

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ІМЕНІ П.Л. ШУПИКА

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

УДК 616-006, 616-006.66

САМУСЄВА АНАСТАСІЯ АНДРІЇВНА

ДИСЕРТАЦІЯ

ІНДИВІДУАЛІЗАЦІЯ ТАКТИКИ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА ТРИЧІ
НЕГАТИВНИЙ РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Галузь знань – 22 «Охорона здоров'я»

Наукова спеціальність – 222 «Медицина»

Спеціалізація 14.01.07 – «Онкологія»

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата наук (доктора
філософії)

Дисертація містить результати власних досліджень.

Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання
на відповідне джерело

А.А. Самусєва

Науковий керівник:

Пономарьова Ольга Володимирівна

кандидат медичних наук

Київ – 2023

АНОТАЦІЯ

Самусева А.А. Індивідуалізація тактики лікування хворих на тричі негативний рак молочної залози. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук (доктора філософії) галузі знань – 22 «Охорона здоров'я», наукової спеціальності – 222 «Медицина», спеціалізація 14.01.07 – «Онкологія». – Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика, Київ, 2023.

Рак молочної залози (РМЗ) залишається онкологічним захворюванням номер один серед жінок у світі, в тому числі в Україні, що робить це захворювання актуальною ціллю багатьох досліджень. Удосконалення ефективності та прицільності протипухлинного лікування є важливим завданням сучасної онкології загалом та не менш актуальним у лікуванні РМЗ.

Робота ґрунтується на аналізі та узагальненні результатів обстеження та лікування 45 хворих на II-III стадії тричі негативного РМЗ, яким було встановлено діагноз вперше та які отримували лікування у клініці кафедри онкології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика на базі КНП «Київський міський клінічний онкологічний центр».

Метою даного дисертаційного дослідження було покращення результатів лікування хворих на тричі негативний РМЗ (ТНРМЗ), у яких на первинному діагностичному етапі, при імуногістохімічному дослідженні пухлини, додатково визначалася експресія топоізомерази II альфа (ТОР II α), що виступало маркером предикції відповіді пухлини на хіміотерапевтичне лікування, а саме гіперекспресія ТОР II α ($\geq 46\%$) була предиктором кращої відповіді на антрациклін вмістні схеми хіміотерапії.

В залежності від рівня експресії ТОР II α первинною пухлиною до початку лікування, пацієнтів які прийняли участь у дослідженні, було

розподілено на дві групи: з експресією $\leq 45\%$ та $\geq 46\%$. Відповідно у першу групу увійшла 21 пацієнтка з рівнем експресії TOP Па $\leq 45\%$, в другу групу увійшло 17 пацієнток з рівнем експресії TOP Па $\geq 46\%$. Вік пацієнток коливався від 26 до 74 років (середній вік $52,6 \pm 11,8$ р.). При розподілі пацієнток за віком більшість пацієнток обох груп припала на вікову категорію від 51 до 69 років: в групі з експресією TOP Па $\leq 45\%$ - 66.7% пацієнток, а в групі з експресією TOP Па $\geq 46\%$ - 47.1%.

Сформовані групи були співставними за віком, статтю, характером основної патології, рівнем експресії топоізомерази II альфа, загальним станом.

Дане дослідження направлене на покращення результатів лікування хворих на тричі негативний РМЗ шляхом індивідуалізації терапевтичних алгоритмів шляхом вдосконалення та доповнення діагностичних заходів та вдосконалення алгоритмів лікувальних заходів. Враховуючи вищезазначене завдання, у даній роботі були використані уніфіковані діагностичні алгоритми та покази до призначення неoad'ювантного хіміотерапевтичного лікування та його проведення у хворих на тричі негативний рак молочної залози II-III стадій.

Під час ведення пацієнтів до участі у даному дослідженні допускались хворі, які відповідали критеріям включення та невключення.

Всі пацієнтки підлягали проведенню стандартного алгоритму обстеження пацієнткам згідно стандартів: фізикальне обстеження, лабораторні дослідження крові та сечі, ЕКГ, мамографія в 2 проекціях, рентгенографія органів грудної порожнини в 2 проекціях, КТ ОГП, ОМТ, ОЧП з внутрішньовенним контрастуванням, УЗД органів черевної порожнини, молочних залоз та регіонарних лімфатичних вузлів, трепан-біопсія пухлини з морфологічним та імуногістохімічним дослідженням. При наявності показань проводили УЗД органів малого тазу та заочеревинного простору, комп'ютерну томографію з внутрішньовенним контрастуванням органів грудної порожнини, черевної порожнини та малого тазу,

радіоізотопні обстеження. Розміри первинної пухлини та при контрольних дослідженнях динаміка оцінювались за мамограмами виміром максимального діаметру пухлини. У пацієнтів визначали вік на час встановлення діагнозу, розмір, гістологічний тип, ступінь диференціювання клітин, імуногістохімічним дослідженням оцінювались рецептори естрогену, рецептори прогестерону, HER2/неу, проліферативна активність клітин пухлини, на основі чого встановлювався молекулярний підтип РМЗ та рівень експресії TOP П α в клітинах пухлини, а також наявність метастазів в регіонарних лімфатичних вузлах.

Після встановлення діагнозу ТНРМЗ та проведення обстеження згідно стандартів пацієнткам призначалась неoad'ювантна хіміотерапія (НПХТ).

Лікувальний патоморфоз (ЛП) III-IV ступенів був досягнутий у 43.7% пацієток з рівнем TOP П α \leq 45% у порівнянні з 47.4% серед пацієток з рівнем TOP П α \geq 46%.

При аналізі даних було виявлено зв'язок ЛП зі зниженням рівня Ki67: у групі пацієнтів в яких ЛП було досягнуто виявлено зниження Ki67 в середньому на -37,5% (p=0,026), у групі пацієнтів в яких ЛП був не досягнений виявлено зниження в середньому на -10,5%. При аналізі ефективності схем НПХТ, при використанні таксановмісної НПХТ недосягнення ЛП буде нижчим (p=0,015), ВШ = 0,002 (95% ВІ 0,000–0,290) у порівнянні із використанням нетаксановмісної НПХТ.

Органозберігаючі операції було виконано у 10 (58.8%) пацієток з рівнем TOP П α \leq 45% проти 9 (42.9%) пацієток з рівнем TOP П α \geq 46%. А мастектомію було виконано у 7 (41.2%) пацієток з рівнем TOP П α \leq 45% проти 12 (57.1%) з групи пацієток з рівнем TOP П α \geq 46%. Виявлено також зниження (p=0,001) ризику мастектомії для пацієнтів які отримали таксановмісні схеми НПХТ, у порівнянні з пацієнтами з нетаксановмісними схемами НПХТ.

При проведенні аналізу безрецидивної виживаності пацієнтів, що отримали таксановмісні схеми НПХТ та тих що отримали нетаксановмісні

схеми НПХТ була виявлена статистично значуща відмінність кривих ($p=0.031$ за логранговим критерієм). Так безрецидивна виживаність у пацієнтів, що отримали нетаксановмісні схеми НПХТ була нижчою (медіана склала 25.0 місяців, 95% ВІ 11.6 місяців - 59.3 місяців), ніж у пацієнтів, що отримали таксановмісні схеми НПХТ (медіана не досягнута). Аналіз безрецидивної виживаності пацієнтів з рівнем експресії TOP П α до НПХТ $\leq 45\%$ та з рівнем TOP П α $\geq 46\%$ не показав статистично значущої відмінності ($p=0.090$).

При аналізі факторів, що можуть впливати на ризик рецидиву було виявлено зниження ($p=0,040$) ризику виникнення рецидиву при зростанні рівня TOP П α до НПХТ та зниження ($p=0,017$) ризику виникнення рецидиву при зростанні кількості курсів ад'ювантної хіміотерапії.

При порівнянні загальної виживаності пацієнтів, що отримали таксановмісні схеми НПХТ, та тих, що отримали нетаксановмісні схеми НПХТ, була виявлена статистично значуща відмінність кривих виживаності ($p=0.027$ за логранговим критерієм). Так виживаність у пацієнтів, що отримали нетаксановмісні схеми НПХТ, була нижчою (медіана виживання склала 44.3 місяці (95% ВІ 20.6 місяців - 58.4 місяців, п'ятирічна виживаність склала 29% \pm 15%) ніж у пацієнтів, що отримали таксановмісні схеми НПХТ (медіана виживання не досягнута, п'ятирічна виживаність склала 100%). При аналізі загальної виживаності пацієнтів з рівнем експресії TOP П α до НПХТ $\leq 45\%$ та з рівнем TOP П α $\geq 46\%$ не було виявлено статистично значущої відмінності ($p=0.083$).

Вищезазначені дані та розроблені алгоритми допоможуть практикуючим лікарям-онкологам у плануванні коректного алгоритму діагностики та вибору індивідуалізованої тактики лікування у пацієнтів з ТНРМЗ. Матеріали дослідження можуть бути використані у практичній роботі відділень хіміотерапії та онкомамології спеціалізованих лікувально-профілактичних закладів України, у навчальних програмах з онкології та патоморфології у медичних вищих навчальних закладах та

курсах підвищення кваліфікації, тематичного удосконалення закладів післядипломної освіти. Однак даний маркер предикції відповіді на хіміотерапевтичне лікування у хворих на тричі негативний рак молочної залози потребує подальшого довгострокового дослідження.

Результати дослідження впроваджені в практичну роботу на базі кафедри онкології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика у КНП «Київський міський клінічний онкологічний центр», у КНП «Миколаївський обласний центр онкології» Миколаївської обласної ради та у КНП «Клінічний центр онкології, гематології, трансплантології та паліативної допомоги Черкаської обласної ради».

Ключові слова: тричі негативний рак молочної залози, неоад'ювантна хіміотерапія, топоізомераза II альфа, таксани, антрацикліни, лікувальний патоморфоз.

ABSTRACT

Samusieva A.A. Individualization of treatment for patients with triple negative breast cancer. – Qualifying scientific work as a manuscript.

Dissertation for the degree of Candidate of Medical Sciences (Doctor of Philosophy) in the field of knowledge – 22 “Health Care”, scientific specialty – 222 “Medicine”, specialization 14.01.07 – “Oncology”. – Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, 2023.

Breast cancer remains the number one oncological disease among women worldwide, including in Ukraine, making it a relevant focus of many research efforts. Improving the effectiveness and precision of anti-tumor treatment is a crucial task in modern oncology in general and equally important in breast cancer treatment.

The work is based on the analysis and generalization of the results of the examination and treatment of 45 patients with the stage II-III of triple negative breast cancer (TNBC) who were diagnosed for the first time and received treatment at the clinic of the Department of Oncology of Shupyk National Healthcare University of Ukraine at the base of the Kyiv City Clinical Oncology Center.

The aim of this dissertation research was to improve the treatment outcomes of patients with triple-negative breast cancer in whom, at the initial diagnostic stage, immunohistochemical analysis of the tumor included the determination of topoisomerase II alpha (TOP II α) expression as an additional marker to predict tumor response to chemotherapy. Specifically, the overexpression of TOP II α ($\geq 46\%$) served as a predictor for a better response to anthracycline-containing chemotherapy regimens.

Depending on the level of TOP II α expression in the primary tumor before the start of treatment, the patients who participated in the study were divided into two groups: with expression $\leq 45\%$ and $\geq 46\%$. Accordingly, the first group included 21 patients with topoisomerase II alpha expression level $\leq 45\%$, and the second group included 17 patients with TOP II α expression level $\geq 46\%$. The age

of the patients ranged from 26 to 74 years (mean age 52.6 ± 11.8 years). When distributing patients by age, the majority of patients in both groups fell into the age category of 51 to 69 years: in the group with $\leq 45\%$ TOP II α expression there were 66.7% of patients, and in the group with $\geq 46\%$ TOP II α expression - 47.1%.

The formed groups were comparable in terms of age, gender, nature of the main pathology, level of TOP II α expression, and overall condition.

This study aims to improve the treatment outcomes of patients with triple-negative breast cancer by individualizing therapeutic algorithms through the enhancement and supplementation of diagnostic measures, as well as refining treatment protocols. In pursuit of this objective, in this work there were employed standardized diagnostic algorithms and indications for prescribing neoadjuvant chemotherapy and its administration for patients with stage II-III TNBC.

During the recruitment of patients for this study, individuals who met the inclusion and exclusion criteria were considered for participation.

All patients underwent the standardized examination algorithm according to the standards: physical examination, laboratory blood and urine tests, ECG, mammography in 2 projections, X-ray of the chest in 2 projections, CT of the chest, abdomen, and pelvis with intravenous contrast, ultrasound of the abdominal organs, breast, and regional lymph nodes, trepan-biopsy of the tumor with morphological and immunohistochemical examination. If indicated, ultrasound of the pelvic organs and retroperitoneal space, computer tomography with intravenous contrast of the chest, abdomen, and pelvis, and radioisotope studies were conducted. The dimensions of the primary tumor and the dynamics on follow-up examinations were assessed using mammograms by measuring the maximum diameter of the tumor. Patients' age at the time of diagnosis, size, histological type, cell differentiation grade, immunohistochemical evaluation of estrogen receptors, progesterone receptors, HER2/neu, proliferative activity of tumor cells were determined. Based on this information, there was identified the molecular subtype of breast cancer, as well as the level of TOP II α expression in tumor cells and the presence of metastases in regional lymph nodes.

After diagnosing triple-negative breast cancer and conducting examinations according to standards, neoadjuvant chemotherapy (NACT) was prescribed to the patients.

Complete pathological response (CPR) of III-IV grades was achieved in 43.7% of patients with TOP II α expression level \leq 45%, compared to 47.4% among patients with TOP II α expression level \geq 46%.

Upon analysing the data, a correlation between CPR and a decrease in Ki67 levels was identified: in the group of patients who achieved CPR, an average decrease of -37.5% in Ki67 levels was observed ($p=0.026$), whereas, in the group where CPR was not achieved, an average decrease of -10.5% was noted.

When analysing the effectiveness of NACT regimens, the use of taxane-containing NACT was associated with a lower rate of failure to achieve CPR ($p=0.015$), HR = 0.002 (95% CI 0.000–0.290) compared to the use of non-taxane-containing NACT.

Organ preservation surgeries were performed on 10 (58.8%) patients with TOP II α expression level \leq 45%, compared to 9 (42.9%) patients with TOP II α expression level \geq 46%. Mastectomy was performed on 7 (41.2%) patients with TOP II α expression level \leq 45%, compared to 12 (57.1%) in the group of patients with TOP II α expression level \geq 46%. A decrease ($p=0.001$) in the risk of mastectomy was also observed for patients who received taxane-containing NACT regimens compared to those with non-taxane-containing regimens.

During the analysis of recurrence-free survival among patients who received taxane-containing regimens in NACT and those who received non-taxane-containing regimens in NACT, a statistically significant difference in survival curves was observed ($p=0.031$ based on the log-rank test). Recurrence-free survival among patients who received non-taxane-containing regimens in NACT was lower (median of 25.0 months, 95% CI 11.6 months - 59.3 months) than in patients who received taxane-containing regimens in NACT (median not reached). The analysis of recurrence-free survival among patients with the

expression level of TOP II α before NACT $\leq 45\%$ and with TOP II α $\geq 46\%$ did not show a statistically significant difference ($p=0.090$).

When analysing factors that could influence the risk of recurrence, there was found a decrease ($p=0.040$) in the risk of recurrence with an increase in TOP II α expression level before NACT and a decrease ($p=0.017$) in the risk of recurrence with an increase in the number of courses of adjuvant postoperative chemotherapy.

When comparing overall survival between patients who received taxane-containing NACT regimens and those who received non-taxane-containing regimens, a statistically significant difference in survival curves was detected ($p=0.027$ by the log-rank criterion). Survival in patients who received non-taxane-containing NACT regimens was lower (survival median 44.3 months, 95% CI 20.6 months - 58.4 months; five-year survival $29\% \pm 15\%$) than in patients who received taxane-containing NACT regimens (survival median not reached, five-year survival 100%). When analysing the overall survival of patients with TOP II α expression level $\leq 45\%$ and $\geq 46\%$ before NACT, no statistically significant difference was found ($p=0.083$).

The aforementioned data and developed algorithms will assist practicing oncologists in planning accurate diagnostic algorithms and choosing personalized treatment strategies for patients with triple-negative breast cancer. The research findings can be utilized in the practical work of chemotherapy and oncology departments in specialized healthcare institutions in Ukraine, as well as in educational programs for oncology and pathology in medical universities and continuing education courses, thematic improvement of postgraduate education institutions. However, this prediction marker for response to chemotherapy in patients with TNBC requires further long-term research.

