присутствию третичных лимфоидных структур. Кроме того, в настоящее время имеется возможность оценивать концентрацию и продукцию цитокинов лимфоидными элементами крови и микроокружения.

Наличие лимфоидной инфильтрации, составляющей 50-60% от объема стромы при всех молекулярных подтипах ТНРМЖ, как правило, говорит о хорошем прогнозе, низкой вероятности рецидивирования и потенциальной чувствительности к иммуноонкологическим препаратам и химиотерапии (BMJ Cancer. 2018; 18 (1): 556).

В 2014 году Adams S. с соавторами опубликовали данные исследования о влиянии плотности стромальных и интраэпителиальных опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (sTIL, iTIL) на отдаленные результаты лечения ТНРМЖ. В работе были проанализированы образцы 506 больных, которые получали лечение в рамках протоколов EOCG E2197 (191 человек) и E1199 (291 человек). В 481 образце были выявлены TIL (sTIL - 80%, iTIL - 15%). В результате многомерного анализа выявлено, что плотность sTIL является независимым прогностическим фактором ранних рецидивов, общей выживаемости и времени до появления отдаленных метастазов. Повышение плотности sTIL на каждые 10% приводит к уменьшению риска локального рецидива на 14% ($p=0,02$), риска отдаленных метастазов на 18% ($p=0,04$) и риска смерти на 19% ($p=0,01$) (J. Clin. Oncol. 2014; 32 (27): 2959- 2967).

В 2020 году He L. с соавторами провели метаанализ 22 отобранных публикаций, в которых отражены результаты лечения 15676 больных РМЖ (из них ТНРМЖ - 3847). Были отобраны публикации, где проводились рандомизированные исследования и оценка TIL согласно рекомендациям международной рабочей группы. Результаты многомерного анализа выявили, что увеличение плотности TIL на каждые 10% приводит к увеличению показателей общей выживаемости и частоты полных морфологических ответов при всех молекулярных подтипах. Высокая плотность TIL ($\geq 50\%$) приводит к увеличению частоты полных морфологических ответов (pCR) в 2,7 раза и снижению риска рецидивов в 1,8 раза при ТНРМЖ (BMC Womens Health. 2020; 20 (1): 194).

Современные исследования включают анализ не только плотности лимфоидного инфильтрата, но и субпопуляционного состава микроокружения опухоли, изучение особенностей третичных лимфоидных структур, а также «иммунологических подписей», отражающих активацию генов, связанных с иммунной системой.

В 2016 году Yu X. с соавторами провели метаанализ 17 публикаций с участием 12968 больных РМЖ, включая ТНРМЖ. В отличие от исследований Adams S. и He L., критерием отбора было наличие анализа субпопуляционного состава, включавший лимфоциты с маркерами CD8+ (CTL), PD-1+, Foxp3+ (Treg). Авторы пришли к заключению, что наличие TIL является благоприятным прогностическим фактором в отношении безрецидивной выживаемости и предиктором ответа на неоадьювантную терапию. Последняя закономерность не воспроизводится в группе с ТНРМЖ. Наличие PD-1+ TIL и Foxp3+ TIL является неблагоприятным прогностическим фактором в отношении общей выживаемости, а CD8+TIL - благоприятным в отношении общей и позднего рецидива (Clin Transl. Oncol. 2016; 18(5): 497-506).

В классическом варианте генерация эффективного адаптивного иммунного ответа, включающая все этапы созревания DC и презентацию антигенов в составе МНС эффекторным клеткам, происходит во вторичных лимфоидных органах (селезенка, лимфатические узлы). Детальное изучение микроокружения позволило выявить, что непосредственно в опухоли образуются третичные лимфоидные органы (TLO), в которых дублируются эти процессы. TLO состоят из Т-зон, содержащих в большом количестве DC и В - герминогенных центров. В них происходит активация, пролиферация и дифференцировка Т и В клетки, в результате чего происходит образование CTL, эффекторных Th и В-клеток, продуцирующих антитела, а также клеток памяти. Структурно TLO схожи с лимфатическими узлами. Помимо зон созревания, они включают стромальные клетки и вены с высоким эндотелием (HEV). TLO чаще локализуются по периферии опухоли (Front. In immunol. 2019; 10: 1398).

В большинстве проведенных исследований авторы приходят к выводу о том, что формирование TLO является благоприятным прогностическим фактором ТНРМЖ. Но методология исследования до настоящего времени не является универсальной. Поэтому в публикациях оцениваются разные компоненты TLO: плотность HEV, количество TLO в биоптате, субпопуляционный состав, профиль экспрессии генов. В 2018 году Song I.H. с соавторами провели исследование с использованием данных 108 больных ТНРМЖ. Они оценивали число TIL, TLS, плотность HEV, субпопуляционный состав (CD3+, CD8+, CD20+), а также экспрессию CXCL13. В результате многомерного анализа выявлено, что благоприятными прогностическими факторами полного морфологического ответа являются плотность HEV, CD3+, CD20+, экспрессия CXCL13, а позднего рецидива - плотность HEV, CD8+ и экспрессия CXCL13 (J. Clin. Invest. 123 (7), 2873-2892 (2013)).

Оценка микроокружения опухоли, включая субпопуляционный состав и третичные лимфоидные органы - важный источник прогностической информации у больных ТНРМЖ. Достоинством методов оценки микроокружения связаны с возможностью получения наиболее достоверных данных о взаимодействии опухоли и иммунной системы. Общими недостатками являются, во-первых, техническая сложность оценки. Большинство клинических и научных лабораторий не обладают возможностями для детального анализа микроокружения. Во-вторых, отсутствуют количественные критерии оценки микроокружения. В-третьих, не во всех случаях гистологический материал, полученный при биопсии, пригоден для оценки микроокружения.

Цитокины в настоящее время рассматриваются как универсальные регуляторы, контролирующие гомеостаз многих клеток. При ТНРМЖ они участвуют в регуляции ангиогенеза, формирования иммуносупрессивной сети, метастазирования, а также в интеграции метаболических процессов, связанных с ожирением, хроническим воспалением и канцерогенезом. Вовлеченность в процессы канцерогенеза делает

возможным использование цитокинов в качестве прогностических факторов. Цитокины могут оцениваться в крови или микроокружении опухоли. В обоих случаях может оцениваться их концентрация (в микроокружении - экспрессия), а также спонтанная и индуцированная продукция. В канцерогенезе ТНРМЖ вовлечены IL-1, 6, 8, 10, 11, 17, 19, 20, 23; TNF- α . Многие из них обладают прогностическим потенциалом (таблица 1: прогностическая роль гиперэкспрессии в микроокружении или повышения уровня цитокинов в плазме у больных тройным негативным раком молочной железы).

Наиболее изученными цитокинами, связанными с канцерогенезом и прогнозом ТНРМЖ являются: IL- 6, 8, 10, TNF- α и TGF- β . IL-6 - цитокин с широким спектром биологических активностей, осуществляющий «интеграцию» иммунной и нейроэндокринной системы. Основными его источниками являются Т-лимфоциты, МФ, миоциты, эндотелиоциты, фибробласты и опухолевые клетки. В физиологических условиях он играет центральную роль в гемопоезе, а также в регуляции роста и дифференцировки эндотелиоцитов, кератиноцитов, остеобластов и нейронов. В иммунной системе IL-6 активирует пролиферацию и синтез антител В-лимфоцитами, пролиферацию СТЛ, стимулирует гранулоцитарный росток кроветворения, а также индуцирует экспрессию острофазных белков в печени. IL-6 является проангиогенным фактором и стимулирует экспрессию гена множественной лекарственной устойчивости. Гиперэкспрессия IL-6 в опухоли и повышение концентрации в периферической крови является не благоприятным прогностическим фактором в отношении общей выживаемости и рецидивов (J. Immunol. Res. 2020; 2020: 5618786). Ожирение является одним из основных факторов риска РМЖ.

IL-8 относится к семейству хемокинов. Главные продуценты - МФ и эндотелиальные клетки, дополнительные - лимфоциты, нейтрофилы, фибробласты. Индукторы синтеза - провоспалительные цитокины. Основная биологическая функция связана с регуляцией миграции клеток. В процессе канцерогенеза IL-8 может выступать как аутокринный фактор роста, а также стимулировать ангиогенез. IL-8 в сыворотке - не благоприятным прогностическим фактором в отношении общей выживаемости и раннего рецидива (Acta Histochemika. 2012; 114 (6): 571-576. Breast Cancer Res. 2013; 15 (4): 210).

IL-10 является ключевым регулятором противоопухолевого иммунного ответа. Семейство IL-10 включает, помимо самого цитокина, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26. Несмотря на длительную историю изучения, функции его до конца не ясны, а экспериментальные данные противоречивы. Он был выделен и охарактеризован в 1989 году. Первоначально его называли «фактор, ингибирующий синтез цитокинов» (CSIF, cytokine synthesis inhibitory factor), однако в дальнейшем стало очевидно, что он обладает также иммуностимулирующими свойствами. У человека основными продуцентами IL-10 являются: Treg, Th0, Th1, Th2, СТЛ, моноциты, МФ, опухолевые клетки, ТАМ и НК. Свойства IL-10 зависят от фазы взаимодействия опухоли и иммунной системы, концентрации цитокина, а также от локализации его клеток мишеней. В лимфоидных органах реализуются его иммуносупрессорные эффекты, а в микроокружении опухоли также и иммуностимулирующие. IL-10 подавляет созревание DC путем редукции экспрессии МНС II, молекул адгезии и цитокинов (IL-12), а также снижая чувствительность рецепторов, реагирующих на «сигналы опасности». DC в микроокружении опухоли сами могут стать источником IL-10, генерируя при этом Treg. IL-10 ингибирует пролиферативную активность и продукцию цитокинов Th1. Высокая сывороточная концентрация IL-10 и высокий уровень экспрессии в ткани - предиктор раннего рецидива (Tzu. Chi. Med. J. 2021; 33 (3): 203-211).

TNF- α относится к семейству фактора некроза опухолей, сформированному на

основании сходства строения лигандов и рецепторов. Основные биологические эффекты TNF- α в канцерогенезе связаны с поддержанием перитуморальной воспалительной реакции, усилением проницаемости капилляров и стимуляцией ангиогенеза. В фазе надзора он способствует повышению содержания эффекторных клеток и химиопрепаратов в очаге, а в фазах равновесия и ускользания - прогрессии за счет образования новых сосудов и запуска каскадных реакций хронического воспаления. Роль TNF- α в ТНРМЖ двояка. С одной стороны, он способствует ЕМТ, с другой - активизирует противоопухолевые CTL. TNF- α по данным некоторых авторов - предиктор раннего рецидива при ТНРМЖ (BMC Cancer. 2011; 11: 130).

Оценка экспрессии цитокинов в микроокружении и концентрации в крови является наиболее перспективным методом прогнозирования рецидивов.

Наиболее близким к предлагаемому является способ, предложенный группой авторов, которые анализировали взаимосвязь сывороточной концентрации IL-6, IL-8 и TNF- α с клинико-патологическими характеристиками у больных РМЖ (Ma Y., Ren Y., Dai Z. et al. IL-6, IL-8 and TNF- α levels correlate with disease stage in breast cancer patients. Adv. Clin. Exp. Med. 2017; 26 (3): 421-426).

Авторы анализировали концентрации IL-6, IL-8 и TNF- α иммуносорбентным методом (ELISA) у 110 женщин с диагностированным РМЖ и у 30 здоровых женщин. В группе с РМЖ стадия I была диагностирована у 25 женщин, стадия II - у 50 женщин, стадия III - у 35 женщин. Для оценки различий между группами был использован тест Стьюдента, для оценки связи параметров - критерий корреляции Пирсона. Для статистической обработки результатов авторы использовали пакет прикладных программ GraphPrism 6.0 (GraphPad, USA). Анализировалась взаимосвязь иммунологических параметров со стадией заболевания, наличием метастазов в регионарные лимфатические узлы, а также корреляции уровня цитокинов с экспрессией рецепторов эстрогенов (ER), прогестерона (PR) и HER-2.

В результате исследования выявлено: 1) уровни IL-6 ($p < 0,001$) и IL-8 ($p < 0,001$) в сыворотке у женщин с РМЖ достоверно выше по сравнению со здоровыми женщинами; 2) уровни IL-6 ($p < 0,01$) и IL-8 ($p < 0,01$) в сыворотке у женщин с РМЖ достоверно выше при III стадии заболевания по сравнению с I и II; 3) уровень IL-6 в сыворотке у женщин с РМЖ достоверно выше при отсутствии экспрессии HER-2 ($p < 0,001$) и при ER+ ($p < 0,001$); 4) уровень IL-8 в сыворотке у женщин с РМЖ достоверно выше при наличии экспрессии HER-2 ($p < 0,01$) и при ER+ ($p < 0,001$); 5) уровни IL-6 и IL-8 в сыворотке у женщин с РМЖ не коррелируют с PR статусом; 6) уровень TNF- α в сыворотке у женщин не различаются по сравнению с группой контроля; 7) уровень TNF- α достоверно выше при III стадии заболевания по сравнению с I и II ($p < 0,001$) и при наличии метастазов в регионарные лимфатические узлы ($p < 0,001$); 8) уровни TNF- α и IL-8 сильно коррелируют между собой ($r = 0,86$; $p < 0,001$).

В обсуждении авторы проводят параллели между и их прогностической значимостью. Существенным достоинством этого способа по сравнению с аналогами является возможность использования параметров, которые оцениваются в сыворотке и не требуют гистологического материала.

Недостатками способа, которые отмечают сами авторы, являются: 1) отсутствие четко выделенных концентрационных интервалов, которые бы могли дифференцировать больных с разными стадиями (I, II, III) и с метастазами в регионарные лимфатические узлы; 2) отсутствие данных о динамике цитокинов при наличии отдаленных метастазов.

По нашему мнению, существенным недостатком является использование маленького набора параметров, которые в полной мере не могут отразить известные проопухолевые

и противоопухолевые механизмы. Цитокины, которые изучались в прототипе могут продуцироваться разными клетками, обладающими противоположным влиянием на прогрессирование. Поэтому только оценка цитокин-продуцирующей способности может дать реальную информацию о направленности действия цитокинов. Кроме того, в работе отсутствуют данные многофакторного анализа, которые позволили бы исключить факторы, влияющие однонаправленно (авторы выявили сильную корреляцию концентраций IL-8 и TNF- α).

Технический результат настоящего изобретения состоит в точном прогнозировании длительности безрецидивного периода у больных трижды негативным раком молочной железы за счет использования иммунологических параметров, оцениваемых в крови.