The research results have been implemented in practical work at the Department of Oncology of the Shupyk National Healthcare University of Ukraine, at the Kyiv City Clinical Oncology Center, at the Mykolaiv Regional Oncology Center under the Mykolaiv Regional Council, and at the Clinical Center

of Oncology, Hematology, Transplantology, and Palliative Care of the Cherkasy Regional Council.

Key words: triple-negative breast cancer, neoadjuvant chemotherapy, topoisomerase II alpha, taxanes, anthracyclines, therapeutic pathomorphosis.

Список публікацій здобувача:

Статті у наукових фахових виданнях:

1. А.А. Самусєва. Рівень експресії топоізомерази Pa як прогностичний показник у хворих на рак молочної залози (огляд літератури). (2018). Практична онкологія. Том 1, №1: 11-14. DOI: 10.22141/oncology.1.1.2018.155376
2. А.А. Самусєва, О.С. Зотов. (2019). Протипухлинна хіміотерапія: можливі ризики, помилки при проведенні й шляхи їх профілактики. Практична онкологія. Том 2, №1: 26-29. DOI: 10.22141/oncology.2.1.2019.165450
3. А.А. Самусєва, О.В. Пономарьова, В.В. Зайчук. (2020) Вплив вітаміну D на ризики розвитку раку молочної залози. Здоровье женщины. №7(153): 84-87.
4. Т.А. Кравчун, А.А. Самусєва, В.В. Зайчук. Маркування як метод рутинного контролю відповіді пухлини на терапію. Практична онкологія. 2021. Том 4, №1: 45-51. DOI: <https://doi.org/10.22141/2663-3272.4.1.2021.229872>
5. A. Samusieva, S. Serga, S. Klymenko, et al. (2022) Contribution of *BRCA1* 5382insC mutation to triplene-gative and luminal types of breast cancer in Ukraine. Breast Cancer Research and Treatment. 195(3):453-459. DOI: 10.1007/s10549-022-06692-3
6. A.Samusieva, R. Liubota, V. Zaichuk, O. Ponomarova, I. Liubota (2023) Planning and use of oncoplastic surgery for breast cancer. Reproductive health of women. 1(64): 82-87. DOI: <https://doi.org/10.30841/2708-8731.1.2023.276256>
7. А.А. Самусєва. Топоізомераза II альфа та її вплив на ефективність неoad'ювантної хіміотерапії при тричі негативному раку молочної залози. Онкологія. 2023. Том 25, №1: 69-73. DOI: <https://doi.org/10.15407/oncology.2023.01.069>

Патенти на корисну модель:

8. А.А. Самусева, О.В. Пономарьова, О.О. Кошик, В.В.Зайчук. (2020) Патент на корисну модель «Спосіб прогнозування відповіді на антрациклінвмісну хіміотерапію у хворих на рак молочної залози». Патент на корисну модель № 144983 Україна, № u 202003389; заявл. 03.06.2020; опубл. 11.11.2020; Бюл. № 21/2020.

Тези доповідей:

9. А.А. Самусева, Р.В. Любота, О.С. Зотов, О.В. Пономарьова, Р.І. Верещако. Значення експресії топоізомерази 2 α у хворих на рак молочної залози. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «European biomedical young scientist conference NМАРЕ» (до 100-річчя заснування Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України), 19-21 квітня 2018 року, м. Київ. С. 119.
- 10.А.А. Самусева, О.В. Пономарьова. Топоізомераза 2 альфа як предиктивний маркер у хворих на тричі негативний рак молочної залози. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених, присвяченої Дню науки, 16-17 травня 2019 року, м. Київ. С. 63-64.
11. А.А. Самусева, О.В. Пономарьова, В.В. Зайчук. Топоізомераза 2 альфа як прогностичний маркер у хворих на різні молекулярні підтипи раку молочної залози. 3-4 жовтня 2019 року, м. Київ. Матеріали конференції журнал Онкологія т.21, №3(81), 2019. С. 264.
- 12.А. Samusieva, O. Ponomarova, V. Zaichuk. Predicative significance of topoisomerase 2 Alpha in patients with triple-negative breast cancer. Збірник тез матеріалів науково-практичної конференції з міжнародною участю Young science 4.0 (для молодих вчених, 30 травня 2022 року, м. Київ. С. 53-54.

ЗМІСТ

ЗМІСТ	1
СПИСОК СКОРОЧЕНЬ	15
ВСТУП	16
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНА ПРОБЛЕМАТИКА ЕФЕКТИВНОСТІ ХІМІОТЕРАПІЇ У ХВОРИХ НА ТРИЧІ НЕГАТИВНИЙ РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	23
1.1 Молекулярно-біологічний поділ РМЗ та особливості клінічного перебігу	23
1.2. BRCA 1 - асоційований ТНРМЗ.....	29
1.3. Роль хіміотерапії у лікуванні РМЗ.....	31
1.4. Проблематика хіміотерапії у лікуванні ТНРМЗ	35
1.5. Вплив топоізомерази 2 альфа на ефективність лікування хворих на ТН РМЗ.....	38
РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	48
2.1. Підбір пацієнтів та дизайн наукового дослідження	48
2.2. Методи дослідження.....	63
2.3. Методи статистичного аналізу	71
РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ	74
3.1 Загальна характеристика групи хворих	74
3.2.Роль окремих факторів у досягненні лікувального патоморфозу	81
3.3. Вплив окремих факторів на досягнення органозберігаючого хірургічного лікування	90
3.4. Аналіз безрецидивної виживаності.....	95
3.5. Аналіз загальної виживаності.....	100
3.6. Частота мутації <i>BRCA1</i> 5382insC серед пацієнтів з ТНРМЗ	104
РОЗДІЛ IV. УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ	108
ВИСНОВКИ	118
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	120
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	121

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

ER – рецептори естрогену

PR – рецептори прогестерону

HER2 – рецептори епідермального фактору росту, тип 2

Ki67 – проліферативний індекс

ТОР II α – топоізомераза 2 альфа

РМЗ – рак молочної залози

ТНРМЗ – тричі негативний рак молочної залози

УЗД – ультразвукове дослідження

ОГП - органи грудної порожнини

ОЧП – органи черевної порожнини

ІГХ – імуногістохімічне дослідження

НПХТ – неоад'ювантна поліхіміотерапія

АПХТ – ад'ювантна поліхіміотерапія

BRCA1 – людський ген breast cancer 1

BRCA2 - людський ген breast cancer 2

ЛП – лікувальний патоморфоз

РВД – разова вогнищева доза

СВД – сумарна вогнищева доза

pCR – повний лікувальний патоморфоз

RECIST – Response Evaluation Criteria in Solid Tumors

ВСТУП

Актуальність роботи. За даними бюлетеню Національного канцер-реєстру України за 2021р. зареєстровано 14855 нових випадків РМЗ серед жінок, що становить 20,3% від усієї захворюваності на злоякісні новоутворення серед жінок в Україні. На другому та третьому місцях знаходяться рак тіла матки (9,5%) та рак ободової кишки (6,6%) відповідно, за умови виключення зі списку немеланомних злоякісних новоутворень шкіри [1].

За даними International Agency for Research of Cancer за 2020 рік зареєстровано понад 2 млн. випадків раку молочної залози (РМЗ) серед жінок всього світу, що в свою чергу 24,5% від сумарної онкологічної захворюваності серед жінок. РМЗ очолює список захворюваності на злоякісні новоутворення загалом та серед жінок окремо, друге та третє місця у захворюваності на злоякісні новоутворення серед жінок займають колоректальний рак (9,4%) та рак легені (8,4%) відповідно.

У віковій групі до 29 років на перше місце виходить рак щитоподібної залози (14,6%), на другому місці лейкемія (14%), РМЗ посідає третє місце (12,7%). У вікових групах від 30 до 49 років і 50 + років картина розподілу захворюваності на злоякісні новоутворення серед жінок змінюється, але перше місце займає РМЗ. У віковій групі 50+ років загальна кількість нових випадків РМЗ зростає більш ніж в 2,4 рази, на відміну від попередньої вікової групи.

Перші три місця по захворюваності РМЗ традиційно займають Бельгія, Люксембург і Нідерланди відповідно [2].

Удосконалення ефективності та прицільності протипухлинного лікування є важливим завданням сучасної онкології загалом та не менш актуальним у лікуванні РМЗ.

Сучасні стратегії протипухлинного лікування напряму пов'язані з ризиком побічних ефектів для пацієнта при лікуванні та при цьому

паралельним розвитком резистентності клітин пухлини, які вижили, що в свою чергу ускладнює, а в ряді випадків унеможлиблює досягнення повної регресії. Дослідження показують високі показники клінічної регресії, тоді як повної морфологічно підтвердженої регресії досягають 10-25% пацієнтів, що отримали неоад'ювантне лікування [3,4].

Дані численних робіт, що вивчали ці питання, вказують на необхідність більш прицільного підбору лікування, що може бути забезпечене роботою над пошуком нових прогностично важливих маркерів. Тричі негативний РМЗ (ТНРМЗ) є одним з п'яти молекулярних підтипів РМЗ та є найагресивнішим. Через його агресивну природу та відсутність традиційних мішеней для терапії цей підтип викликає особливий інтерес. Існує багато різноманітних досліджень, які порівнюють і рекомендують різні варіанти лікування пацієнтів з цим підтипом, але залишаються проблемними питання досягнення повної регресії пухлини шляхом неоад'ювантної хіміотерапії (неоад'ювантного медикаментозного впливу), покращення показників загальної та безрецидивної виживаності у пацієнтів з ТНРМЗ. За рахунок своєї гетерогенності пацієнти з тричі негативним РМЗ зі схожими початковими клінічними характеристиками пухлинного процесу відповідають на стандартні схеми лікування по-різному. ТНРМЗ поділяють за різними класифікаціями на 5-7 підтипів, що мають різний прогноз відповіді на лікування. Але такі класифікації не досконалі і не впливають на вибір лікування в існуючих стандартах.

Варто зауважити, що необхідність пошуку потенційних мішеней для лікування пацієнтів з тричі негативним РМЗ є одним з головних завдань сучасної онкології. Такі маркери-мішені дозволять прогнозувати перебіг захворювання, відповідь на лікування, що дасть змогу значно підвищити ефективність лікування.

З розвитком молекулярно-генетичних досліджень генетичне тестування при РМЗ ввійшло в рутинну клінічну сферу. Це дає змогу діагностувати у пацієнтів наявність мутацій (генетичних аномалій) у генах.

Не всі вони мають клінічну значущість, але значущими і найчастішими генами у яких діагностують мутації серед пацієток з РМЗ, особливо з тричі негативним підтипом є *BRCA1* та *BRCA2*, однак таких пацієнтів меншість. Тому пошук інших прогностичних та предиктивних маркерів нині є актуальним. Топоізомераза II альфа є потенційним важливим предиктивним маркером як відповіді на лікування, так і перебігу захворювання в цілому. Це фермент, який при експресії клітинами пухлини робить її чутливою до препаратів, що виділяються в групу під назвою інгібітори топоізомерази, основними представниками якої є антрацикліни, які входять в основні стандарти схем хіміотерапії. Однак, ця група препаратів має ряд побічних ефектів (кардіотоксичність, гематотоксичність і тд.), тяжкість перебігу яких вимагає більш прицільного відбору пацієнтів, які отримають кращий ефект від лікування.

Актуальність даного дослідження зумовлюють: вивчення біологічних особливостей будови пухлин, потенційно важливих прогностичних пухлинних маркерів та причин різного результату лікування підтвердженими великою доказовою базою схемами терапії у пацієнтів з клінічно та морфологічно рівноцінними пухлинами, та удосконалення відбору пацієнтів для певних видів терапії, що покращить якість життя та безрецидивну і загальну виживаність. Що дозволить індивідуалізувати тактику лікування пацієнтів з ТНРМЗ.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом науково-дослідної роботи кафедри онкології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика за темою «Оптимізація діагностики та лікування хворих з пухлинами різних локалізацій» (керівник – д.мед.н. професор Мясоєдов С.Д.). № держреєстрації 0117U002467. Термін виконання: 2017-2023рр.

Мета дослідження: покращити результати лікування хворих на тричі негативний РМЗ шляхом індивідуалізації терапевтичних алгоритмів.

Завдання дослідження

1. Вивчити основні гіпотези, що пояснюють агресивний перебіг захворювання у хворих на тричі негативний РМЗ;
2. Дослідити фермент топоізомерази 2 альфа та мутацію гену *BRCA1* при тричі негативному РМЗ;
3. Розробити алгоритм діагностичних та лікувальних заходів у хворих на тричі негативний РМЗ;
4. Дослідити показники загальної, безрецидивної виживаності та медіани виживаності хворих, як критерії ефективності лікування за індивідуалізованим алгоритмом хворих на тричі негативний РМЗ.

Об'єкт дослідження: тричі негативний рак молочної залози.

Предмет дослідження: клініка, діагностика та лікування, безпосередні та віддалені результати лікування хворих на тричі негативний РМЗ.

Методи дослідження: загальноклінічні, інструментальні, патоморфологічні, імуногістохімічні, статистичні.

Наукова новизна

В результаті проведеного аналізу отримано нові наукові дані стосовно прогностичного впливу топоізомерази 2 альфа на перебіг та результати лікування у пацієнтів з тричі негативним раком молочної залози.

Вперше визначено рецепторний статус топоізомерази 2 альфа естроген, прогестерон та HER2/neu негативних пухлинних клітин у пацієток з раком молочної залози, що дозволяє прогнозувати ефективність хіміотерапії у таких пацієнтів.

Вперше за результатами дослідження визначено статистично достовірний поріг експресії топоізомерази 2 альфа, що має клінічне та прогностичне значення.

Вперше за даними стосовно прогностичного впливу топоізомерази 2 альфа розроблено та запропоновано до застосування алгоритм вибору схеми НПХТ у пацієнтів з тричі негативним РМЗ (ТНРМЗ).

Практичне значення

Отримані автором дані є важливим для адекватної оцінки прогнозу перебігу захворювання та відповіді на лікування, з метою вибору оптимальної та більш прицільної тактики лікування пацієнтів з тричі негативним РМЗ.

Розроблені алгоритми допоможуть практикуючим лікарям-онкологам у плануванні коректного алгоритму діагностики та вибору індивідуалізованої тактики лікування у пацієнтів з тричі негативним РМЗ. Матеріали дослідження можуть бути використані у практичній роботі відділень хіміотерапії та онкомамології спеціалізованих лікувально-профілактичних закладів України, у навчальних програмах з онкології та патоморфології у медичних вищих навчальних закладах та курсах підвищення кваліфікації, тематичного удосконалення закладів післядипломної освіти.

Впровадження результатів дослідження в практику

Результати роботи впроваджені в роботу хірургічного, хіміотерапевтичного відділення КНП «Київський міський клінічний онкологічний центр», у КНП «Миколаївський обласний центр онкології» Миколаївської обласної ради та у КНП «Клінічний центр онкології, гематології, трансплантології та паліативної допомоги Черкаської обласної ради».

Особистий внесок здобувача

Під керівництвом наукового керівника дисертантка визначила тему дисертаційної роботи. Автором особисто підібрана та проаналізована література за темою дисертації; виконано патентно-ліцензійний та інформативний пошук на основі чого сформулювала мету та завдання дослідження. Автором запропоновано, розроблено, безпосередньо

реалізовано в практику алгоритм способу індивідуалізації тактики лікування хворих на ТНРМЗ. Самостійно сформовано групи пацієнток, проведене їх клінічне обстеження, комплексне лікування та диспансерне спостереження; проведено співставлення клінічних даних, проаналізовано отримані в ході дослідження дані та визначено ефективність лікування хворих на ТНРМЗ. Автором особисто проведені статистична обробка даних та теоретичне узагальнення результатів клінічних, морфологічних та молекулярно-біологічних досліджень. Самостійно написані всі розділи дисертації та підготовлено до друку наукові праці, теоретично узагальнено отримані результати дослідження і сформовано основні наукові положення, висновки та практичні рекомендації.

Апробація результатів дослідження

Основні наукові положення дисертації були представлені та обговорені на таких конференціях: Науково-практична конференція з міжнародною участю (присвячена 100-річчю заснування НМАПО імені П.Л. Шупика) «European biomedical young scientist conference NMAPE» 19-21 квітня 2018р., м.Київ; Науково-практична конференція «Інноваційні технології скринінгу, діагностики та персоніфікованої терапії раку», 3-4 жовтня 2019 р., м. Київ; Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, присвячена Дню науки «Інтеграція здобутків молодих учених-медиків та фармацевтів в міжнародний науковий простір: сьогодення та перспективи», 16-17 травня 2019 року, м.Київ; Міжнародна наукова конференція студентів, молодих вчених та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини» присвячена 215-річчю заснування медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, 1-2 жовтня 2020 р., м.Харків; Науково-практична конференція з міжнародною участю в онлайн режимі «Young science 4.0» 30 травня 2022р., м.Київ.