Этот результат достигается тем, что в известном способе прогнозирования, включающем оценку уровней IL-6, IL-8 и TNF- α , согласно изобретению, дополнительно в культуре лимфоцитов определяют уровень спонтанной продукции IL-4 (X2) в пг/мл и абсолютную концентрацию гамма/дельта Т-лимфоцитов в мм³ (X5) в крови, определение IL-6 (X1), TNF- α (X4) и IL-8 (X3) выполняют в культуре лимфоцитов путем оценки спонтанной продукции IL-6 (X1) и IL-8 (X3) в пг/мл и индуцированной продукции TNF- α (X4) в пг/мл, затем по полученным значениям рассчитывают дискриминантные функции:

$$F1=0,0157 \times X1 + 0,1209 \times X2 + 0,0108 \times X3 + 0,0007 \times X4 + 0,0039 \times X5 - 32,6647;$$

$$F2=0,0051 \times X1 + 0,0666 \times X2 - 0,0073 \times X3 + 0,0013 \times X4 + 0,005 \times X5 - 7,9236;$$

$$F3= -0,0024 \times X1 + 0,0613 \times X2 - 0,0212 \times X3 + 0,0026 \times X4 + 0,0747 \times X5 - 6,9969;$$

$$F4=-0,0072 \times X1 + 0,0555 \times X2 - 0,0331 \times X3 + 0,0049 \times X4 + 0,0695 \times X5 - 9,7874,$$

где F1 соответствует продолжительности безрецидивного периода от 0 до 4 месяцев, F2 - от 4 до 10 месяцев, F3 - от 10 до 14 месяцев, F4 - более 14 месяцев, а прогноз продолжительности безрецидивного периода оценивают по наибольшему значению функции.

Занимаясь профессионально в течение ряда лет лечением больных ТНРМЖ, мы изучали различные варианты лекарственного лечения, а также фундаментальные и клинические аспекты взаимодействия опухоли и иммунной системы. С 2017 года у всех больных ТНРМЖ мы изучали иммунный статус с целью оценки прогностической, предсказательной значимости различных параметров, а также выявления различий в динамике иммунологических показателей после прогрессирования заболевания. У больных в крови оценивалось содержание лимфоцитов, их субпопуляций и цитокинов. Анализы проводились в иммунологической лаборатории ФГУЗ ВЦЭРМ им. А.М.Никифорова МЧС России на лазерном проточном цитометре Cytomics FC 500 (BECKMAN COULTER Inc., USA) с использованием моноклональных антител и расходных материалов компаний BECKMAN COULTER Inc., IMMUNOTECH S.A.S., ООО «Протеиновый контур» и ООО «Цитокин». Спектр исследуемых параметров и их референсные интервалы отражены в таблицах 2 (субпопуляции лимфоцитов периферической крови) и 3 (параметры цитокинового профиля).

Уровень лимфоцитов и их субпопуляций оценивался в периферической крови. Анализ цитокинового профиля проводился в два этапа. На первом этапе определялась сывороточная концентрация. На втором проводилось исследование в культуре клеток, где определялся их потенциал путем оценки спонтанной и индуцированной продукции цитокинов. Оценка лимфоцитов, их субпопуляций и цитокинового профиля проводилась в одно и то же время суток, чтобы избежать влияния циркадных колебаний.

Алгоритм разработки метода дифференциальной диагностики включал три этапа. На первом этапе проводился однофакторный анализ, где в качестве переменных были

включены все иммунологические параметры (таблицы 2, 3), выявлялась взаимосвязь отдельных компонентов с длительностью безрецидивного периода. На втором этапе проводился многофакторный анализ, в котором исключались взаимовлияющие компоненты. Результаты однофакторного и многофакторного анализа приведены в таблице 4 (иммунологические параметры, связанные с длительностью безрецидивного периода). На третьем этапе проводился дискриминантный анализ с использованием параметров, выявленных при многофакторном. Для определения границ интервалов, использованных в дискриминантном анализе, использовался квартильный анализ. Медиана времени до прогрессирования составила 10 мес. Это соответствует второму квартилю. Первый и третий квартили соответствовали 4 и 14 месяцам. Соответственно расчет дискриминантных функций проводился с учетом четырех интервалов: до 4 месяцев, 4 - 10 месяцев, 10 - 14 месяцев, более 14 месяцев.

Спонтанная продукция IL-6 (X1), спонтанная продукция IL-4 (X2), индуцированная продукция IL-8 (X3), индуцированная продукция TNF- α (X4), абсолютная концентрация $\gamma\delta$ -Т (гамма/дельта) - лимфоцитов (X5) были использованы в качестве переменных для проведения дискриминантного анализа. По полученным данным были созданы линейные классификационные функции:

$F1=0,0157 \times X1 + 0,1209 \times X2 + 0,0108 \times X3 + 0,0007 \times X4 + 0,0039 \times X5 - 32,6647;$
 $F2=0,0051 \times X1 + 0,0666 \times X2 - 0,0073 \times X3 + 0,0013 \times X4 + 0,005 \times X5 - 7,9236;$
 $F3= -0,0024 \times X1 + 0,0613 \times X2 - 0,0212 \times X3 + 0,0026 \times X4 + 0,0747 \times X5 - 6,9969;$
 $F4=-0,0072 \times X1 + 0,0555 \times X2 - 0,0331 \times X3 + 0,0049 \times X4 + 0,0695 \times X5 - 9,7874,$ где F1 соответствует продолжительности безрецидивного периода от 0 до 4 месяцев, F2 - от 4 до 10 месяцев, F3 - от 10 до 14 месяцев, F4 - более 14 месяцев, а прогноз продолжительности безрецидивного периода оценивают по наибольшему значению функции.

Для разработки метод были использованы данные 41 пациентки с ТНРМЖ, находившихся под наблюдением с 2016 по 2020 годы, для валидации - 29 пациенток, получавших лечение в период 2020 - 2021 годов (таблица 5: длительность безрецидивного периода у пациенток с трижды негативным раком молочной железы в группах разработки и валидации). Лишь у одной пациентки из группы валидации расчетное время не совпало с наблюдаемым. Согласно разработанному методу, рецидив мог возникнуть в период более 14 месяцев. Но прогрессирование констатировано через 12 месяцев. По нашему мнению, это может быть связано с наличием тяжелой сопутствующей патологии - сахарного диабета.

Сущность способа заключается в следующем.

Пациентке с иммуногистохимически подтвержденным ТНРМЖ в крови определяют концентрацию гамма/дельта Т-лимфоцитов в мм³ (X5) и в культуре лимфоцитов - уровни спонтанной продукции IL-4 (X2), IL-6 (X1) и IL-8 (X3), также уровень индуцированной продукции TNF- α (X4) в пг/мл, затем по полученным значениям рассчитывают дискриминантные функции:

$F1=0,0157 \times X1 + 0,1209 \times X2 + 0,0108 \times X3 + 0,0007 \times X4 + 0,0039 \times X5 - 32,6647;$
 $F2=0,0051 \times X1 + 0,0666 \times X2 - 0,0073 \times X3 + 0,0013 \times X4 + 0,005 \times X5 - 7,9236;$
 $F3= -0,0024 \times X1 + 0,0613 \times X2 - 0,0212 \times X3 + 0,0026 \times X4 + 0,1747 \times X5 - 6,9969;$
 $F4=-0,0072 \times X1 + 0,0555 \times X2 - 0,0331 \times X3 + 0,0049 \times X4 + 0,0395 \times X5 - 16,7874.$

Если $F1 > F2$, $F1 > F3$, $F1 > F4$, то длительность предполагаемого безрецидивного периода составляет 4 месяца и меньше. Если $F2 > F1$, $F2 > F3$, $F2 > F4$, то длительность предполагаемого безрецидивного периода составляет от 4 месяцев до 10 включительно. Если $F3 > F1$, $F3 > F2$, $F3 > F4$, то длительность предполагаемого безрецидивного периода

составляет от 10 месяцев до 14 включительно. Если $F4 > F1$, $F4 > F2$, $F4 > F3$, то длительность предполагаемого безрецидивного периода составляет более 14 месяцев.

Далее пациентка получает лечения согласно принятым стандартам. Данные, полученные при использовании предлагаемого метода, могут быть учтены при коррекции тактики наблюдения и лечения по решению лечащего врача или врачебной комиссии.

Сущность способа поясняется примерами.

Пример 1.

Больная П., 1979 г.р.

2.06.2020. Больная на амбулаторном приеме ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

На момент осмотра больная предъявляла жалобы на наличие плотного объемного образования в левой молочной железе. На наличие уплотнения обратила внимание около двух месяцев назад. Обращалась к районному онкологу. По данным ультразвукового обследования выявлено высокоплотное образование около трех сантиметров в диаметре. Была направлена на консультацию в ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

Рекомендовано: 1) биопсия новообразования молочной железы с иммуногистохимической оценкой материала: ER, PR, Her-2; 2) компьютерная томография с контрастным усилением органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза; 3) иммунологическое исследование: концентрация $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов, спонтанная продукция IL-4, IL-6, IL-8, индуцированная продукция TNF- α .

4.06.2020. Выполнена трепанобиопсия левой молочной железы.

8.06.2020. Иммунограмма. IL-4 (спонтанная продукция) - 12 пг/мл, IL-6 (спонтанная продукция) - 6 пг/мл, IL-8 (спонтанная продукция) - 126 пг/мл, TNF- α (индуцированная продукция) - 2800 пг/мл, $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты (гамма/дельта Т-лимфоциты) - 400/мм³.

10.06.2020. Компьютерно-томографическое исследование. Органы грудной клетки, брюшной полости и малого таза - без патологических изменений. В области левой молочной железы определяется очаг размерами 25x40x25 мм. Признаков поражения регионарных лимфатических узлов не выявлено.

10.06.2020. Заключение иммуногистохимического исследования. ER- (рецепторы эстрогенов); PR- (рецепторы прогестерона); HER2- (рецептор эпидермального фактора роста второго типа); Ki-67 - 15% (пролиферативный индекс). Трижды негативный рак молочной железы.

15.06.2020. Больная на амбулаторном приеме ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

Клинический диагноз: трижды негативный рак молочной железы T2N0M0. T2 (размер очага в наибольшем измерении от 20 до 50 мм); N0M0 - нет признаков отдаленных метастазов и поражения регионарных лимфатических узлов.

Расчет дискриминантных функций:

$$F1 = 0,0157 \times 6 + 0,1209 \times 12 + 0,0108 \times 126 + 0,0007 \times 2800 + 0,0039 \times 400 - 32,6647 = -26,24$$

$$F2 = 0,0051 \times 6 + 0,0666 \times 12 - 0,0073 \times 126 + 0,0013 \times 2800 + 0,005 \times 400 - 7,9236 = -2,37$$

$$F3 = -0,0024 \times 6 + 0,0613 \times 12 - 0,0212 \times 126 + 0,0026 \times 2800 + 0,0747 \times 400 - 6,9969 = 28,08$$

$$F4 = -0,0072 \times 6 + 0,0555 \times 12 - 0,0331 \times 126 + 0,0049 \times 2800 + 0,0695 \times 400 - 9,7874 = 28,18.$$

$F4 > F1$, $F4 > F2$, $F4 > F3$, что соответствует длительности предполагаемого безрецидивного периода более 14 месяцев.

После обсуждения плана лечения с больной рекомендовано оперативное

вмешательство в объеме мастэктомии с биопсией сторожевого лимфатического узла, а при невозможности - подмышечной лимфаденэктомией, а также определение BRCA1/2 мутаций.

29.06.2020 больная госпитализирована в Клиническую больницу № 122 им. Л.Г. Соколова ФМБА РФ.

6.07.2020 произведена левосторонняя мастэктомия с биопсией сторожевого лимфатического узла с одновременной реконструкцией. Послеоперационный период протекал без осложнений.

14.07.2020. Гистологическое и иммуногистохимическое заключение.

10 Опухоль удалена в пределах здоровых тканей. Опухоль размерами около 3 см в диаметре. Лимфатические узлы - без признаков опухолевых элементов. Инвазивная протоковая карцинома неспецифицированная (8500/3). Иммуногистохимически: ER-; PR-; HER2-; Ki-67 - 5%.

Диагноз: pT2N0M0 (инвазивная протоковая карцинома неспецифицированная).

15 Тройной негативный фенотип с низким пролиферативным индексом.

15.07.2020. Больная выписана с рекомендациями под наблюдение онколога.

17.07.2020 Выявлена мутация в гене BRCA1.

29.07.2020. Больная на амбулаторном приеме ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

20 Согласно стандартам лечения МЗ РФ, больной рекомендовано:

1) 4 трехнедельных цикла химиотерапии по схеме AC: доксорубицин - 60 мг/м² в 1 день, циклофосфамид - 600 мг/м² в 1 день каждые 21 день;

2) паклитаксел - 80 мг/м² еженедельно - 12 недель;

25 3) контрольное обследование (компьютерная томография с контрастным усилением) - каждые 12 недель.

Рост пациентки - 165 см, вес - 72 кг. Площадь поверхности тела: 1,82 м².

Доза доксорубицина для однократного введения - 110 мг, циклофосфамида - 1100 мг, паклитаксела - 150 мг.

30 С 10.08.2020 по 1.11.2020 проведен курс химиотерапии по схеме AC.

Доксорубицин вводили внутривенно капельно в дозе 110 мг согласно инструкции. Циклофосфамид вводили внутривенно капельно в дозе 1100 мг согласно инструкции. Ведение осуществляли 10.08.2020, 31.08.2020, 21.09.2020, 12.10.2020 в центре амбулаторной онкологической помощи. Лечение перенесла удовлетворительно. На 35 третьем и четвертом цикле отмечалась тошнота и рвота, которые хорошо купировались при использовании антиэметиков (китрил, эмесет).

5.11.2020. Компьютерно-томографическое исследование. Органы грудной клетки, брюшной полости и малого таза - без патологических изменений. Признаков рецидивов и поражений лимфатических узлов не выявлено.

40 С 16.11.2020 по 7.02.2021 проведен курс паклитаксела в центре амбулаторной онкологической помощи.

Паклитаксел (Таксакад) вводили внутривенно капельно в дозе 150 мг согласно инструкции 16.11.2020, 23.11.2020, 30.11.2020, 7.12.2020, 14.12.2020, 21.12.2020, 28.12.2020, 45 4.01.2021, 11.01.2021, 18.01.2021, 25.01.2021, 1.02.2021. Лечение перенесла удовлетворительно.

8.02.2021. Компьютерно-томографическое исследование. Органы грудной клетки, брюшной полости и малого таза - без патологических изменений. Признаков рецидивов и поражений лимфатических узлов не выявлено.

16.02.2021. Больная на амбулаторном приеме ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

Пациентке проведено оперативное лечение с последующей адъювантной химиотерапией. Признаков рецидива на момент осмотра не являлось. Рекомендовано проводить контрольное компьютерно-томографическое обследование каждые три месяца.

18.05.2021, 20.08.2021, 29.11.2021 проведены контрольные компьютерно-томографические исследования. Признаков рецидива выявлено не было.

В настоящее время больная находится под наблюдением ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М.Гранова» МЗ РФ. Время предполагаемого безрецидивного периода, рассчитанное в соответствии с предлагаемым методом составило более 14 мес. С момента определения предполагаемого срока рецидива прошло 18 месяцев.

Пример 2.

Больная М., 1973 г.р.