Публікації

За темою дисертації опубліковано 4 наукових статті у провідних наукових журналах Scopus та рекомендованих МОН України, 1 патент України на корисну модель, матеріалах та тезах конференцій – 6.

Структура та обсяг дисертації

Дисертація складається з вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, результатів дослідження, узагальнення та обговорення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій та списку використаних джерел (загалом 113: кирилицею 3, латиною 110). Дисертаційна робота викладена на 137 сторінках машинописного тексту, проілюстрована 32 таблицями, 19 рисунками, 11 діаграмами та 5 схемами.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНА ПРОБЛЕМАТИКА ЕФЕКТИВНОСТІ ХІМІОТЕРАПІЇ У ХВОРИХ НА ТРИЧІ НЕГАТИВНИЙ РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Молекулярно-біологічний поділ РМЗ та особливості клінічного перебігу

РМЗ - гетерогенне захворювання, перебіг якого залежить від морфологічної і молекулярної будови клітин пухлини.

В даний час досягнення природних наук, в першу чергу – у сфері молекулярної біології, дозволили визначати різні маркери в пухлинній тканині, частина яких має прогностичне та предиктивне значення. Для РМЗ стандартними маркерами є естрогени, прогестерони, HER2 і Ki67. Залежно від наявності або відсутності експресії даних маркерів РМЗ розділяється на ряд біологічних підтипів:

- **Люмінальний А** - характеризується експресією рецепторів естрогену і прогестерону, відсутністю експресії HER2 і низьким проліферативним індексом Ki67 ($\leq 20\%$).

Для гормонозалежних пухлин з низьким проліферативним індексом Ki67 та високим ступенем диференціації характерними є високий показник десятирічної виживаності пацієнтів та низький ризик рецидиву хвороби. Для цього типу РМЗ переважним є метастазування у кістки скелету, та з меншою частотою зустрічаються вісцеральні метастази та метастази у м'які тканини [5].

- **Люмінальний Б:**
 - Люмінальний Б HER2 негативний – характеризується експресією рецепторів естрогену, менш вираженою експресією прогестерону, відсутністю експресії HER2 і високим проліферативним індексом Ki67 ($> 20\%$);

- Люмінальний Б HER2 позитивний - характеризується експресією рецепторів естрогену, менш вираженою експресією прогестерону, експресією HER2 і високим проліферативним індексом Ki67(>20%).

Цей підтип РМЗ є більш агресивнішими, ніж Люмінальний А; вони характеризуються високим ризиком рецидиву, низьким ступенем диференціації, більшим розміром пухлини та наявністю метастазів у регіонарних лімфовузлах на момент постановки діагнозу [6]. Статистично показники виживаності у пацієнтів з цим підтипом РМЗ гірші, ніж у пацієнтів з Люмінальним А підтипом, але вищі, ніж при інших підтипах РМЗ. Також відмічається більша частота вісцеральних метастазів у таких пацієнтів [5].

- **HER2 гіперекспресуючий (не люмінальний) підтип** - характеризується експресією рецепторів HER2, а також відсутністю експресії рецепторів естрогену і прогестерону.

Цей підтип є одним із агресивних порівняно з іншими підтипами, рівень десятирічної виживаності серед пацієнтів з цим підтипом РМЗ не перевищував 55% [5].

- **Базальноподібний тричі негативний (дуктальний) підтип** - характеризується відсутністю експресії рецепторів естрогену, прогестерону і HER2. Існує близько 80% збігів між тричі негативним і базальним підтипами РМЗ, проте тричі негативний включає в себе ще особливі гістологічні типи – такі, як медулярна карцинома і залозисто-кістозна карцинома з низьким ризиком віддалених метастазів [7].

Тричі негативний РМЗ становить до 12% від усіх випадків РМЗ [8]. Найчастіше виникає у молодих (<50 років) жінок та представлений як інтервальний рак. Характеризується більш агресивним перебігом, пов'язаним з високим ризиком віддаленого рецидиву та смерті у перші 3-5

років захворювання. Загалом 5 річна виживаність у пацієнтів з тричі негативним РМЗ нижча на 8-16%, ніж у пацієнтів з гормонозалежними типами РМЗ. [9-12].

Базальноподібні карциноми були названі так через те, що клітини цього типу пухлини послідовно експресують гени, які зазвичай виявляються в нормальних базальних / міоепітеліальних клітинах молочної залози [13].

В 2011 році В.Д. Lehmann з співдослідниками [14] виділили на основі свого дослідження 6 підтипів тричі негативного РМЗ:

- Базальноподібний підтип 1 (BL1) з подовженим клітинним циклом та генними сигнатурами пошкодження ДНК;
- Базальноподібний підтип 2 (BL2) з високою експресією сигнальних шляхів фактору росту та міоепітеліальних маркерів;
- Мезенхімальний підтип (M);
- Мезенхімальний підтип 2 (MSL) з генними сигнатурами підвищеної активності, пов'язаною з клітинним диференціюванням та сигнальними шляхами факторів росту;
- Імуномодуляторний (IM) «збагачений» імунними клітинами;
- Люмінальний андрогенний підтип (LAR) – характеризується наявністю андрогенових рецепторів.

Це була перша класифікація ТНРМЗ; автори дослідження виконали генетичний аналіз 587 зразків пухлин молочних залоз. Базальноподібні підтипи характеризувались у дослідженні, як підтипи з більш інтенсивною проліферацією, активацією сигнальних шляхів, вищим індексом проліферації Ki67 та ін. Н. Masuda et al. провели дослідження стосовно своєї гіпотези, щодо більшої чутливості пухлин базальноподібних підтипів до хіміотерапії. Аналіз 130 зразків пацієнтів що досягли повного лікувального патоморфозу, показав що 52% пацієнтів з базальноподібними підтипами ТНРМЗ які отримували НПХТ, досягли повного лікувального патоморфозу, що суттєво більше в порівнянні з іншими підтипами ТНРМЗ [15].

Ряд інших досліджень також намагалися класифікувати ТНPMЗ, у 2015 році M. Bustein, et al. у своєму дослідженні описали 4 підтипи ТНPMЗ: люмінальний андрогенний підтип (LAR), мезенхімальний (MES), базальноподібний з імуносупресією (BLIS) та базальноподібний з імунною активацією (BLIA) [16]. Також у 2015 році P. Jézéquel, et al. запропонували свою класифікацію, що складається з 3 підтипів: LAR, що вчені в дослідженні назвали C1, базальноподібний з низькою імунною відповіддю – C2 та C3 підтип - базальноподібний з високою імунною відповіддю [17].

В сучасності в рутинній практиці клініциста ці класифікації не мають широкого застосування через відсутність впливу на тактику лікування ТНPMЗ.

У 2013 році Prat et al. провели мультигенний аналіз, який продемонстрував цікаві дані. Аналіз показав, що лише 68,5% базальноподібних пухлин є тричі негативними. А серед ТН PMЗ, базальноподібний підтип займає 78,6%. HER2 - позитивні пухлини займають 7,8% серед ТН PMЗ, залишок займають люмінальні підтипи PMЗ [18].

В рутинній практиці не проводять мультигенний аналіз, за стандартами оцінка рецепторного статусу пухлини проводиться імуногістохімічним методом, що в свою чергу може доповнюватись, за потреби уточнення статусу HER2, методом флюоресцентної гібридизації *in situ* (FISH) та іншими. Метод флюорисцентної гібридизації *in situ* дозволяє виявляти ампліфікацію гена *HER2* на відміну від імуногістохімічного методу, який оцінює експресію білка HER2. Тому усі пухлини з відсутньою експресією рецепторів естрогену, прогестерону та HER2 вважаються тричі негативними.

Особливу увагу серед всіх підтипів PMЗ звертає тричі негативний. При цьому підтипі відсутні такі традиційні терапевтичні мішені як: естрогени, прогестерони та HER2, тому цей підтип залишається великою клінічною

проблемою. ТНРМЗ характеризується слабкою залежністю між розміром первинної пухлини та виживаністю [19]. Ранню мамографічну діагностику ускладнюють часте виникнення у жінок молодого віку та швидкий ріст пухлини. Дослідження V.A. Kirsh, et al., яке було проведене в рамках програми мамографічного скринінгу, у пацієток з інтервальним РМЗ, який частіше був представлений ТНРМЗ [20]. Також тричі негативні пухлини мають деякі особливості на МРТ, наприклад, збільшення об'єму і велика інтенсивність внутрішньопухлинного сигналу на T2 – зважених зображеннях [21]. Патоморфологічно ТНРМЗ частіше є карциномою неспецифічного типу високого ступеню злоякісності з високим мітотичним індексом, наявними вогнищами некрозу та присутніми лімфоцитарними інфільтратами [22]. Рідше можуть зустрічатися такі гістологічні підтипи, як метапластична, медулярна та апокринна карциноми. Найрідше серед ТНРМЗ зустрічаються дольковий, муцинозний, тубулярний та секреторний підтипи [23].

До етіологічних факторів злоякісних пухлин відносяться ожиріння, накопичення вісцерального жиру та системне запалення низького ступеню. Як ожиріння так і хронічне запалення низького ступеню відіграють ключову роль у патогенезі РМЗ. А ключову роль у розвитку цих двох процесів відіграє ІЛ-6 [24].

Існують переконливі дані, що зв'язують старіння клітини з злоякісним прогресуванням пухлини. З усіх механізмів старіння секреторно-асоційований (senescence-associated secretory phenotype (SASP) привертає найбільшу увагу. Прозапальні цитокіни інтерлейкін – 6 та – 8 (ІЛ-6, ІЛ-8) послідовно присутні в SASP і секретуються високоагресивними клітинними лініями РМЗ [25]. Дослідження Р. Ortiz-Montero et al., 2017 року показало що, ІЛ-6 та ІЛ-8 є важливими для підтримки агресивних ознак у клітинах високої пухлинної лінії.

ІЛ-6 являє собою плейотропний, малий 185 амінокислотний цитокін з множинними функціями при імунній регуляції, запаленні та онкогенезі. ІЛ-

6 продукується різними типами клітин, включаючи імунні клітини, фібробласти та деякі пухлинні клітини. ІЛ-6 зв'язується або з рецептором ІЛ-6, що індукує гомодимеризацію і рекрутинг глікопротеїну 130 на клітинах реципієнтах, або може безпосередньо зв'язуватися з гетеродимерним рецептором глікопротеїну 130 ІЛ-6. В обох випадках активація рецептора індукує Jak/Stat3 сигналізацію. Прямий вплив ІЛ-6 на ріст клітин РМЗ не є цілком зрозумілим, дані досліджень досить суперечливі. Ряд досліджень вказують на здатність ІЛ-6 до інгібування росту клітин РМЗ. Дослідження S. Chatterjee, et al. показало, що ІЛ-6 інгібував ріст клітин ER позитивних пухлин, але клітини ER негативних пухлин були стійкими до ІЛ-6 –опосередкованого інгібування росту [26]. Z. Lv, et al. у своєму дослідженні також отримав дані за здатність ІЛ-6 до інгібування росту пухлинних клітин, але в результатах дослідження відмітили суттєве збільшення інгібування при комбінації ІЛ-6 та ІЛ-1 [27]. H. Bongartz, et al. доповідають у результатах свого дослідження про здатність ІЛ-6 до інгібування проліферації клітин РМЗ [28]. Високий рівень ІЛ-6 корелює з поганим прогнозом у хворих на РМЗ та відіграє важливу роль у рості, метастазуванні клітин РМЗ, а також відновленні стовбурових клітин РМЗ та стійкості цих клітин до терапії [29]. Недавні дослідження демонструють, що прозапальний ІЛ-6 грає важливу роль у прогресуванні та метастазуванні ТНРМЗ [30-32].

Сукупність клінічних, морфологічних і молекулярних даних дозволяє прогнозувати перебіг захворювання і підбирати найбільш відповідні тактики лікування. Однак нерідкими є випадки, коли пацієнти з однаковими клінічно, морфологічно та за молекулярною будовою пухлинами реагують на ідентичні схеми терапії по-різному. Що говорить про недосконалість існуючих маркерів і необхідності пошуку нових, потенційно значущих маркерів для прицільного підбору тактики лікування.

На даний час існують багатокомпонентні моделі прогнозування лікування РМЗ (Oncotype DX, Mamma Print та інші), ці моделі базуються на

аналізі експресії ряду генів. Але в цих моделях є деякі недоліки: їх висока ціна, неможливість рутинного використання, через те що лише певна група пацієнтів отримує користь від результатів цих досліджень. Наприклад, Oncotype DX є інформативним у випадку гормонозалежної пухлини, без включення у процес регіонарних ліфматичних вузлів або віддалених метастазів, та покаже у результатах, які пацієнти отримають максимальну користь від застосування тамоксифену в ад'ювантній терапії і відсутності необхідності АПХТ. А пацієнти у яких більш високе значення за шкалою рецидиву, отримають більшу користь від АПХТ, ніж від тамоксифену.

1.2. BRCA 1 - асоційований ТНPMЗ

З розвитком молекулярно-генетичних досліджень генетичне тестування при PMЗ ввійшло в рутинну клінічну сферу. У 1990 році в лабораторії Марі-Клер-Кінг були отримані перші докази існування гену, що кодує ДНК-репаруючий ензим, що впливає на виникнення PMЗ. За роки після відкриття гену BRCA1 були отримані дані, що пухлини молочної залози пов'язані з цим геном мають відмінні гістологічні характеристики ніж при спорадичному PMЗ або BRCA2 асоційованому. У пацієнтів з мутацією BRCA1 частіше виникає тричі негативний PMЗ, що підтверджується багатьма дослідженнями [33-35]. PMЗ, пов'язаний з мутацією у гені BRCA1, який частіше має високу ступінь злоякісності клітин пухлини, тричі негативний фенотип пухлини, експресує TOP II альфа та має вищу проліферативну активність [36]. Також існують дані, що у пацієнтів з мутацією у гені BRCA1 частіше виникає інвазивна протокова карцинома, на відміну від пацієнтів з мутацією в гені BRCA2, в яких протокові та долькові карциноми зустрічаються однаково часто [37]. У світі проведено багато досліджень стосовно мутацій в генах BRCA1 та BRCA2 серед хворих на PMЗ та рак яєчників, але розповсюдженість мутацій в цих генах у хворих на PMЗ та рак яєчників серед населення України недостатньо досліджена, так як українська популяція не була охарактеризована за представленістю мутацій у всій кодуючій послідовності.

Цікавим, з клінічного і наукового поглядів, є зв'язок ТНPMЗ з мутацією у гені BRCA1. Порушення функції гену BRCA 1 призводить до збою у механізмі репарації двохланцюгового розриву ДНК. В більшості випадків ТНPMЗ має спорадичний характер, але кількість пацієнтів з мутацією у гені BRCA 1 вища серед пацієнтів з ТНPMЗ, ніж у пацієнтів з гормонозалежними типами PMЗ [38]. Переважна більшість пухлин, що мають мутацію BRCA1, особливо серед тих кому встановили діагноз PMЗ до 50-річного віку, мають морфологічні особливості, які подібні до тих, що виникають при спадкових базальноподібних типах PMЗ.

BRCA1 (17q21, хромосома 17: пари основ 43,044,294 до 43,125,482), що кодує 1863 білок амінокислот і складається з 24 екзонів. BRCA1 складається з N-кінцевої області, яка несе цинк-зв'язуючий домен RING, що є важливим для взаємодії BRCA1-BARD1 (білок домену 1 кільця BRCA1) та утворення комплексу убіквітин-лігази E3, а також кінець C з двома BRCT (BRCA1 C- розташовані кінцеві) домени, які є доменами, що зв'язують фосфопептид, що опосередковують взаємодію BRCA1 з ключовими білками-партнерами, такими як CtIP (білок, що взаємодіє з C-кінцевим зв'язуючим білком 1 (CtBP1)), BRCA1 А комплексна субодиниця (ABRAXAS) і BRCA1 взаємодіючий білок C -кінцева геліказа 1 (BRIP1) [39-41]. Також відомим є те, що частота і спектр мутацій гену BRCA1 при ТНPMЗ має етнічні особливості [42]. На рисунку 1.2.1 зображена структура хромосоми 17.