25.08.2020. Больная на амбулаторном приеме ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

Из анамнеза известно, что три месяца назад на диспансерном осмотре было выявлено уплотнение в правой молочной железе. Обратилась в Псковский областной онкологический диспансер. Произведена биопсия. Установлен диагноз: инвазивная протоковая карцинома. По данным рентгенологического и УЗИ обследования признаков отдаленных метастазов и поражения регионарных лимфатических узлов не выявлено. 9.06.2020 произведена правосторонняя мастэктомия с подмышечной лимфаденэктомией. Опухоль удалена в пределах здоровых тканей. Опухоль размерами 3 x 4 см. Лимфатические узлы - без признаков опухолевых элементов. Инвазивная протоковая карцинома. Для определения дальнейшей тактики лечения пациентка обратилась в ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

Рекомендовано: 1) пересмотр гистологического материала с иммуногистохимической оценкой; 2) компьютерная томография с контрастным усилением органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза; 3) иммунологическое исследование: концентрация $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов, спонтанная продукция IL-4, IL-6, IL-8, индуцированная продукция TNF- α ; 4) определение наличия мутаций в генах BRCA1/2.

27.08.2020. Гистологическое и иммуногистохимическое заключение.

Лимфатические узлы - без признаков опухолевых элементов. Инвазивная протоковая карцинома неспецифицированная (8500/3). Иммуногистохимически: ER-; PR-; HER2-; Ki-67 - 16%.

Диагноз: pT2N0M0 (инвазивная протоковая карцинома неспецифицированная).

Тройной негативный фенотип с низким пролиферативным индексом.

27.08.2020. Компьютерно-томографическое исследование. Органы грудной клетки, брюшной полости и малого таза - без патологических изменений. Признаков рецидивов и поражений лимфатических узлов не выявлено.

28.08.2020. Иммунограмма. IL-4 (спонтанная продукция) - 129 пг/мл, IL-6 (спонтанная продукция) - 43 пг/мл, IL-8 (спонтанная продукция) - 120 пг/мл, TNF- α (индуцированная продукция) - 1100 пг/мл, $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты (гамма/дельта Т-лимфоциты) - 168/мм³.

2.09.2020 Выявлена мутация в гене BRCA1.

7.09.2020. Больная на амбулаторном приеме ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

Клинический диагноз: трижды негативный рак молочной железы T2N0M0.

Расчет дискриминантных функций:

$F1=0,0157 \times 43 + 0,1209 \times 129 + 0,0108 \times 120 + 0,0007 \times 1100 + 0,0039 \times 168 - 32,6647 = -13,67$

$F2=0,0051 \times 43 + 0,0666 \times 129 - 0,0073 \times 120 + 0,0013 \times 1100 + 0,005 \times 168 - 7,9236 = 2,28$

$F3= - 0,0024 \times 43 + 0,0613 \times 129 - 0,0212 \times 120 + 0,0026 \times 1100 + 0,0747 \times 168 - 6,9969 = 12,74$

$F4=-0,0072 \times 43 + 0,0555 \times 129 - 0,0331 \times 120 + 0,0049 \times 1100 + 0,0695 \times 168 - 9,7874 = 10,16.$

$F3 > F1, F3 > F2, F3 > F4$, что соответствует длительности предполагаемого безрецидивного периода от 10 месяцев до 14 включительно.

Согласно стандартам лечения МЗ РФ, больной рекомендовано:

1) 4 трехнедельных цикла химиотерапии по схеме АС: доксорубицин - 60 мг/м² в 1 день, циклофосфамид - 600 мг/м² в 1 день каждые 21 день;

2) паклитаксел - 80 мг/м² еженедельно - 12 недель;

3) контрольное обследование (компьютерная томография с контрастным усилением) - каждые 12 недель.

Рост пациентки - 172 см, вес - 64 кг. Площадь поверхности тела: 1,75 м².

Доза доксорубицина для однократного введения - 100 мг, циклофосфамида - 1000 мг, паклитаксела - 140 мг.

С 21.09.2020 по 13.12.2020 проведен курс химиотерапии по схеме АС.

Доксорубицин вводили внутривенно капельно в дозе 100 мг согласно инструкции. Циклофосфамид вводили внутривенно капельно в дозе 1000 мг согласно инструкции. Ведение осуществляли 21.09.2020, 12.10.2020, 2.11.2020, 23.11.2020 в Псковском областном онкологическом диспансере. Лечение перенесла удовлетворительно.

22.12.2020. Компьютерно-томографическое исследование. Органы грудной клетки, брюшной полости и малого таза - без патологических изменений. Признаков рецидивов и поражений лимфатических узлов не выявлено.

С 18.01.2021 по 11.04.2021 проведен курс паклитаксела в Псковском областном онкологическом диспансере.

Паклитаксел (Таксакад) вводили внутривенно капельно в дозе 140 мг согласно инструкции 18.01.2021, 25.01.2021, 1.02.2021, 8.02.2021, 15.02.2021, 22.02.2021, 1.03.2021, 9.03.2021, 15.03.2021, 22.03.2021, 29.03.2021, 5.04.2021. Лечение перенесла удовлетворительно.

22.04.2021. Компьютерно-томографическое исследование. Органы грудной клетки, брюшной полости и малого таза - без патологических изменений. Признаков рецидивов и поражений лимфатических узлов не выявлено.

26.04.2021. Больная на амбулаторном приеме ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

Пациентке проведено оперативное лечение с последующей адъювантной химиотерапией. Признаков рецидива на момент осмотра не являлось. Рекомендовано проводить контрольное компьютерно-томографическое обследование каждые три месяца.

29.07.2021. Компьютерно-томографическое исследование. Органы брюшной полости и малого таза - без патологических изменений. Признаков рецидивов и поражений лимфатических узлов не выявлено. В левом легком - два очага размерами 22 x 24 x 22 мм и 24 x 24 x 24 мм. Правое легкое - без патологии.

3.08.2021. Больная на амбулаторном приеме ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

По данным проведенного обследования было отмечено прогрессирование в виде появления отдаленных метастазов в левом легком. С момента определения предполагаемого срока рецидива прошло 11 месяцев.

Учитывая, что у больной была выявлена мутация в гене BRCA1, было рекомендовано начать лечение и продолжать до прогрессирования препаратом второй линии из группы PARP ингибиторов - Олапарибом в дозе 600 мг в сутки согласно рекомендациям МЗ РФ с компьютерно-томографическим контролем каждые 8 недель.

5.10.2021. Компьютерно-томографическое исследование. Органы брюшной полости и малого таза - без патологических изменений. Признаков рецидивов и поражений лимфатических узлов не выявлено. В левом легком - два очага размерами 22 x 24 x 22 мм и 24 x 24 x 24 мм. Правое легкое - без патологии. Без динамики по сравнению с предыдущим исследованием.

8.10.2021. Больная на амбулаторном приеме ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

По данным компьютерно-томографического исследования динамики образований в легких не выявлено. Стабилизация. Рекомендовано: 1) Олапариб - 600 мг в сутки перорально; 2) контрольное компьютерно-томографическое исследование - через 8 недель.

7.12.2021. Компьютерно-томографическое исследование. Органы брюшной полости и малого таза - без патологических изменений. Признаков рецидивов и поражений лимфатических узлов не выявлено. В левом легком - два очага размерами 22 x 24 x 22 мм и 24 x 24 x 24 мм. Правое легкое - без патологии. Без динамики по сравнению с предыдущим исследованием.

14.12.2021. Больная на амбулаторном приеме ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

По данным компьютерно-томографического исследования динамики образований в легких не выявлено. Стабилизация. Рекомендовано: 1) Олапариб - 600 мг в сутки перорально; 2) контрольное компьютерно-томографическое исследование - через 8 недель.