Дослідження К. Clifton, et al. в якому брали участь 319 пацієток з ТН PMЗ, що були розділені на 2 групи в залежності від статусу BRCA. У загальної кількості пацієток не було відмічено достовірної залежності між загальною або безрецидивною виживаністю та НПХТ, або ад'ювантною поліхіміотерапією (АПХТ). Також, не було достовірної різниці щодо загальної або безрецидивної виживаності у підгрупах [43].

1.3. Роль хіміотерапії у лікуванні РМЗ

У сьогоднішній складно переоцінити роль хіміотерапії у лікуванні РМЗ. Це дуже вагома складова у комплексному лікуванні цього захворювання, вона призначається в НПХТ та АПХТ режимах, а також в паліативному режимі. Неoad'ювантна хіміотерапія – це системна терапія, яка проводиться перед радикальним хірургічним лікуванням. НПХТ є рутинною опцією у пацієнток з місцево-поширеним РМЗ, але для первинно-операбельних пацієнток ця опція була прийнята відносно недавно. Адад'ювантна поліхіміотерапія - це системна терапія, яка проводиться після радикального хірургічного лікування.

Протипухлинні препарати здатні знищувати пухлинні клітини (цитотоксичний ефект) та пригнічувати їх проліферативну активність (цитостатичний ефект).

Важливими прогностичними факторами є наявність та число уражених лімфатичних вузлів, розмір первинної пухлини, ступінь злоякісності, вік хворої та менструальний статус, наявність ER/PR рецепторів та HER2 рецепторів. Перевагою НПХТ є передопераційний системний вплив на пухлину, можливість об'єктивної оцінки чутливості даної пухлини до призначеної схеми лікування для урахування цих даних з метою корекції схеми АПХТ.

У 1990 році G. Bonadonna et al. [44] опублікували результати свого дослідження, яке розпочали у 1988 році і яке полягало у використанні НПХТ у первинно-операбельних пацієнток з РМЗ. У дослідженні приймали участь 165 пацієнток з пухлинами три і більше см в діаметрі, що було значущим у неможливості проведення органозберігаючої операції. Після НПХТ органозберігаючі операції були проведені 81% пацієнток.

Багато досліджень було присвячено вивченню впливу НПХТ на безрецидивну та загальну виживаність, а також їх порівняння з цими показниками при АПХТ [45-47]. Дані цих досліджень не показали

достовірної різниці між безрецидивною та загальною виживаністю при НПХТ та при АПХТ. Мета-аналіз, який провели у 2001 році J.A. van der Hage зі співавторами [45], в якому проаналізовано лікування 698 пацієнтів та великий мета-аналіз D.Mauri et al. у 2005 році [48], в якому було проаналізовано результати 9 досліджень з 3946 пацієнтами сумарно, також не показали достовірної різниці між безрецидивною та загальною виживаністю при НПХТ та при АПХТ у первинно операбельних пацієнток. Однак деякі дослідження, які були включені до цього мета-аналізу використовували препарати та схеми, що не використовуються у сучасності.

Враховуючи вищезазначені дані, така опція лікування як НПХТ в більшості випадків потрібна: для зменшення розмірів пухлини з метою проведення органозберігаючої операції; для можливості оцінки клінічно та морфологічно відповідь пухлини на певну схему хіміотерапії, що дозволяють відкоригувати схему АПХТ. До недоліків даного методу відносять втрату ряду прогностичних факторів, таких як істинний розмір первинної пухлини та кількість уражених регіонарних лімфатичних вузлів.

При місцево-поширеному РМЗ основними завданнями НПХТ є досягнення операбельності пухлини, у ряді випадків проведення органозберігаючих операцій та оцінка відповіді пухлини на певну схему хіміотерапії. Враховуючи токсичний ефект даного виду лікування, при плануванні терапії пацієнтам необхідно прогнозувати шанси відповіді пухлини на НПХТ та можливості проведення даної терапії (загальний стан пацієнта, супутня патологія, що обумовлює можливі ускладнення), а також згода пацієнта на це лікування. Суттєве значення в ряді випадків має доступність препаратів на місці лікування пацієнта.

Ефективність хіміотерапії оцінюється на основі суб'єктивних, об'єктивних та патогістологічних ефектів. До суб'єктивного ефекту відносять дані фізикальних оглядів, що не є цілком повною інформацією для достовірної оцінки ефективності НПХТ, пацієнти проходять такі огляди перед кожним курсом НПХТ. Об'єктивно ефект оцінюється за допомогою

інструментальних методів дослідження, при яких в динаміці оцінюється розмір пухлини та метастатичних лімфатичних вузлів. Але патогістологічний метод залишається найбільш достовірним в оцінці ефективності НПХТ, у порівнянні з фізикальним оглядом, УЗД, маммографією, або МРТ. Патогістологічне дослідження визначає ступінь лікувального патоморфозу (ЛП). Повний лікувальний патоморфоз (pCR) є основною метою неoad'ювантного лікування РМЗ. За визначення Food and Drug Administration, pCR – це відсутність після НПХТ залишкової інвазивної пухлини у молочній залозі та лімфатичних вузлах [49]. Існує досить багато патогістологічних шкал для оцінки ЛП [50,51], однак європейські країни надають перевагу шкалі Miller-Payne (2003р.), яка виділяє 5 ступенів ЛП [52]. В США більшої популярності отримала шкала Residual Disease in Breast and Nodes (RDBN) при оцінці по якій враховується залишкова пухлина первинного вогнища та регіонарних лімфовузлів, а також ступінь злоякісності залишкової пухлини. ЛП за цією шкалою вираховується за формулою: $RDBN = 0.2 \times \text{розмір залишкової пухлини (см)} + \text{ступінь ураження регіонарних лімфовузлів (N) (1-3)} + \text{ступінь диференціювання пухлини (G) (1-3)}$ [53]. Ще однією популярною шкалою оцінки ЛП є Residual Cancer Burden (RCB) [54], підрахунок ЛП в цій шкалі відбувається з урахуванням залишкової кількості клітин пухлини (%) та регіонарних лімфовузлів (кількість та розмір найбільшого у мм). Подальша калькуляція відбувається з використанням спеціального Residual Cancer Burden Calculator - онлайн-калькулятор (<http://www3.mdanderson.org/app/medcalc/index.cfm?pagename=jsconvert3>) і після цього пухлина відноситься в один з 4 класів ЛП, дані описано у таблиці 1.3.1.

Табл. 1.3.1. Система гістологічної оцінки лікувального патоморфозу Residual Cancer Burden

Ступінь ЛП	Розрахунковий показник	Наявні зміни
RCB - 0	0	Інвазивний компонент пухлини відсутній
RCB - I	$\leq 1,36$	Малий об'єм залишкової пухлини
RCB - II	1,37-3,28	Помірний об'єм залишкової пухлини
RCB - III	$> 3,28$	Значний об'єм залишкової пухлини

Цікавим було дослідження M. Choi, et al., проведене у 2016 році. В ньому порівнювалися 7 різних шкал оцінки ЛП. В цьому дослідженні тільки шкала RCB показала статистично значущу кореляцію з загальною та безрецидивною виживаностями. Прогностичне значення стосовно загальної та безрецидивної виживаностей показали усі 7 шкал у випадках ТНРМЗ [55].

Залишається складним питанням вибір схеми хіміотерапії у пацієнток похилого віку з низькими показниками або відсутністю ER/PR рецепторів, та/або гіперекспресією HER2. Після хірургічного лікування у цих пацієнток залишаються питання стосовно оптимальних схем та тривалості АПХТ. АПХТ у пацієнтів після НПХТ та операції проводиться згідно існуючих стандартів, однак рекомендації стосовно схем лікування у NCCN та ESMO для пацієнток з раннім РМЗ в неoad'ювантному та ад'ювантному режимах є однаковими.

Основним показником ефективності лікування РМЗ, як і інших злоякісних новоутворень, є виживаність пацієнтів. Аналіз цього показника має першочергове значення в оцінці ефективності лікування та ролі прогностичних факторів. Одним з параметрів виживаності є безрецидивна

виживаність – проміжок часу між вперше встановленим злоякісним процесом до настання вперше задокументованого рецидиву цього захворювання або смерті (у випадку смерті до реєстрації у пацієнта ознак поширення злоякісного процесу).

1.4. Проблематика хіміотерапії у лікуванні ТНРМЗ

При ТНРМЗ відсутні традиційні мішені для гормонотерапії та таргетної терапії, тому медикаментозною опцією лікування є хіміотерапія. У більшості випадків схемами хіміотерапії у лікуванні ТНРМЗ є антрациклінівмісні та таксановмісні [56-58]. Згідно рекомендацій лікування місцево-поширеного ТНРМЗ повинно починатись з НПХТ. Дискутабельним залишається питання щодо використання НПХТ у пацієнтів з раннім ТНРМЗ, з одного боку ранній РМЗ - це операбельна форма; також існує ризик прогресування під час НПХТ. З іншого боку застосування НПХТ на першому етапі лікування у таких пацієнтів дає змогу оцінити чутливість пухлини до лікування *in vivo*, також збільшує вірогідність органозберігаючої операції у подальшому. Враховуючи, що прогностично дуже важливим є досягнення рСR в світі постійно вивчаються фактори, що потенційно можуть мати вплив на ефективність системного лікування. Для ТНРМЗ таких досліджень обмежена кількість, але сам по собі тричі негативний тип РМЗ вже є прогностичним фактором досягнення рСR, так як пацієнти з ТНРМЗ досягають рСR частіше у порівнянні з іншими підтипами РМЗ [59-61]. Також факторами, що впливають на досягнення рСR вважаються високий індекс проліферації Кі67, високий ступінь злоякісності, часто ці показники і характеризують ТНРМЗ. Вік пацієнтів на момент встановлення діагнозу також має вплив, існує ряд досліджень які вивчали цю гіпотезу. В дослідженні Н. Chou, et al. пацієнти старше 50 років досягали рСR в меншій кількості випадків у порівнянні з більш молодими пацієнтами [62]. Були проведені ряд мета-аналізів направлених на оцінку результатів НПХТ та АПХТ. У 2012 році ретроспективний аналіз С.С. Fisher,

et al., що включав 385 пацієнтів з РМЗ, показав перевагу НПХТ у загальній виживаності, але тільки у пацієнтів, що досягнули pCR [63]. Також в 2012 році був проведений мета-аналіз 23 рандомізованих досліджень, в якому було проаналізовано результати лікування 100 тис. пацієнток. Дослідження показало ряд важливих результатів, що дозволило модифікувати підходи до хіміотерапії. Дослідження показало, що проведення хіміотерапії (режими АС та CMF), краще ніж не проведення цитотоксичного лікування взагалі. При порівнянні ефективності хіміотерапевтичних алгоритмів, стандартний алгоритм АС та CMF показали еквівалентні результати. Та вперше на той час дослідження показало перевагу використання таксанів у хіміотерапії РМЗ. Додавання таксанів одночасно або послідовно до антрациклінових препаратів показало перевагу над хіміотерапією тільки антрациклінами [64]. Велике дослідження N.A. Vagegni, et al., що завершено у 2019 році, включало 1951 пацієнтку з ТНРМЗ та показало достовірно кращі показники загальної виживаності у пацієнток, які досягли pCR після НПХТ [65]. Однак, ряд досліджень вказуються на часті випадки резистентності пухлини до терапії.

Велика кількість досліджень було проведено з метою оцінки ефективності використання препаратів платини для досягнення pCR та покращення загальної виживаності пацієнтів з ТНРМЗ. Використання препаратів платини у хіміотерапевтичних алгоритмах не є рекомендованою опцією для усіх пацієнтів. Але ряд досліджень показують, що такі режими хіміотерапії можуть покращити ефективність лікування пацієнтів з ТНРМЗ. Мета-аналіз, проведений F. Petrelli et al. у 2014 році, що включав 28 досліджень (1598 пацієнтів) та показав, що додавання препаратів платини збільшило відсоток досягнення pCR у пацієнтів з ТНРМЗ з 32% до 48% ($p < 0,0001$) [66]. Більш пізній мета-аналіз, проведений F. Roggio et al., у 2018 році, який включав дані з 9 досліджень (2109 пацієнтів), дав змогу зробити більш аргументовані висновки. В одному з проаналізованих досліджень схема НПХТ включала цисплатин, в інших – карбоплатин. В усіх

дослідженнях, включених до мета-аналізу, ефективність платиновмісних схем порівнювали зі стандартними. Результати показали, що додавання препаратів платини збільшило відсоток досягнення pCR у пацієнтів з ТН РМЗ з 37% до 52,1% ($p < 0,019$) [67]. Р. Sharma et al. досліджували ефективність комбінації доцетакселу з карбоплатином; пацієнти отримували 6 курсів за схемою НПХТ карбоплатин (AUC 6) + доцетаксел ($75\text{мг}/\text{м}^2$) кожен 21 день. Додатково всі пацієнти отримували препарати що сприяють росту міелоїдних клітин, згідно з стандартами організацій, що проводили дослідження. В дослідженні приймали участь 190 пацієток з ТН РМЗ. Результати дослідження показали досягнення pCR у 55% пацієнтів. Показовою у цьому дослідженні була різниця у 3-х річній виживаності у пацієток, що досягли pCR та у тих що не досягли – 90% проти 66% відповідно [68]. У 2019 році Pandy et al. провели мета-аналіз в який було включено дані 11 досліджень (2946 пацієнтів). Дані дослідження також показали перевагу додавання препаратів платини до схем хіміотерапії у пацієнтів з ТНРМЗ за рахунок збільшення відсотку pCR з 27% до 40% ($p < 0,0001$) [69].

Більша частина публікацій на тему використання препаратів платини у лікуванні пацієнтів з ТНРМЗ пов'язує їх ефективність з наявністю у таких пацієнтів мутацій *BRCA1/2*, що в свою чергу, пояснюється ефектом дії препаратів платини, що порушують синтез ДНК шляхом утворення міжланцюгових зшивань. Деякі дослідження вивчали можливі маркери визначення чутливості до цисплатину у пацієнтів з ТНРМЗ. У дослідженні S. Isakoff et al. додатково вивчались білки p63 та p73, як предиктивні маркери оцінки відповіді на цисплатин. В дослідженні приймало участь 86 пацієнтів з метастатичним ТНРМЗ, 43 пацієнти отримували цисплатин та 43 пацієнти – карбоплатин. Дослідження показало більшу ефективність препаратів платини у пацієнтів з метастатичним ТНРМЗ з наявною мутацією генів *BRCA 1/2* [70].

Постійний пошук перспективних стратегій лікування ТНРМЗ стимулює появу нових досліджень. На сьогодні існують роботи, що вивчають ефективність імунотерапії у пацієнтів з ТНРМЗ, а саме імуномодуляторним підтипом ТНРМЗ, який показує у дослідженнях чутливість до цього виду лікування. Особливу увагу приділяють інгібіторам PD-L₁, у дослідженні P. Schmid et al. вивчали ефективність комбінації пембролізумабу та 4 курсів АС + 12 щотижневих введень паклітакселу з карбоплатином. Результати дослідження показали, що незалежно від статусу експресії рецепторів PD-L₁, пацієнти що отримували комбінацію хіміотерапії з імунотерапією досягали pCR у 64,8% випадків, а пацієнти що, не отримували імунотерапію, досягали pCR у 51,2% випадків (p<0,001) [71].

Цікавим є дослідження F. Guestini et al. у 2019 році [72], в якому приймали участь 148 жінок хворих на ТНРМЗ з Японії. Дослідники вивчали ряд молекул, які беруть участь у ключових шляхах резистентності пухлин до хіміотерапії та ініціації прогресування до та після НПХТ. Дослідження показало цікаві результати, індекс мічення топоізомерази 2 альфа (TOP II α) та Кі67 показали суттєвий зв'язок з відповіддю на НПХТ.

Сучасні тенденції хіміотерапії спрямовані на знищення максимальної кількості пухлинних клітин. Однак, наслідками цього є підвищення ризиків побічних ефектів протипухлинного лікування, вироблення вторинної резистентності пухлинних клітин, результатом чого є неможливість досягнення повної відповіді пухлини. У лікуванні пацієнтів з ТНРМЗ це питання особливо критичне, тому виявлення нових прогностичних маркерів є актуальним та важливим завданням в сучасній онкології.

1.5. Вплив топоізомерази 2 альфа на ефективність лікування хворих на ТНРМЗ.