Больная находится под наблюдением в течение 16 месяцев. Время предполагаемого безрецидивного периода, рассчитанное в соответствии с предлагаемым методом составило от 10 до 14 мес. Прогрессирование по данным компьютерно-томографического исследования выявлено через 11 месяцев.

Пример 3.

Пациентка З. 1968 г.р.

2.03.2021. Больная на амбулаторном приеме ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

Из анамнеза известно, что четыре месяца назад на диспансерном осмотре было выявлено уплотнение в левой молочной железе. Обратилась в ГБУЗ «Онкологический диспансер № 2» Министерства здравоохранения Краснодарского края (г. Сочи). Произведена биопсия. Установлен диагноз: муцинозная карцинома. По данным рентгенологического и УЗИ обследования признаков отдаленных метастазов и поражения регионарных лимфатических узлов не выявлено. 9.02.2021 произведена левосторонняя мастэктомия с подмышечной лимфаденэктомией. Опухоль удалена в пределах здоровых тканей. Опухоль размерами 2 x 3,5 см. Метастатическое поражение одного из лимфатических узлов. Муцинозная карцинома. Для определения дальнейшей тактики лечения пациентка обратилась в ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

Рекомендовано: 1) пересмотр гистологического материала с иммуногистохимической оценкой; 2) компьютерная томография с контрастным усилением органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза; 3) иммунологическое исследование: концентрация $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов, спонтанная продукция IL-4, IL-6, IL-8, индуцированная продукция TNF- α ; 4) определение наличия мутаций в генах BRCA1/2.

3.03.2021. Компьютерно-томографическое исследование. Органы грудной клетки, брюшной полости и малого таза - без патологических изменений. Признаков рецидивов и поражений лимфатических узлов не выявлено.

4.03.2021. Гистологическое и иммуногистохимическое заключение.

10 Метастатическое поражение одного из удаленных лимфатических узлов. Муцинозная карцинома (8480/3). Иммуногистохимически: ER-; PR-; HER2-; Ki-67 - 5%.

Диагноз: pT2N1M0 (муцинозная карцинома). Тройной негативный фенотип с низким пролиферативным индексом.

15 5.03.2021. Иммунограмма. IL-4 (спонтанная продукция) - 100 пг/мл, IL-6 (спонтанная продукция) - 65 пг/мл, IL-8 (спонтанная продукция) - 112 пг/мл, TNF- α (индуцированная продукция) - 5 пг/мл, $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты (гамма/дельта Т-лимфоциты) - 4/мм³.

5.03.2021. Выявлена мутация в гене BRCA1.

10.03.2021. Больная на амбулаторном приеме ФГБУ «РНЦПХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

20 Клинический диагноз: трижды негативный рак молочной железы pT2N1M0.

Расчет дискриминантных функций:

$$F1=0,0157 \times 65 + 0,1209 \times 100 + 0,0108 \times 112 + 0,0007 \times 5 + 0,0039 \times 168 - 32,6647 = - 18,33$$

$$F2=0,0051 \times 65 + 0,0666 \times 100 - 0,0073 \times 112 + 0,0013 \times 5 + 0,005 \times 168 - 7,9236 = - 1,72$$

25 $F3= - 0,0024 \times 65 + 0,0613 \times 100 - 0,0212 \times 112 + 0,0026 \times 5 + 0,0747 \times 168 - 6,9969 = - 4,49$

$$F4= - 0,0072 \times 65 + 0,0555 \times 100 - 0,0331 \times 112 + 0,0049 \times 5 + 0,0695 \times 168 - 9,7874 = - 8,11.$$

$F2 > F1$, $F2 > F3$, $F2 > F4$, что соответствует длительности предполагаемого безрецидивного периода от 4 месяцев до 10 включительно.

30 Согласно стандартам лечения МЗ РФ, больной рекомендовано:

1) 4 трехнедельных цикла химиотерапии по схеме AC: доксорубицин - 60 мг/м² в 1 день, циклофосфамид - 600 мг/м² в 1 день каждые 21 день;

2) паклитаксел - 80 мг/м² еженедельно - 12 недель;

35 3) контрольное обследование (компьютерная томография с контрастным усилением) - каждые 12 недель.

Рост пациентки - 158 см, вес - 57 кг. Площадь поверхности тела: 1,58 м².

40 Доза доксорубицина для однократного введения - 90 мг, циклофосфамида - 900 мг, паклитаксела - 130 мг.

С 22.03.2021 по 13.06.2021 проведен курс химиотерапии по схеме AC.

Доксорубицин вводили внутривенно капельно в дозе 90 мг согласно инструкции.

Циклофосфамид вводили внутривенно капельно в дозе 900 мг согласно инструкции.

45 Ведение осуществляли 22.03.2021, 12.04.2021, 4.05.2021, 24.05.2021 в центре амбулаторной онкологической помощи. Лечение перенесла удовлетворительно.

9.06.2021. Компьютерно-томографическое исследование. Органы грудной клетки, брюшной полости и малого таза - без патологических изменений. Признаков рецидивов и поражений лимфатических узлов не выявлено.

С 21.06.2021 по 11.04.2021 проведен курс паклитаксела в Псковском областном

онкологическом диспансере.

Паклитаксел (Таксакад) вводили внутривенно капельно в дозе 130 мг согласно инструкции 21.06.2021, 28.06.2021, 5.07.2021, 12.07.2021, 19.07.2021, 26.07.2021, 2.08.2021, 9.08.2021, 16.08.2021, 23.08.2021, 30.08.2021, 6.09.2021. Лечение перенесла

5 удовлетворительно.

14.09.2021. Компьютерно-томографическое исследование. Органы брюшной полости и малого таза - без патологических изменений. Признаков рецидивов и поражений лимфатических узлов не выявлено. В правом легком выявлен очаг размерами 16 x 16 x 18 мм.

10 17.09.2021. Больная на амбулаторном приеме ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

Пациентке проведено оперативное лечение с последующей адъювантной химиотерапией. После второго курса химиотерапии отмечено прогрессирование в виде появления очага в легком. С момента определения предполагаемого срока рецидива

15 прошло 6 месяцев.

Учитывая, что у больной была выявлена мутация в гене BRCA1, было рекомендовано начать лечение и продолжать до прогрессирования препаратом второй линии из группы PARP ингибиторов - Олапарибом в дозе 600 мг в сутки согласно рекомендациям МЗ РФ, с компьютерно-томографическим контролем каждые 8 недель.

20 19.11.2021. Компьютерно-томографическое исследование. Органы брюшной полости и малого таза - без патологических изменений. Признаков рецидивов и поражений лимфатических узлов не выявлено. В правом легком выявлен очаг размерами 16 x 16 x 18 мм. Без динамики по сравнению с предыдущим исследованием.

25 23.11.2021. Больная на амбулаторном приеме ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

По данным компьютерно-томографического исследования динамики образований в легких не выявлено. Стабилизация. Рекомендовано: 1) Олапариб - 600 мг в сутки перорально; 2) контрольное компьютерно-томографическое исследование - через 8 недель.

30 Больная находится под наблюдением в течение 8 месяцев. Время предполагаемого безрецидивного периода, рассчитанное в соответствии с предлагаемым методом составило от 4 до 10 мес. Прогрессирование по данным компьютерно-томографического исследования выявлено через 6 месяцев.

Пример 4.

35 Пациентка Ф. 1981 г.р.

2.06.2021. Больная на амбулаторном приеме ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

Из анамнеза известно, что три месяца назад при маммографии в левой молочной железе выявлено уплотнение. Была направлена в Алтайский краевой онкологический диспансер. Установлен диагноз: протоковая карцинома. По данным

40 иммуногистохимического исследования - тройной негативный фенотип. 26.04.2021 произведена левосторонняя мастэктомия с биопсией сторожевого лимфатического узла. Опухоль удалена в пределах здоровых тканей. Опухоль размерами около 6 см в диаметре. Метастатическое поражение лимфатических узлов отсутствует. Инвазивная

45 протоковая карцинома.
Рекомендовано: 1) пересмотр гистологического материала с иммуногистохимической оценкой; 2) компьютерная томография с контрастным усилением органов грудной клетки, брюшной полости и малого таза; 3) иммунологическое исследование:

концентрация $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов, спонтанная продукция IL-4, IL-6, IL-8, индуцированная продукция TNF- α ; 4) определение наличия мутаций в генах BRCA1/2.

4.06.2021. Компьютерно-томографическое исследование. Органы грудной клетки, брюшной полости и малого таза - без патологических изменений. Признаков рецидивов и поражений лимфатических узлов не выявлено.

7.06.2021. Гистологическое и иммуногистохимическое заключение.

Лимфатические узлы - без опухолевых элементов. Инвазивная протоковая карцинома неспецифицированная (8500/3). Иммуногистохимически: ER-; PR-; HER2-; Ki-67 - 20%.

Диагноз: pT3N0M0 (инвазивная протоковая карцинома неспецифицированная).

Тройной негативный фенотип с умеренным пролиферативным индексом.

7.06.2021. Иммунограмма. IL-4 (спонтанная продукция) - 532 пг/мл, IL-6 (спонтанная продукция) - 45 пг/мл, IL-8 (спонтанная продукция) - 520 пг/мл, TNF- α (индуцированная продукция) - 210 пг/мл, $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты (гамма/дельта Т-лимфоциты) - 5/мм³.

10.06.2021. Выявлена мутация в гене BRCA2.

15.06.2021. Больная на амбулаторном приеме ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

Клинический диагноз: трижды негативный рак молочной железы pT3N0M0.

Расчет дискриминантных функций:

$F1=0,0157 \times 45 + 0,1209 \times 532 + 0,0108 \times 520 + 0,0007 \times 210 + 0,0039 \times 5 - 32,6647 = 38,14$

$F2=0,0051 \times 45 + 0,0666 \times 532 - 0,0073 \times 520 + 0,0013 \times 210 + 0,005 \times 5 - 7,9236 = 24,24$

$F3= - 0,0024 \times 45 + 0,0613 \times 532 - 0,0212 \times 520 + 0,0026 \times 210 + 0,0747 \times 5 - 6,9969 = 14,43$

$F4= - 0,0072 \times 45 + 0,0555 \times 532 - 0,0331 \times 520 + 0,0049 \times 210 + 0,0695 \times 5 - 9,7874 = 3,58.$

$F1 > F2, F1 > F3, F1 > F4$, что соответствует длительности предполагаемого

безрецидивного периода до 4 месяцев.

Согласно стандартам лечения МЗ РФ, больной рекомендовано:

1) 4 трехнедельных цикла химиотерапии по схеме AC: доксорубицин - 60 мг/м² в 1 день, циклофосфамид - 600 мг/м² в 1 день каждые 21 день;

2) паклитаксел - 80 мг/м² еженедельно - 12 недель;

3) контрольное обследование (компьютерная томография с контрастным усилением) - каждые 12 недель.

Рост пациентки - 164 см, вес - 71 кг. Площадь поверхности тела: 1,8 м².

Доза доксорубицина для однократного введения - 110 мг, циклофосфамида - 1100 мг, паклитаксела - 150 мг.

С 21.06.2021 по 13.09.2021 проведен курс химиотерапии по схеме AC.

Доксорубицин вводили внутривенно капельно в дозе 110 мг согласно инструкции.

Циклофосфамид вводили внутривенно капельно в дозе 1100 мг согласно инструкции.

Ведение осуществляли 21.06.2021, 12.07.2021, 2.08.2021, 23.08.2021 в центре амбулаторной онкологической помощи. Лечение перенесла удовлетворительно.

14.09.2021. Компьютерно-томографическое исследование. Органы малого таза - без патологических изменений. В правом легком - очаг размерами 22 x 30 x 30 мм. В левой доле печени - низкоплотный очаг диаметром 8 мм. Прогрессирование.

17.09.2021. Больная на амбулаторном приеме ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

Больной был проведен первый этап адьювантной химиотерапии. По данным компьютерно-томографического исследования отмечено прогрессирование в виде появления метастазов в легких и печени. С момента определения предполагаемого срока рецидива прошло 3 месяца и 1 неделя.

Учитывая, что у больной была выявлена мутация в гене BRCA1, было рекомендовано начать лечение и продолжать до прогрессирования препаратом второй линии из группы PARP ингибиторов - Олапарибом в дозе 600 мг в сутки согласно рекомендациям МЗ РФ, с компьютерно-томографическим контролем каждые 8 недель.

5 22.11.2021. Компьютерно-томографическое исследование. Органы малого таза - без патологических изменений. В правом легком - очаг размерами 22 x 25 x 20 мм. В левой доле печени - низкоплотный очаг диаметром 8 мм. Стабилизация.

25.11.2021. Больная на амбулаторном приеме ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова» МЗ РФ.

10 По данным компьютерно-томографического исследования существенной динамики размеров образований в легких и печени не выявлено. Стабилизация. Рекомендовано: 1) Олапариб - 600 мг в сутки перорально; 2) контрольное компьютерно-томографическое исследование - через 8 недель.

15 Больная находится под наблюдением в течение 6 месяцев. Время предполагаемого безрецидивного периода, рассчитанное в соответствии с предлагаемым методом составило до 4 месяцев. Прогрессирование по данным компьютерно-томографического исследования выявлено через 3 месяца и 1 неделю.

20 К настоящему времени предложенный способ прошел клиническую апробацию у 70 больных ТНРМЖ: данные 41 больной использованы для разработки метода и 29 - для валидации. Лишь у одной пациентки из группы валидации расчетное время не совпало с наблюдаемым. Согласно разработанному методу, рецидив мог возникнуть в период более 14 месяцев. Но прогрессирование констатировано через 12 месяцев.

Способ по сравнению с известными аналогами имеет ряд существенных преимуществ:

1. Позволяет с использованием четкого алгоритма прогнозировать время рецидива.
- 25 2. Основан на использовании современных достижений молекулярной биологии и клеточной иммунологии.
3. Позволяет индивидуализировать лечение с учетом полученных данных о длительности безрецидивного периода.

30 Способ прогнозирования продолжительности безрецидивного периода у больных резектабельным трижды негативным раком молочной железы разработан в группе молекулярно-биологического прогнозирования и индивидуализации лечения ФГБУ «РНЦРХТ им. акад. А.М. Гранова» МЗ РФ и к настоящему времени прошел клиническую апробацию у 70 пациентов с положительным результатом.

35 Способ прогнозирования безрецидивного периода у больных трижды негативным раком молочной железы

Таблица 1.