З розвитком і поглибленням знань про механізми канцерогенезу пріоритет став надаватися індивідуалізованим тактикам лікування,

відповідно пошуку нових терапевтичних мішеней і препаратів вплив яких направлений на конкретну ціль в пухлинній клітині з мінімальним пошкодженням непухлинних клітин. Ферменти, які обумовлюють відмінні властивості пухлинних клітин, такі як прискорена проліферація, морфологічна трансформація, стійкість до несприятливих факторів та ін., є потенційними мішенями для протипухлинної терапії [73].

Людський геном складається з 23 пар хромосом, великі молекулярні структури, що містять гени. 17 хромосома в геномі людини є найбільш густо-щільною. Вона нараховує більше 81млн. пар основ, що становить близько 3% всього ДНК-матеріалу клітини. За різними даними в 17 хромосомі міститься до 1500 генів. На q-плечі 17 хромосоми розміщені багато генів, аберації яких описані при РМЗ. Ампліфікації зачіпають у першу чергу два локуси – 17q12 та 17q21. В цих локусах розташовані гени HER2/neu та топоізомераза 2 альфа відповідно [74-76]. Ампліфікація генів – один з механізмів активації онкогенів у процесі розвитку пухлини. Необхідно відмітити, що ген BRCA 1 також як і HER2/neu розташовується у локусі 17q12, на відміну від гену BRCA 2, який знаходиться на короткому плечі 13 хромосоми. У 17 хромосомі відмічається складний характер ампліфікації, відмічається навіть ампліфікація центромерного регіону. Через близьке розташування HER2/neu та TOP II α у 35-50% РМЗ відмічається їх ко-ампліфікація [77,78].

Топоізомерази - ферменти, які каталізують топологічні зміни кільцевої молекули ДНК шляхом контролю рівня суперспіралізації (явище пере- або недоскручування топологічно замкнутих ланцюгів ДНК, в результаті якого вісь подвійної спіралі сама закручується в спіраль вищого порядку), який може змінюватися в процесі її реплікації, транскрипції, гомологічної рекомбінації, а також під час перебудов хроматину. Топоізомерази релаксують суперспіралізовані молекули ДНК, знімаючи їх внутрішнє напруження шляхом утворення тимчасових одно- або дволанцюгових розривів з подальшим лігуванням («зшиванням») [79]. Вперше

топоізомераза була описана James C. Wang в 1971 році в його дослідженні направленому на вивчення ДНК *Escherichia coli*. Тоді J.C.Wang назвав своє відкриття протеїном ω (омега) [80]. У процесі вивчення цих ферментів протеїн ω назвали топоізомеразою I типу (TOP I). У 1976 році Martin Gellert описав топоізомеразу II типу (TOP II) [81].

Згідно з механізмом дії TOP I типу утворюють розрив тільки одного ланцюга у двоспіральній ДНК, що не вимагає енергетичних витрат. TOP II типу утворюють розрив обох ланцюгів двоспіральної ДНК і проводять крізь розрив інший дволанцюговий сегмент, що вимагає енергетичних витрат аденозинтрифосфату. TOP I зменшує суперспіралізацію ДНК, в той час як TOP II її збільшує. У свою чергу топоізомерази обох типів поділяються на 4 підтипи: I α , I β , II α та II β .

Одноланцюгові розриви здійснюються за рахунок залишку амінокислоти тирозину, який виконує нуклеофільне захоплення фосфатної групи і утворює фосфотирозин. Фермент при цьому зв'язується зі звільненим кінцем 3' або 5'-фосфату. Залежно від цього TOP I і розділяється на:

- TOP I α - зв'язуються з 5'-фосфатом;
- TOP I β - зв'язуються з 3'-фосфатом.

TOP II є димерами або тетрамерами, які в процесі релаксації / суперспіралізації розщеплюють одночасно два ланцюги ДНК. Для здійснення поступових дволанцюгових розривів відбувається зв'язування тирозинів топоізомерази з ДНК з утворенням 5'-фосфатних зв'язків. Схема розщеплення двої ланцюгів ДНК Топоізомеразою II типу та зв'язування тирозинів топоізомерази з ДНК з утворенням 5'-фосфатних зв'язків зображена на рис. 1.5.1.

- TOP II α - необхідні для росту клітин. Їх активність зростає в проліферуючих клітинах і максимальна в S-фазі клітинного циклу;
- TOP II β експресуються в клітинах, які знаходяться в стані спокою, на протязі всього клітинного циклу.

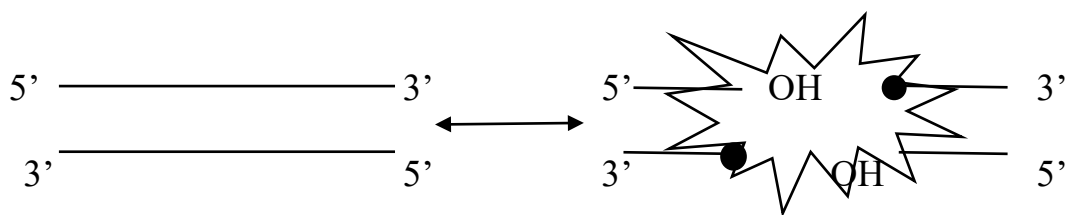


Рис. 1.5.1. Схема розщеплення двох ланцюгів ДНК Топоізомеразою II типу, зв'язування тирозинів топоізомерази з ДНК з утворенням 5'-фосфатних зв'язків.

Для забезпечення більш швидкого ділення, ракові клітини потребують більш високого рівня топоізомерази, що як правило відображається у високій експресії топоізомерази в клітинах пухлини [82].

Для визначення експресії топоізомерази в пухлинних клітинах використовуються імуногістохімічний метод та метод флюоресцентної гібридизації *in situ* (FISH). Імуногістохімічний метод вперше був описаний у 1941р. у статті Coons et al. [83]. З тих часів імуногістохімічний метод став цінним інструментом діагностики неопластичних процесів. Це метод визначення протеїнів (антигенів) у клітинах біологічних тканин на основі реакції антиген-антитіло. FISH використовується для визначення і локалізації певної послідовності ДНК на хромосомі.

Як згадувалось вище, топоізомерази є мішенями для протипухлинної терапії. Група речовин, які блокують дію топоізомераз називаються інгібіторами топоізомерази. Історія відкриття цих речовин пов'язана з вивченням алкалоїду камптотечину добутого з кори *Camptotheca acuminata*, який є специфічним інгібітором топоізомерази I. Вперше був виявлений, виділений і описаний M. Wall і M. Wani в 1966 році, які виявили що екстракт має протипухлинну активність в тест-системах *in vitro*, а також у мишей з лейкозом [84].

Інгібітори топоізомерази діляться на два типи: специфічні інгібітори - топоізомерази «отрути» і неспецифічні інгібітори – топоізомеразні супресори. Представниками першої групи є камптотечин для TOP I і

етопозид для ТОР II [72]. До представників другої групи відносяться антрациклінові антибіотики, новобіоцин, мербарон та інші [85]. Було виконано багато досліджень, спрямованих на вивчення ефектів від спільного застосування інгібіторів топоізомерази I та II; за результатами більшості з них вчені відмічали зниження протипухлинної дії цих препаратів в порівнянні з окремим використанням препаратів цих груп [86-89].

Цікавою є хронологія розвитку вивчення та відкриття різних інгібіторів топоізомерази. На рисунку 1.5.2 відображена схема хронології відкриття інгібіторів топоізомерази. У таблиці 1.5.1 перераховані основні інгібітори топоізомерази, що були схвалені FDA та показання до них [90].

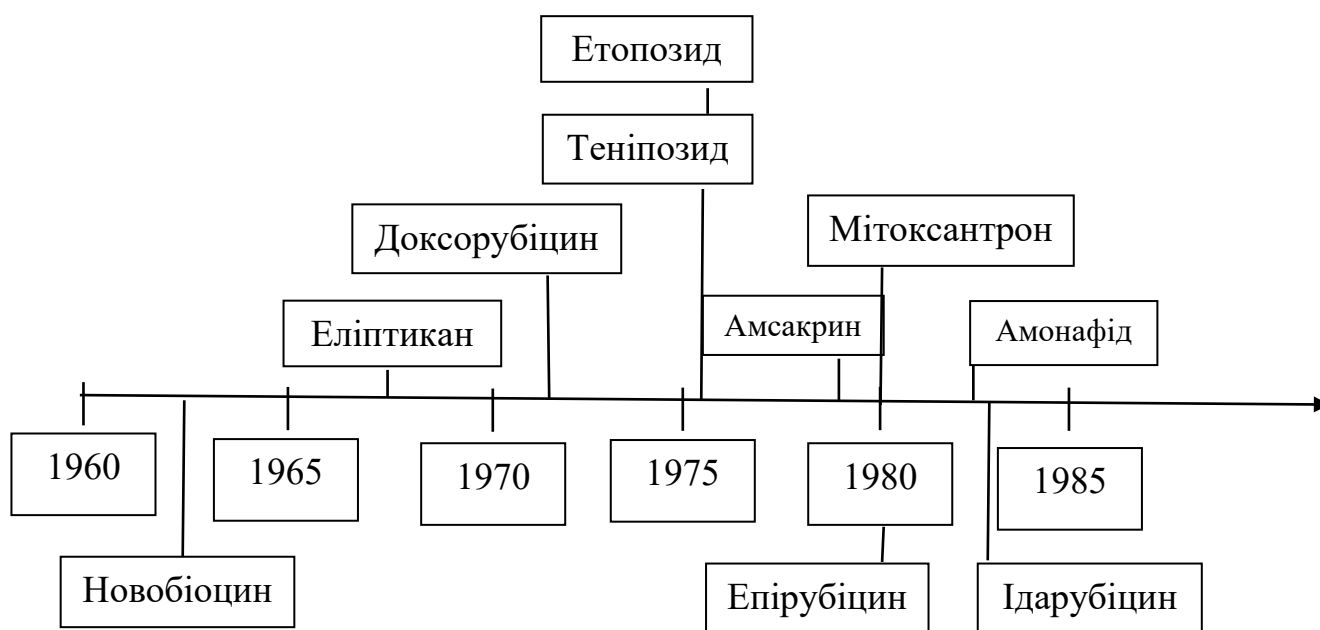


Рис. 1.5.2. Схема хронології відкриття інгібіторів топоізомерази.

Таблиця 1.5.1. Інгібітори топоізомерази та основні показання до них.

Назва препарату	Показання
Доксорубіцин	РМЗ, рак яєчника, лейкоз, лімфома, саркома

Теніпозид	Гострий лімфолейкоз у дітей
Етопозид	Рак легені, лейкоз, неходжкінська лімфома, саркома Капоші, рак передміхурової залози, саркома м'яких тканин, нейробластома
Епірубіцин	РМЗ, рак шлунку, рак шийки матки, рак яєчника
Мітоксантрон	РМЗ, лейкоз, лімфома, рак передміхурової залози
Ідарубіцин	Гострий мієлоїдний лейкоз

Антрациклінові антибіотики викликають особливий інтерес, тому що широко застосовуються при хіміотерапії РМЗ. Представниками цієї групи препаратів є: доксорубіцин, даунорубіцин, епірубіцин та інші. Однак ця група препаратів має токсичний ефект на серцевий м'яз, що призводить до підвищення захворюваності та смертності від серцево-судинної патології серед хворих на рак. Клінічна серцева недостатність може виникати у 5% пацієнтів високого ризику. Основним механізмом антрациклінової кардіотоксичності в даний час вважається інгібування TOP II β , що призводить до активації шляхів загибелі клітин і інгібування мітохондріального біогенезу [91]. Відзначено, що кардіотоксичність антрациклінових препаратів зростає з підвищенням кумулятивної дози і починає проявлятися при сумарній дозі 550 мг / м². Так само на ризик розвитку незворотної кардіотоксичності зростає при певних факторах, таких як вік пацієнта (у пацієнтів літнього віку і дуже молодих пацієнтів більший ризик виникнення кардіотоксичності), наявність в анамнезі серцевих захворювань або лікування інших онкологічних захворювань (променева терапія середостіння та ін.), одночасне використання схем хіміотерапії, які включають паклітаксел та/або трастузумаб [92].

З огляду на написане вище, очевидною є стратегія, спрямована на дослідження мінімізації цього побічного ефекту шляхом відбору пацієнтів в залежності від наявності ряду молекулярних предикторів ефективності цієї терапії.

X. Ri, et al. в своєму дослідженні вивчали можливість зв'язку індексу проліферації Ki-67 та експресії TOP II α , та їх прогностичне значення у досягненні pCR у пацієнтів з РМЗ. Результати дослідження підтвердили гіпотезу авторів, щодо зв'язку Ki-67 та TOP II α і прогностичного значення TOP II α при карциномах молочної залози та кращої відповіді на антрациклінвмісні схеми хіміотерапії [93].

У 2016 році S. Şahin, et al. провели цікаве дослідження метою якого було визначення клінічної цінності ряду маркерів при РМЗ. В список досліджуваних маркерів була включена TOP II α . В дослідженні приймали участь 457 жінок з РМЗ, з них 50 випадків ТНРМЗ. Результати дослідження показали також пряму кореляцію експресії TOP II α з Ki-67 та зворотною кореляцію експресії TOP II α з рецепторами ER та PR. А також дослідження виявило зворотною кореляцію експресії TOP II α з загальною виживаністю [94].

Дослідження M. Arthi, et al. вивчало значення TOP II α при інвазивному РМЗ. В дослідженні вивчались 65 гістологічних зразків пацієнтів з інвазивними формами РМЗ. Результати дослідження не показали зв'язку експресії TOP II α з розміром первинної пухлини, наявністю метастатичного ураження регіонарних лімфовузлів, ступенем диференціювання пухлини та лімфоваскулярною інвазією. Але дані показали кореляцію між експресією TOP II α та люмінальними і HER2 підтипами РМЗ. Серед 15 зразків з ТНРМЗ у дослідженні 35,7% (5) були з експресією TOP II α , та не показали статистично значущої кореляції ($p=0,446$) [95]. У 2018 році A. Xin, et al. провели цікаве дослідження стосовно експресії TOP II α в пухлинах люмінальних підтипів РМЗ. Було проаналізовано дані 434 пацієток з I-II стадіями РМЗ. Дослідники вважали за гіперекспресію TOP II α 30% і більше

та визначали її імуногістохімічним методом. Гіперекспресію виявили у 29,3% (127) випадків. Дані дослідження показали статистично значущий зв'язок експресії TOP Па з рівнем Ki67, також у пацієнтів з гіперекспресією була відмічена більша кількість випадків віддалених метастазів та менша безрецидивна виживаність у порівнянні з пацієнтами з низькою експресією TOP Па. Цікавим було те, що прогностично рівень експресії TOP Па був більш значущим через 5-8 років після встановлення діагнозу РМЗ [96].

TOP Па привертає увагу, як важлива мішень та потенційно цінний прогностичний маркер при ТНРМЗ, так як при цьому типі РМЗ відсутні традиційні мішені для лікування. Дослідження I. Mrklic, et al. оцінювало експресію TOP Па при ТНРМЗ. В дослідженні приймали участь 83 пацієнта з ТНРМЗ. Експресія TOP Па показала статистично значимий зв'язок з гістологічним типом РМЗ –інвазивною протоковою карциною ($p=0,010$), з вищим показником диференціації клітин G ($p=0,007$), тобто при вищій експресії TOP Па частіше був виявлений нижчий ступінь диференціювання клітин пухлини, а також пряму кореляцію з Ki-67 ($p<0,001$). Цікавим було те, що в дослідженні не виявлено зв'язку експресії TOP Па з віком хворих, розміром первинної пухлини, стадією захворювання та базальноподібним підтипом (BL) ТНРМЗ [97].

Дослідження V. Durbecq, et al., в якому приймали участь 326 пацієнтів з яких 183 була визначена експресія TOP Па, показало в результатах, що гіперекспресія TOP Па дає вищу ймовірність відповіді пухлини на НПХТ у пацієнтів, що отримали доксорубіцин в монотерапії. Але експресія TOP Па не показала впливу на ЛП у пацієнтів, що отримали доцетаксел у неoad'ювантній монотерапії. Прогнозованим у результатах був той факт, що краща відповідь пухлини на НПХТ загалом була у пацієнтів, що отримали доцетаксел проти пацієнтів, що отримали доксорубіцин [98].

Дослідження спрямовані на оцінку ролі прогностичного значення TOP Па в оцінці ефективності хіміотерапії на основі антрациклінів показують неоднозначні результати.

Ряд досліджень вказують на TOP Па як на цінний прогностичний маркер у пацієнтів з РМЗ [99-106].

В наших власних спостереженнях отримано такі дані. Відібравши 37 пацієток віком 28-79 років з РМЗ, у яких крім стандартних імуногістохімічних маркерів визначалася TOP Па та вивчався розподіл в залежності від долі клітин, які експресують TOP Па, на 2 групи: групу з рівнем TOPПа 0-34% і групу з рівнем TOPПа 35- 100%. Експресія TOP Па оцінювалася за шкалою L. Usha - гіперекспресією вважається 35 і більше % клітин які експресують цей фермент. У пацієток у віковій групі до 40 років на 14% частіше зустрічалася гіперекспресія TOP Па (20% проти 6%). Також в групі з рівнем TOPПа 35-100% розмір пухлини у 70% пацієток відповідав критерію T2, проти 41% в групі з рівнем TOPПа 0-34%. У пацієток з гіперекспресією TOP Па на 36% частіше відзначався високий проліферативний індекс Ki67.

РЕЗЮМЕ

Визначення «стандартних» маркерів при ІГХ дослідженні у пацієнтів з РМЗ не завжди в повній мірі дає змогу охарактеризувати молекулярно-біологічні особливості будови пухлини. Це в свою чергу ускладнює прогнозування перебігу хвороби та відповіді пухлини на системне лікування. В останнє десятиліття топоізомераза 2 альфа викликає зростаючий інтерес серед онкологів. Аналіз даних в літературі показав наявність взаємозв'язку експресії топоізомерази 2 альфа клітинами пухлини з чутливістю пухлини до антрациклінових препаратів. Топоізомераза 2 альфа може бути потенційним предиктивним маркером чутливості пухлини до хіміотерапевтичного лікування з застосуванням антрациклінвмісних схем. Важливим є встановлення рівня експресії топоізомерази 2 альфа, при якому пухлина має чутливість до антрациклінових препаратів та пацієнти отримують найбільшу користь від антрациклінвмісної хіміотерапії. Найбільш проблематичним підтипом РМЗ є тричі негативний РМЗ. Дані досліджень та існуючих стандартів лікування РМЗ свідчать про

актуальність проблеми лікування ТНРМЗ в зв'язку з відсутністю чітких мішеней для терапії. Залишається відкритим питання стосовно різної чутливості до лікування ідентичними схемами терапії у пацієнтів з однаковими клінічно, морфологічно та за молекулярною будовою пухлинами. Літературні дані вказують на більшу кількість мутацій в генах BRCA1/2 серед пацієнтів з ТНРМЗ в порівнянні з іншими підтипами РМЗ. Основною метою НПХТ є досягнення повної регресії пухлини, однак є випадки резистентності пухлини до препаратів які використовуються у лікуванні РМЗ. За однією з гіпотез це пояснюється низьким рівнем експресії TOP Па, що знижує чутливість клітин пухлини до антрациклінвмісних препаратів, які входять у стандарти лікування РМЗ.

За матеріалами розділу опубліковано:

1. А.А. Самусева. Рівень експресії топоізомерази Па як прогностичний показник у хворих на рак молочної залози (огляд літератури). (2018). Практична онкологія. Том 1, №1: 11-14. DOI: 10.22141/oncology.1.1.2018.155376;
2. А.А. Самусева, О.В. Пономарьова, В.В. Зайчук. (2020) Вплив вітаміну D на ризики розвитку раку молочної залози. Здоровье женщины. №7(153): 84-87.

РОЗДІЛ II

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Підбір пацієнтів та дизайн наукового дослідження

У дисертаційне дослідження включено 45 пацієнток віком від 26 до 74 років (середній вік $52,6 \pm 11,8$ р.), хворих на II-III стадії тричі негативного РМЗ, яким було встановлено діагноз вперше та які отримували лікування у клініці кафедри онкології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика на базі КНП «Київський міський клінічний онкологічний центр». Дані вікового розподілу пацієнток наведено у таблиці 3.1.1. Всі хворі приймали участь у дослідженні добровільно, що засвідчували підписанням інформованої згоди, схваленої на засіданні комісії з питань етики Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика. Це проспективно-ретроспективне не рандомізоване дослідження.

Критерії включення:

Жінки з тричі-негативним раком молочної залози від 18 до 80 років з:

1. Діагноз підтверджений гістологічним дослідженням;
2. Підтверджений імуногістохімічно молекулярно-біологічний підтип пухлини;
3. Пухлиною більше 5 см у найбільшому вимірі або пухлиною менших розмірів, що займають більшу частину молочної залози малих розмірів при вузловій формі;
4. Дифузними формами РМЗ (набряково - інфільтративна, маститоподібна, панцирна, бешихоподібна);
5. Відсутністю віддалених метастазів РМЗ;
6. Особливими гістологічними варіантами карцином (медулярна, папілярна, слизова);

7. Пухлинами будь-яких розмірів з прямим поширенням на шкіру молочної залози, викликаючи виразку, набряк, або грудну стінку (ребра, міжреберні м'язи, передній зубчастий м'яз, виключаючи грудні м'язи);
8. Пухлинами будь-яких розмірів, які супроводжуються метастазами у регіонарні лімфатичні вузли на боці ураження;
9. Пухлиною будь-яких розмірів з клінічно визначеними метастазами у внутрішньо-грудні або надключичні лімфатичні вузли на боці ураження;
10. Гематологічні показники, які дозволяють проводити системну лікарську терапію (гемоглобін ≥ 100 г/л, лейкоцити $\geq 3,0 \times 10^9$ /л, тромбоцити $\geq 100 \times 10^9$ /л).

Критерії невключення:

1. Хворі на РМЗ люмінальний А тип, люмінальний Б тип, HER2/neu позитивний тип;
2. Жінки хворі на РМЗ молодше 18 років та старше 80 років;
3. Наявністю віддалених метастазів РМЗ;
4. Пухлинами, що супроводжуються появою сателітів в шкірі молочної залози;
5. Пацієнтки гематологічні показники, яких не дозволяють проводити системну протипухлинну терапію (гемоглобін < 100 г/л, лейкоцити $< 3,0 \times 10^9$ /л, тромбоцити $< 100 \times 10^9$ /л);
6. РМЗ у чоловіків;
7. Вагітні та жінки під час лактації та грудного вигодовування.

Критерії виключення:

1. Настання вагітності після початку участі у дослідженні;
2. Смерть (від захворювань чи подій не пов'язаних з основним захворюванням) хворої після початку участі у дослідженні;

Дизайн дослідження схематично наведено у схемі 2.1, 2.2 та 2.3. В дослідженні приймали участь пацієнтки з ТНРМЗ (n=45), в результаті

розподілу всіх хворих з ТНРМЗ в залежності від рівня експресії TOP Па клітинами пухлини (n=38) до початку лікування було сформовано 2 групи: експресія TOP Па $\leq 45\%$ та експресія TOP Па $\geq 46\%$. В групу пацієток з експресією TOP Па $\leq 45\%$ ввійшли 21 хвора та у групу пацієток з експресією TOP Па $\geq 46\%$ -17. Розподіл пацієток в залежності від віку наведено у таблиці 2.1.1. Середній вік пацієток на момент встановлення діагнозу РМЗ середній вік складав $52,6 \pm 11,8$ р.

Таблиця 2.1.1. Розподіл пацієток в залежності від віку та рівня експресії TOP Па на момент встановлення діагнозу.

Групи пацієнтів	Вік на момент постановки діагнозу			
	До 40 років	41-50 років	51 – 69 років	70 та більше років
TOP Па $\leq 45\%$	1 (16,7%)	3 (50%)	14 (63,6%)	3 (75%)
TOP Па $\geq 46\%$	5 (83,3%)	3 (50%)	8 (36,4%)	1 (25%)
Всього	6	6	22	4

При розподілі пацієток за віком більшість пацієток обох груп припала на вікову категорію від 51 до 69 років: в групі з експресією TOP Па $\leq 45\%$ - 66.7% пацієток, а в групі з експресією TOP Па $\geq 46\%$ - 47.1%. Що відповідає віковій тенденції РМЗ в цілому.

При статистичному аналізі виявлено тренд до зниження рівня TOP Па з віком ($p=0,032$ за тестом на перевірку наявності тренду для упорядкованих градацій). Дані проілюстровано на рисунку 2.1.1.

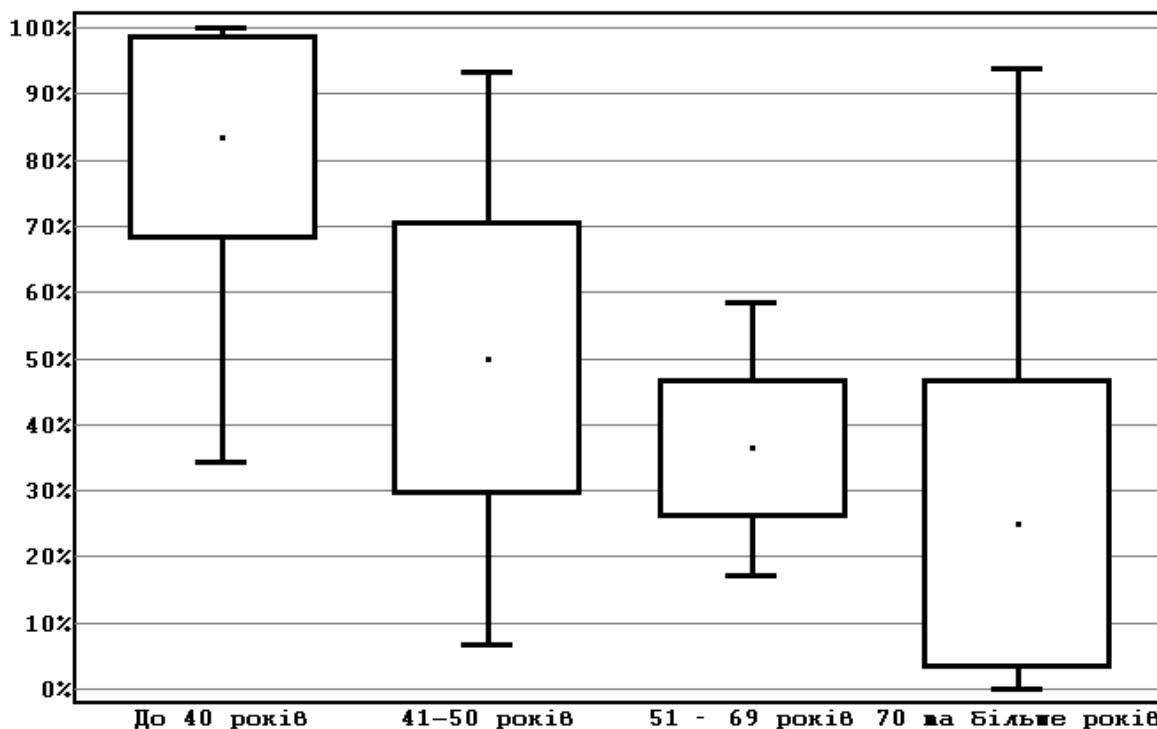


Рис. 2.1.1. Розподіл рівня TOP IIa до НПХТ для різних вікових груп (вказано %, стандартну похибку та 95% ВІ).

Як видно з наведеної таблиці та діаграми у групі пацієток до 40 років рівень TOP IIa найвищий, після 70 років він знижується.

Стадію РМЗ встановлювали згідно з Міжнародною класифікацією пухлин (TNM, 6 перегляд, 2002 р.). У всіх пацієток в дослідженні діагностовано РМЗ II-III стадії.

Всі пацієтки підлягали проведенню стандартного алгоритму обстеження згідно стандартів (Наказ МОЗ України «Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «онкологія» від 17.09.2007р. № 554): фізикальне обстеження, лабораторні дослідження крові та сечі, ЕКГ, мамографія в 2 проекціях, рентгенографія органів грудної порожнини в 2 проекціях, КТ ОЧП, ОМТ, ОГП з внутрішньовенним контрастуванням (за відсутності протипоказів) УЗД органів черевної порожнини, молочних залоз та регіонарних лімфатичних вузлів, трепан-

біопсія пухлини з морфологічним та імуногістохімічним дослідженням. При наявності показань проводили УЗД органів малого тазу та заочеревинного простору, комп'ютерну томографію з внутрішньовенним контрастуванням органів грудної порожнини, черевної порожнини та малого тазу, радіоізотопні обстеження. Розміри первинної пухлини оцінювались за мамограмами з оцінкою за шкалою BI-RADS (Breast Imaging Reporting and Data System), що включає 6 категорій та категорію 0 (неповне обстеження, необхідність дообстеження). Критерії шкали BI-RADS наведені у таблиці 2.1.2 [107].

Таблиця 2.1.2. Критерії BI-RADS*

Категорія	Характеристика
0	Неповне обстеження, необхідність дообстеження
1	Негативна (новоутворень не виявлено)
2	Доброякісні зміни
3	Вірогідно доброякісні зміни (ризик злякисності $\leq 2\%$)
4	Підозра на рак: А – низький рівень підозри (ризик злякисності $>2\%$ до $<10\%$) В – помірний рівень підозри (ризик злякисності $>10\%$ до $<50\%$) С – високий рівень підозри (ризик злякисності $>50\%$ до $<95\%$)
5	Вірогідно злякисні зміни (ризик злякисності $\geq 95\%$)
6	Верифікована злякисна пухлина

* - Breast Imaging Reporting and Data System

Також при оцінці за шкалою BI-RADS враховуються типи структури молочної залози, що поділяються на 4 типи, що наведені у таблиці 2.1.3.

Таблиця 2.1.3. Типи структури молочної залози.

Категорія	Характеристика
-----------	----------------

A	Тканина залози представлена переважно жировою тканиною (висока чутливість мамографії)
B	Окремі вогнища фіброзно-залозистої щільності
C	Молочна залоза неоднорідної щільності, наявні окремі ділянки щільної тканини, що знижують інформативність
D	Дуже щільна молочна залоза (низька чутливість мамографії)

Таблиця 2.1.4. Розподіл пацієток в залежності від розміру пухлини до початку НПХТ.

Групи пацієнтів	Розмір пухлини (Т)		
	T1 (до 2 см)	T2 (2 – 5 см)	T3-4 (більше 5 см)
TOP $Pa \leq 45\%$	1 (50%)	16 (57,1%)	4 (50%)
TOP $Pa \geq 46\%$	1 (50%)	12 (42,9%)	4 (50%)
Всього	2	28	8

При розподілі пацієток в залежності від розміру первинного вогнища переважна більшість пацієток обох груп припала на критерій T2 (2-5см): в групі з експресією TOP $Pa \leq 45\%$ - 76.2% пацієток, а в групі з експресією TOP $Pa \geq 46\%$ - 70.6%.

При статистичному аналізі розподілу пацієток в залежності від розміру пухлини до початку НПХТ не виявлено статистично значимої відмінності ($p=0,927$).

Для оцінки метастатичного ураження регіонарних лімфовузлів виконувались фізикальний огляд, УЗД регіонарних лімфовузлів та/або комп'ютерна томографія з внутрішньовенним контрастуванням. Розподіл пацієток в залежності від метастатичного ураження регіонарних лімфовузлів наведено у таблиці 2.1.5.

Таблиця 2.1.5. Розподіл пацієнок залежно від наявності метастатичного ураження регіонарних лімфовузлів.