Цитокин, группа, продуценты	Микроокружение(М); плазма (П)	Предиктивная/прогностическая роль	Прогноз рецидива, безрецидивная выживаемость
40 IL-1. Монокины. Моноциты, МФ, В - лимфоциты, фибробласты, эндотелиоциты	М, П	Повышенный инвазивный потенциал	Нет данных
IL-6. Семейство IL-6. Лимфоциты, МФ, миоциты, фибробласты, опухолевые клетки	М, П	Предиктор низкой эффективности химиотерапии	Не благоприятный прогноз в отношении безрецидивной выживаемости
45 IL-8. Хемокины. моноциты, МФ, лимфоциты, эндотелиоциты, нейтрофилы, фибробласты, опухолевые клетки	М, П	Повышение инвазивности и метастатического потенциала	Не благоприятный прогноз в отношении безрецидивной выживаемости
IL-10. Семейство IL-10. Treg, Th0, Th1, Th2, NK, CD8+, МФ, опухолевые клетки	П	Разнонаправленное влияние. Ингибирует пролиферацию за счет супрессии IL-6. В высоких концентрациях увеличивает инвазивный потенциал	Нет данных

	IL-19. Семейство IL-10. Моноциты, В-лимфоциты	М	Увеличивает риск раннего рецидива	Не благоприятный прогноз в отношении безрецидивной выживаемости
	IL-20 (IL-20RA). Семейство IL-10. Моноциты, кератиноциты	М	Увеличивает инвазивный потенциал	Не благоприятный прогноз в отношении безрецидивной выживаемости
5	TNF-α. Семейство TNF-α. Моноциты, МФ, нейтрофилы, CTL, Th1	П, М	Разнонаправленное влияние. Предиктор поражения лимфатических узлов. Ассоциирован с активацией эффекторных клеток	Нет данных
10	TGF-β. Суперсемейство факторов роста Семейство TGF	М, П	Предиктор раннего рецидива и метастазирования. Неблагоприятный прогноз в отношении метастазов в лимфатических узлы	Благоприятный прогноз на ранних стадиях. Не благоприятный прогноз при метастатическом поражении

Таблица 2.

Фенотип	Субпопуляция лимфоцитов	Референсный интервал. Относительное содержание (%)	Референсный интервал. Абсолютное содержание (x 10 ⁹ /л)
CD3+CD16-	Зрелые Т-лимфоциты	52 - 76	950 - 1800
CD3+CD8+	Цитотоксические лимфоциты	23 - 40	450 - 850
CD3+CD4+	Т-хелперы	31 - 46	570 - 1100
CD4+CD8+	Дубль-позитивные Т-клетки	0,1 - 1,1	5 - 15
CD3-CD16+CD56+	Натуральные киллеры	9 - 19	180 - 420
CD3-CD8+;	Активированные натуральные киллеры	1,5 - 6	18 - 150
CD16+CD56+HLA DR+		0 - 5	0 - 120
CD3+CD16+CD56+	TNK - Клетки	0,1 - 8	5 - 200
CD19+	В-лимфоциты	6 - 18	150 - 450
CD25+	Клетки с рецепторами к интерлейкину - 2	2 - 11	90 - 300
CD95+	Клетки с маркерами апоптоза	2 - 7	50 - 160
CD4+CD25+FoxP3	Т- регуляторные клетки (Treg)	0,3 - 10	0 - 110
CD3+ HLA DR+	Активированные Т-клетки	0 - 5	0 - 120
HLA DR+	Активированные антиген-презентирующие клетки	6 - 22	150 - 550
αβ -Т	Альфа/бета Т - клетки	60 - 80	925 - 1965
γδ - Т	Гамма/дельта Т - клетки	2 - 7	20 - 115

Референсный интервал содержания лимфоцитов периферической крови:

относительное содержание - от 19 до 37 %, абсолютное - от 1200 до 2500 x 10⁹/

Таблица 3.

Цитокин	Референсный интервал		
	Спонтанная продукция	Индуцированная продукция	Концентрация в сыворотке
Интерлейкин-1β (IL-1, пг/мл)	0 - 50	1000 - 5000	0 - 50
Интерлейкин-2 (IL-2, пг /мл)	0 - 5	10 - 100	0
Интерлейкин-4 (IL-4, пг/мл)	0 - 50	100 - 400	0 - 50
Интерлейкин-6 (IL-6, пг/мл)	0 - 50	1000 - 3000	0 - 50
Интерлейкин-8 (IL-8, пг/мл)	0 - 100	1000 - 5000	0 - 50
Интерлейкин-10 (IL-10, пг/мл)	0 - 50	100 - 400	0 - 50
Интерлейкин-12 (IL-12, пг/мл)	0 - 50	100 - 600	0 - 50
Интерферон-α (IFN-α, пг/мл)	0 - 50	100 - 500	0 - 50
Интерферон-γ (IFN-γ, пг/мл)	0 - 50	1000 - 5000	0 - 50

Фактор некроза опухолей- α (TNF- α , пг/мл)	0 - 50	500 - 1500	0 - 50
--	--------	------------	--------

Таблица 4.

	Однофакторный анализ	Многофакторный анализ
5	IL-6 (спонтанная, индуцированная продукция, концентрация в сыворотке)	IL-6 (спонтанная продукция)
	IL-8 (спонтанная, индуцированная продукция, концентрация в сыворотке)	IL-8 (спонтанная продукция)
	IL-4 (спонтанная, индуцированная продукция)	IL-4 (спонтанная продукция)
	TNF- α (спонтанная, индуцированная продукция)	TNF- α (индуцированная продукция)
10	$\gamma\delta$ - Т лимфоциты (гамма/дельта)	$\gamma\delta$ - Т лимфоциты (гамма/дельта)
	IL-12 (спонтанная продукция)	
	CD4+CD25+FoxP3 (Т-регуляторные клетки)	
	HLA DR+ (Дендритные клетки)	

Таблица 5.

15	Прогнозируемый безрецидивный период (t)	Группа разработки (41 пациентка)	Совпадения прогноза с наблюдением	Группа валидации (29 пациенток)	% совпадений
	$t \leq 4$ мес.	6	100%	3	100%
	4 мес. < $t \leq 10$ мес.	13	100%	9	100%
	10 мес. < $t \leq 14$ мес.	18	100%	11	100%
20	$t > 14$ мес.	4	100%	6	97%

(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования продолжительности безрецидивного периода у больных резектабельным трижды негативным раком молочной железы, включающий определение IL-6, TNF- α и IL-8, отличающийся тем, что дополнительно в культуре лимфоцитов определяют уровень спонтанной продукции IL-4 (X2), пг/мл, и абсолютную концентрацию гамма/дельта Т-лимфоцитов, мм³ (X5) в крови, определение IL-6 (X1), TNF- α (X4) и IL-8 (X3) выполняют в культуре лимфоцитов путем оценки спонтанной продукции IL-6 (X1) и IL-8 (X3), пг/мл, и индуцированной продукции TNF- α (X4), пг/мл, затем по полученным значениям рассчитывают дискриминантные функции:

$$F1 = 0,0157 \times X1 + 0,1209 \times X2 + 0,0108 \times X3 + 0,0007 \times X4 + 0,0039 \times X5 - 32,6647;$$

$$F2 = 0,0051 \times X1 + 0,0666 \times X2 - 0,0073 \times X3 + 0,0013 \times X4 + 0,005 \times X5 - 7,9236;$$

$$F3 = -0,0024 \times X1 + 0,0613 \times X2 - 0,0212 \times X3 + 0,0026 \times X4 + 0,0747 \times X5 - 6,9969;$$

$$F4 = -0,0072 \times X1 + 0,0555 \times X2 - 0,0331 \times X3 + 0,0049 \times X4 + 0,0695 \times X5 - 9,7874,$$

где F1 соответствует продолжительности безрецидивного периода от 0 до 4 месяцев, F2 - от 4 до 10 месяцев, F3 - от 10 до 14 месяцев, F4 - более 14 месяцев, а прогноз продолжительности безрецидивного периода оценивают по наибольшему значению функции.