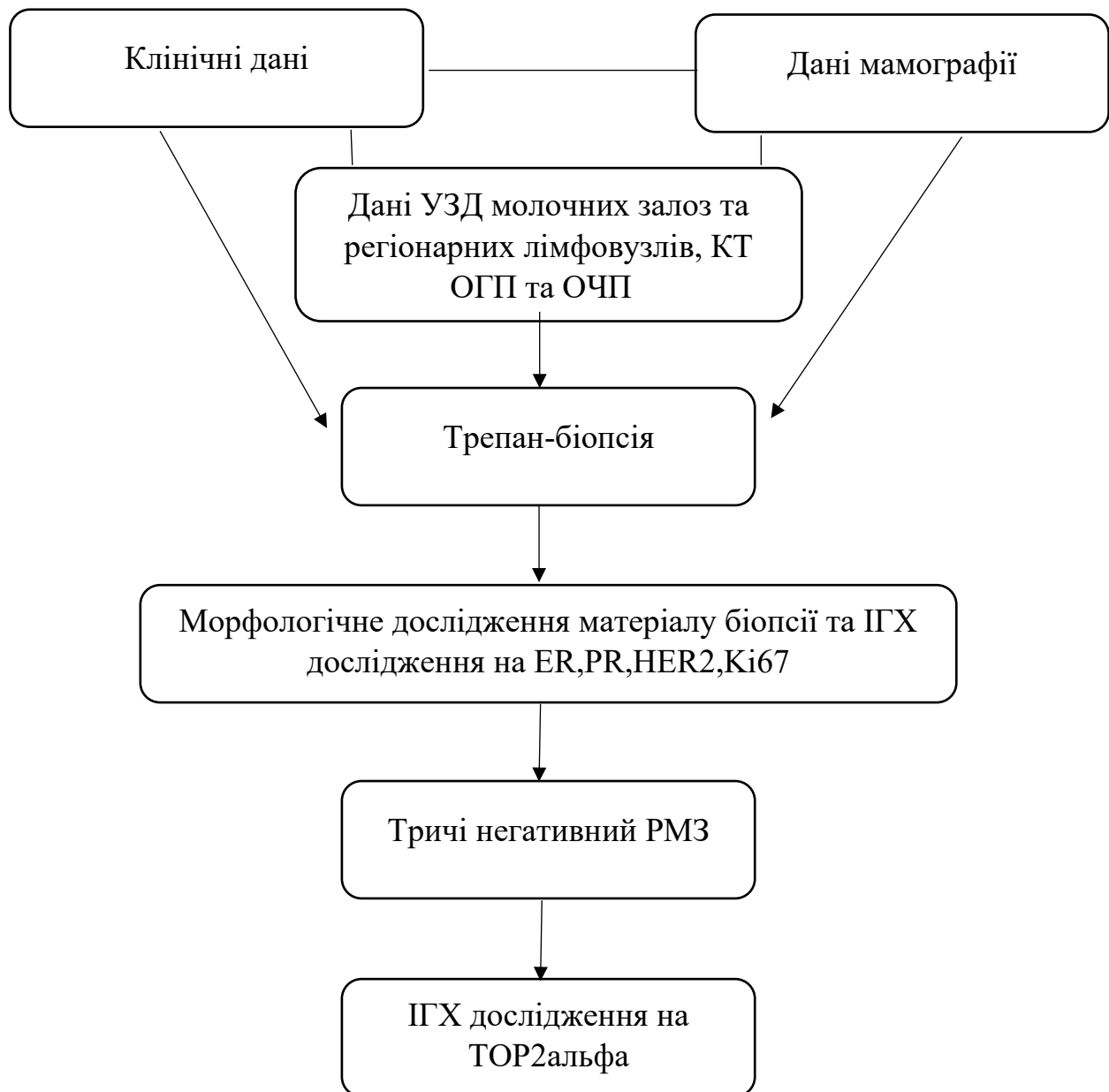
Групи пацієнтів	Метастатичне ураження регіонарних лімфовузлів (N)	
	N0 (метастатичне ураження відсутнє)	N1-3 (метастатичне ураження наявне)
TOP П α \leq 45 %	5 (71,4%)	16 (51,6%)
TOP П α \geq 46 %	2 (28,6%)	15 (48,4%)
Всього	7	31

При розподілі пацієнок в залежності від наявності метастатичного ураження регіонарних лімфовузлів переважна більшість пацієнок обох груп були з наявними ураженими регіонарними лімфовузлами: в групі з експресією TOP П α \leq 45 % - 76.2% пацієнок, а в групі з експресією TOP П α \geq 46 % - 88.2%.

Не виявлено відмінності ($p=0,427$) розподілу пацієнок залежно від наявності метастатичного ураження регіонарних лімфовузлів.

Після проведення ІГХ дослідження та оцінки наявності рецепторів до естрогенів та прогестерону, експресії HER2/neu та індексу проліферації (Ki-67) та поділяли на 5 підтипів РМЗ згідно рекомендацій European Society of Medical Oncology (ESMO), наведених у таблиці 2.3. На ряду з цим, у пацієнок в яких був діагностований ТНРМЗ додатково визначалась експресія TOP П α клітинами пухлини методом імуногістохімічного дослідження.

ДИЗАЙН ДОСЛІДЖЕННЯ (схема 2.1)



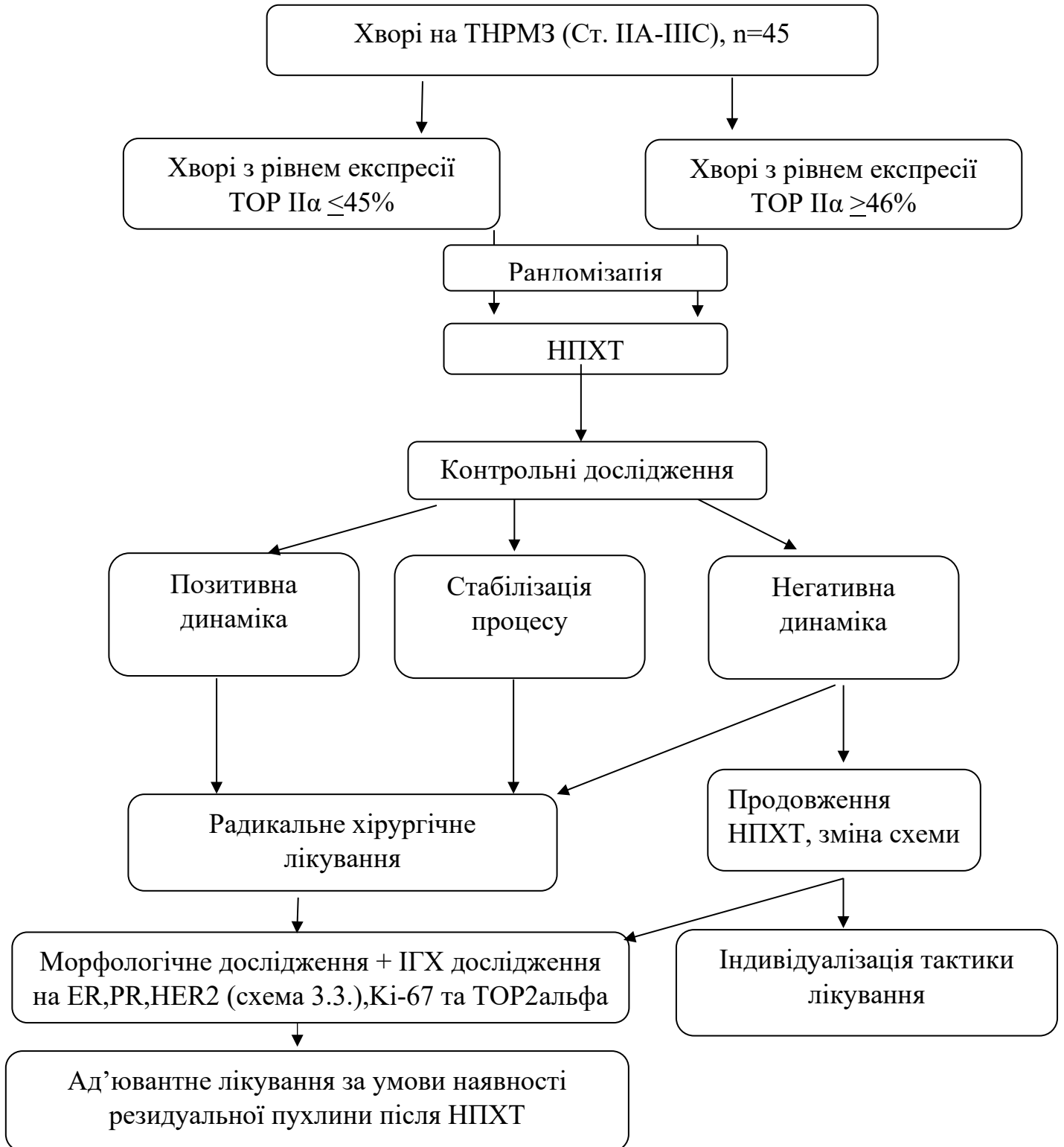
На схемі 2.1 зображений алгоритм маршруту первинного пацієнта та діагностичні методи, які виконувались для включення пацієнтів у це дослідження. Всі пацієнтки підлягали проведенню стандартного алгоритму обстеження згідно стандарті. На схемі для зручності зображені основні етапи діагностики, та виключені етапи фізикального огляду, стандартні клінічні дослідження крові та сечі, ЕКГ і тд.

У випадках помірно позитивної реакції (++) при ІГХ дослідженні експресії HER2/neu додатково призначалось оцінка статусу методом FISH.

Після отримання результатів FISH дослідження при негативній реакції пацієнтку включали в дослідження, якщо реакція позитивна, то пацієнтку не включали у дослідження та не визначали рівень експресії TOP II a.

На схемі 2.2 зображений алгоритм відбору пацієнтів у дослідження та подальше дообстеження, призначення лікування, контрольні дослідження та оцінка проведеного лікування. Для оцінки відповіді на лікування після 2-4 курсів проводилось мамографічне дослідження молочної залози з пухлиною та СКТ, за необхідності УЗД дослідження.

ДИЗАЙН ДОСЛІДЖЕННЯ (схема 2.2)



Після дообстеження пацієнткам проводилась неoad'ювантна поліхіміотерапія 2-8 курсів, таксановмісними схемами (АТ (доксорубіцин – 50 мг/м² – 1 день + паклітаксел -175 мг/м² – 1 день / кожний 21 день) та у нетаксановмісними схемами (FAC (циклофосфамід/ендоксан 500 мг/м² – 1 день + доксорубіцин – 50 мг/м² – 1 день + флуороурацил – 500 мг/м² – 1 день / кожний 21 день або AC (циклофосфамід/ендоксан 500 мг/м² – 1 день + доксорубіцин – 50 мг/м² – 1 день / кожний 21 день), дані розподілу наведено у таблиці 2.1.6.

Таблиця 2.1.6. Розподіл пацієнток в залежності від виду НПХТ.

Групи пацієнтів	Нетаксановмісна	Таксановмісна
TOP II _a ≤45 %	12 (54,5%)	9 (56,2%)
TOP II _a ≥46 %	10 (45,5%)	7 (43,7%)
22	22	16

Не виявлено статистично значимої відмінності розподілу пацієнток в залежності від виду НПХТ ($p > 0,999$).

Фізикальний огляд та контроль лабораторних показників крові пацієнтів проводились перед кожним курсом НПХТ. У випадках досягнення клінічно вираженої регресії пухлини після 2 та 4 курсів НПХТ пацієнтам проводили контроль ефективності проведеного лікування: рентгенологічно (мамографія) та сонографічно (УЗД молочної залози та регіонарних лімфатичних вузлів). На разі не існує шкали з критеріями оцінки ефективності НПХТ у пацієнток з місцево-поширеним РМЗ, така шкала існує лише для оцінки ефекту НПХТ у пацієнток з метастатичним РМЗ – RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) та оцінюється на

основі даних рентгенологічних знімків, КТ або МРТ [108]. Критеріїв RECIST, які наведено в таблиці 2.1.7.

Таблиця 2.1.7. Критерії оцінки ефективності неoad'ювантної системної хіміотерапії у пацієнтів з метастатичним перебігом захворювання (шкала RECIST*)

Ефект	Характеристика
Повна регресія (CR)	Зникнення усіх екстралімфатичних вогнищ та регресія всіх лімфатичних вузлів до 10 мм та менше
Часткова регресія (PR)	Зменшення на $\geq 30\%$ суми діаметрів вимірюваних вогнищ за відсутності нових вогнищ
Стабілізація процесу (NC)	Отриманні данні проміжного значення між частковою регресією та прогресуванням захворюванням
Прогресування (PD)	Збільшення суми діаметрів вогнищ на $\geq 20\%$ або збільшення найменшого діаметра на 5 мм і більше, а також поява нових вогнищ

*- Response Evaluation Criteria in Solid Tumors

Тому для оцінки ефективності НПХТ у пацієток, які входили у це дослідження використовувалась шкала з трьох можливих ефектів НПХТ :

- Позитивна динаміка;
- Стабілізація процесу;
- Негативна динаміка.

Для більш точної оцінки ефекту пухлина вимірювалась у трьох проекціях, щоб отримати об'єм пухлини. Об'єм пухлини розраховувався за такою формулою:

$$V = a \times b \times c \times 0,52, \text{ де}$$

V – об'єм пухлинного вогнища, a – висота пухлини, b – довжина пухлини, c – ширина пухлини, $0,52$ – коефіцієнт.

Та вже отримані об'єми порівнювались між первинними даними та контрольними даними після НПХТ. В оцінку також враховувались характеристики контурів пухлини, ознакою позитивної динаміки вважалось поява більш чітких та рівних контурів та наявність і кількість мікрокальцинатів на мамограмах.

Для оцінки ефективності НПХТ для регіонарних лімфовузлів використовувалось УЗД, що виконувалось також при первинній діагностиці та у контрольних дослідженнях. Для оцінки статусу лімфовузлів враховувались розміри вузлів, також контури і важливою характеристикою є ехоструктура вузла, особливо оцінка його кортикального шару, нормою товщини вважається 1мм. 3 мм і більше та нерівномірне його потовщення розцінювалось, як ознака злоякісного ураження лімфовузла. При сумнівних даних УЗД регіонарних лімфовузлів, виконувалось КТ дослідження з контрастом.

Після підтвердження інструментальними методами дослідження, відсутності усіх екстралімфатичних вогнищ та регресії всіх лімфатичних вузлів до 10 мм та менше, пацієнткам виконували хірургічне лікування з подальшим морфологічним визначенням відповіді пухлини на проведену НПХТ. Залежно від ефективності лікування хворим призначали подальше лікування за алгоритмом наведеним у схемі 3.2 дизайну дослідження. При наявності даних за повну або часткову регресію пацієнткам проводилось хірургічне лікування. Об'єм хірургічного втручання визначався наявними показами та протипоказами. За відсутності протипоказань пацієнткам виконувались органозберігаючі операції (лампектомія або квадрантектомія). При стабілізації процесу або прогресії на фоні НПХТ, або при наявності протипоказань до органозберігаючих операцій але за умови резектабельності пухлини пацієнткам виконувались мастектомії. У

випадках прогресії та нерезектабельності пухлини пацієнткам призначався передопераційний курс променевої терапії за радикальною програмою, при якій на молочну залозу підводилась: разова вогнищева доза (РВД) – 2 Гр, сумарна вогнищева доза (СВД) 45-50 Гр; пахвинні лімфатичні вузли: РВД – 2 Гр, СВД – 40 Гр; парастернальну та надключичну ділянки: РВД – 2 Гр, СВД – 45 Гр). Тільки у випадках прогресії процесу на фоні НПХТ пацієнти після отримали курс передопераційної променевої терапії, всім іншим пацієнткам після НПХТ було проведено хірургічне лікування та променева терапія в ад'ювантному режимі. АПХТ призначали після гістологічного та імуногістохімічного, за умови технічної можливості виконання при залишку резидуальної пухлини та не досягненні pCR, досліджень з операційного матеріалу. Згідно існуючих стандартів та зазначеними показами, пацієнти отримували АПХТ за схемами описаними вище.



Рис. 2.1.1. Цифрова рентгенівська мамографія лівої молочної залози (краніокаудальна проекція (LCC)).

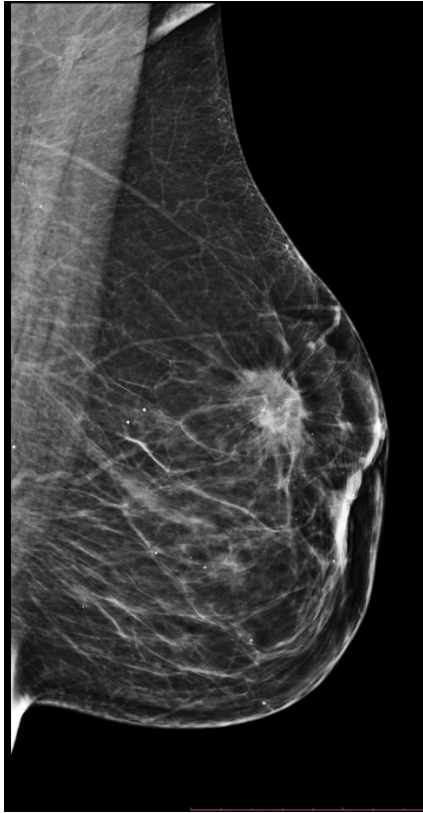


Рис. 2.1.2. Цифрова рентгенівська мамографія лівої молочної залози (медіолатеральна проекція (LMLO)).

На рисунках 2.1. та 2.2. представлені цифрові рентгенівські мамографії у двох проекціях (LCC та LMLO) до початку неoad'ювантного лікування. У верхньолатеральному квадранті лівої молочної залози на відстані 42мм від соска візуалізується гіпоізоденсне утворення неправильної форми з нечіткими спікулоподібними контурами, розмірами 28x18мм, інфільтрує та втягує сосок. У всіх квадрантах визначається поодинокі розсіяні доброякісні округлі кальцинати.



Рис. 2.1.3. Цифрова рентгенівська мамографія лівої молочної залози (проекція (LMLO)).

На рисунку 2.3. представлені цифрові рентгенівські мамографії в проекції LMLO через 6 місяців після НПХТ. У верхньолатеральному квадранті лівої молочної залози на відстані 42мм від соска візуалізується гіпоізоденсне утворення неправильної форми з нечіткими спікулоподібними контурами, розмірами 24x11мм, інфільтрує та втягує сосок. У порівнянні з результатами початкової мамографії простежується позитивна динаміка, що виражається у зменшенні розмірів та щільності утворення лівої молочної залози.

2.2. Методи дослідження

У всіх пацієнтів визначали вік на час встановлення діагнозу, розмір, гістологічний тип, ступінь диференціювання клітин, молекулярний підтип, проліферативну активність клітин пухлини та рівень експресії топоізомерази 2 альфа в клітинах пухлини, та наявність метастазів в регіонарних лімфатичних вузлах.

Морфологічні та імуногістохімічні дослідження виконувались у патологанатомічному відділенні КНП «Київський міський онкологічний центр». Розмір пухлинного вузла визначався до початку неoad'ювантного лікування за результатами мамографії шляхом вимірювання максимального діаметру. Розмір резидуальної пухлини вимірювали після хірургічного втручання. Гістологічний тип та ступінь диференціювання оцінювали згідно існуючих стандартів міжнародних організацій. Лікувальний патоморфоз оцінювали за критеріями Miller та Payne (2003): I - малопомітні зміни окремих пухлинних клітин, але без зменшення їх кількості; II - незначне зменшення клітин пухлини ($\leq 30\%$ пухлини); III - помірне зменшення клітин пухлини, від 30 до 90%; IV - помітне зникнення інвазивних клітин ($> 90\%$ клітин пухлини). Визначаються лише окремі поодинокі широко розсіяні невеликі скупчення клітин; V - пухлинні клітини в секційних зрізах з місця знаходження первинної пухлини не виявляються (таблиця 2.2.1) [52]. Метастатичне ураження регіонарних лімфовузлів оцінювалось до НПХТ за даними фізикального огляду, даними сонографії та/або комп'ютерної томографії з внутрішньовенним контрастуванням. Після хірургічного лікування з операційного матеріалу метастатичне ураження регіонарних лімфовузлів оцінювалось шляхом гістологічного дослідження. Також оцінювалась проліферативна активність пухлини, що визначалась як відсоток Ki67- позитивних клітин від загальної кількості клітин пухлини. При Ki67 $\leq 20\%$ оцінювалась як низька проліферативна активність, при Ki67 21-40% - помірна та при Ki67 ≥ 41 – висока.

Таблиця 2.2.1. Система гістологічної оцінки лікувального патоморфозу за Miller-Payne.

Ступінь	Наявні зміни
I	Малопомітні зміни окремих пухлинних клітин, але без зменшення їх кількості.
II	Незначне зменшення клітин пухлини ($\leq 30\%$ пухлини).

III	Помірне зменшення клітин пухлини, від 30 до 90%.
IV	Помітне зникнення інвазивних клітин (> 90% клітин пухлини). Визначаються лише окремі поодинокі широко розсіяні невеликі скупчення клітин.
V (pCR)	Пухлинні клітини в секційних зрізах з місця знаходження первинної пухлини не виявляються.

Гістологічне дослідження. Гістологічний матеріал фіксували в 10% розчині забуференого нейтрального формаліну (Shandon Fixx, США) протягом 24 годин, після чого матеріал проходив стандартну гістологічну проводку. Після дегідратації матеріал заливали в парапласт при температурі, що не перевищує 60°C. З парафінових блоків виготовляли зрізи тканини товщиною 5 мкм. Зрізи поміщали на предметні скельця з подальшим забарвленням гематоксиліном та еозином.

Імуногістохімічне дослідження. Зрізи товщиною 5 мкм виготовляли з парафінових блоків, які поміщали на адгезивні скельця, попередньо обробляли полі-L-лізином. Дослідження проводили на депарафінованих та регідратованих зрізах. Для демаскування антигенів використовували метод теплової обробки зрізів в буфері при температурі 98-99 градусів з урахуванням настанов виробника антитіл. Після блокування ендогенної пероксидазної активності пероксидазним блоком, наносили первинні антитіла. Для встановлених задач використовували естроген-рецептор альфа (DAKO, клон ER1), прогестерон-рецептор (DAKO, клон PgR 636), онкопротеїн c-erbB-2 (HER-2/neu) (DAKO, поліклональні), Ki-67 (DAKO, клон MIB-1) та топоізомеразу II альфа (DAKO, клон Ki-S1), дані наведено у таблиці 2.2.2. Візуалізацію первинних антитіл проводили за допомогою системи детекції DAKO EnVision FLEX+ (DAKO, Данія). Всі етапи імунозабарвлення проводились в DAKO Autostainer згідно протоколів виробника.

Таблиця 2.2.2. Перелік моноклональних антитіл використаних при імуногістохімічному дослідженні.

Імуногістохімічний маркер	Клон моноклональних антитіл	Виробник
Рецептори до естрогенів	1D5	Dako Cytomation, Данія
Рецептори до прогестерону	PgR636	
Епідермальний фактор росту HER2/neu	Поліклональні, CB11	
Маркер проліферації Ki-67	MIB-1	
Топоізомеразу II альфа	Ki-S1	

Оцінку експресії естроген-рецептора альфа, прогестерон-рецептора та онкопротеїна c-erbB-2 (HER-2/neu) проводили за рекомендаціями ASCO-CAP Estrogen and Progesterone Receptor Testing in Breast Cancer Guideline Recommendations 2010 з оновленням 2020 Guideline Update та Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) Testing in Breast Cancer 2013 з оновленням 2018 Focus Update відповідно. Позитивною експресію стероїдних гормонів вважали значення 1% (із зазначенням низького рівня > 10%). Визначення Ki-67 проводилось за рекомендаціями International Ki-67 assessment in Breast Cancer Working Group та використовувалось порогове значення 20% [109].

Інтерпретацію результатів імуногістохімічної реакції проводили з використанням якісної оцінки ядерної реакції: негативна «-», слабо

позитивна «+», помірно позитивна «++», виражено позитивна «+++» та кількісної системи оцінки реакції в % зафарбованих пухлинних клітин.

При оцінці експресії HER2/neu відмічали вираженість забарвлення цитоплазматичної мембрани: реакція «-», «+» - відсутня гіперекспресія (реакція негативна, слабо позитивна) , реакція «+++» - гіперекспресія HER2/neu (виражено позитивна). Наявність гіперекспресії HER2/neu у випадках реакції «++» (помірно позитивна реакція) оцінювалась за допомогою методу гібридизації *in situ* з використанням флюоресцентної мітки FISH (флюоресцентна *in situ* гібридизація).

На Рис. 2.2.1. - 2.2.3 наведені фото мікроскопії результатів імуногістохімічних реакцій з антитілами до естрогену, прогестерону та HER2/neu. За результатами у всіх трьох випадках реакції негативні, що свідчить про тричі негативний підтип РМЗ.

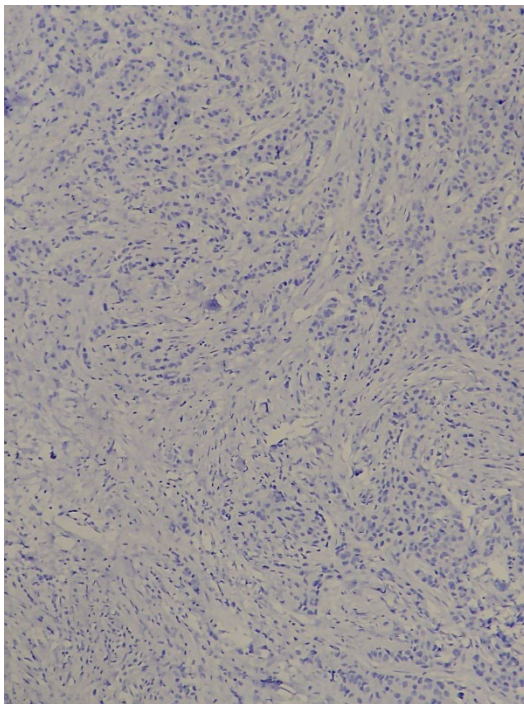


Рис. 2.2.1 Імуногістохімічна реакція з антитілом до естрогену (негативна реакція). Збільшення x100.

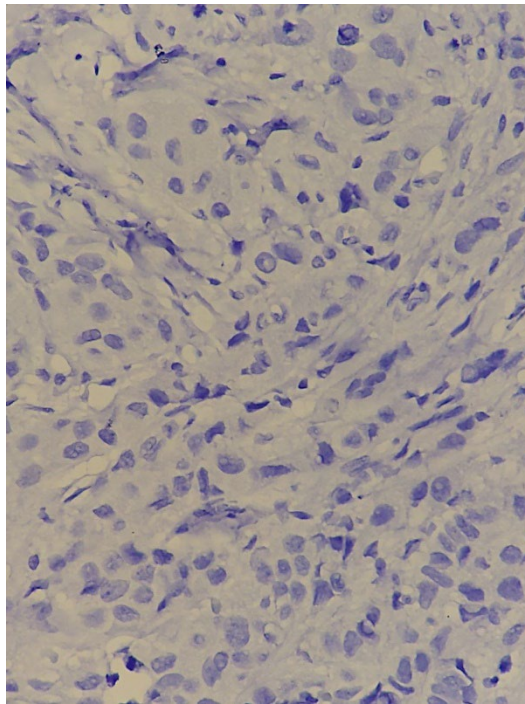


Рис. 2.2.2 Імуногістохімічна реакція з антитілом до прогестрогену (негативна реакція). Збільшення x400.

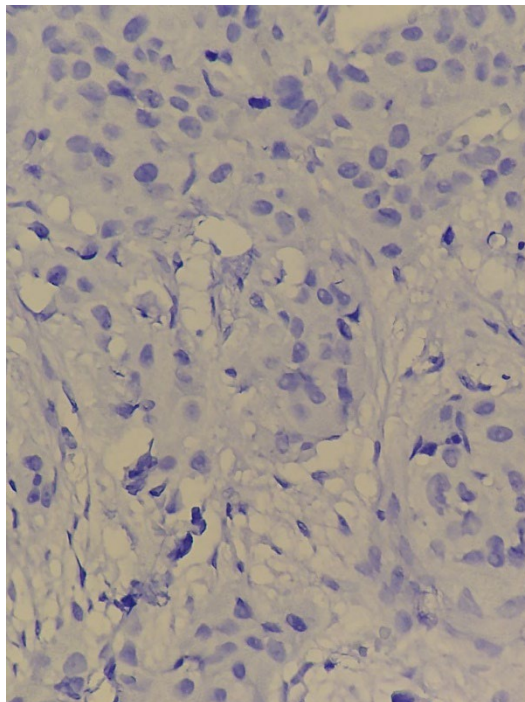


Рис. 2.2.3 Імуногістохімічна реакція з антитілом до HER2/neu (негативна реакція). Збільшення x400.

На Рис. 2.2.4 наведені фото мікроскопії результатів імуногістохімічних реакцій з антитілом до топоізомери 2 альфа в

препараті наведеному на рисунках вище. Реакція у зразку позитивна і відповідає 35%.

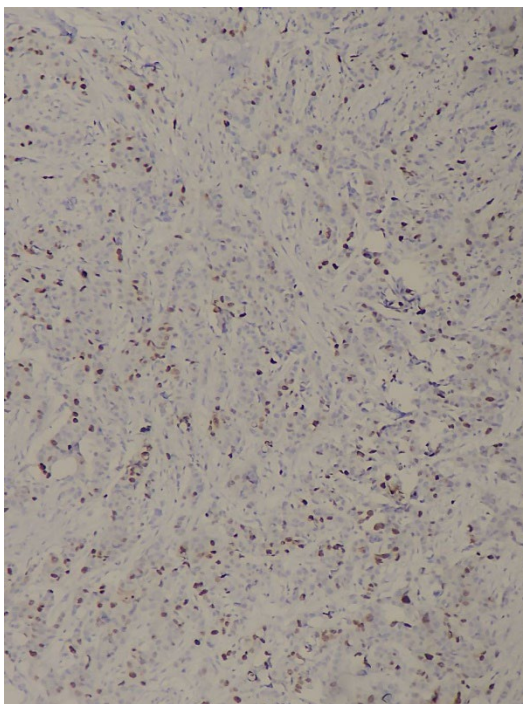


Рис. 2.2.4 Імуногістохімічна реакція з антитілом до топоізомерази 2 альфа (позитивна реакція в ядрах клітин 35%). Збільшення x100.

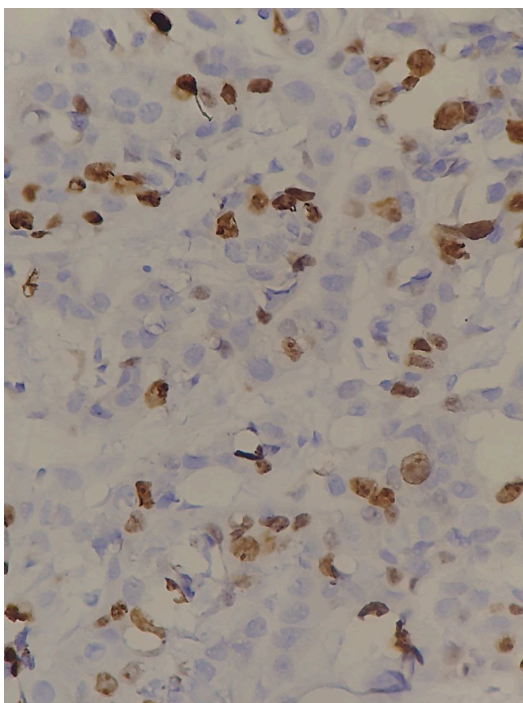


Рис. 2.2.5 Імуногістохімічна реакція з антитілом до топоізомерази 2 альфа (позитивна реакція в ядрах клітин 35%). Збільшення x400.

На рисунках наведених вище усі фото результатів ІГХ дослідження зразків пухлини до початку лікування.

Молекулярні підтипи РМЗ у пацієнтів визначали на основі результатів ІГХ дослідження та поділяли на 5 підтипів згідно рекомендацій European Society of Medical Oncology (ESMO), наведених у таблиці 2.2.3. [5]. Та додатково визначали експресію топоізомерази 2 альфа в клітинах пухлини.

Таблиця 2.2.3. Критерії визначення молекулярних підтипів РМЗ

Молекулярний підтип	Імуногістохімічні показники			
	ER*	PR*	HER2/neu*	Ki-67
Luminal A	+	≥20%	-	≤20%
Luminal B HER2 –негативний	+	<20%**	-	>20%**
Luminal B HER2 -позитивний	+	будь- який	+	будь-який
HER2	-	-	+	будь-який
Basal like (Triple negative)	-	-	-	будь-який

*- ER- рецептори естрогену, PR- рецептори прогестерону, HER2/neu- рецептори епідермального фактору росту, тип 2 (C-erbB-2 рецептори);

** - наявність хоча б одного з показників

Для генетичного тестування на наявність мутації *BRCA1* 5382insC геному ДНК виділяли периферійної крові, використовуючи кілька різних комерційно доступних наборів: Quick-DNA™ Universal Kit (Zymo Research, США), DNA extraction kit DNA-SORB-B (AmpliSense, РФ) and NeoPrep100 DNA Magnet (Neo-Gene, Україна). Мутація виявлялась за допомогою мутагенно розділеної ПЛР (MS-PCR) використовуючи специфічні праймери або ПЛР «у реальному часі» (RT-PCR). Аналіз ампліфікації проводили в об'ємі 20 мкл (2 мкл буфера 10 × ПЛР (10 × буфера DreamTaq, «Thermo Scientific», США), 2 мкл 2 мМ dNTP («Thermo Scientific», США), 2 мкл 2,5

мМ MgCl₂ («Thermo Scientific», США), 0,4 мкл 20 мм праймерів, 1 одиниця полімерази Taq («Thermo Scientific», США), 10 мкл дистильованої води) і 3 мкл геномної ДНК. Схема реакції: 95°C 3 хв; 40 цикли: 94°C протягом 30 с; 52°C протягом 30 с; 72°C протягом 30 с; подовження 72°C 4 хв. Виконано візуалізацію в 3% агарозному гелі. Кожен зразок аналізували у двох примірниках. Зразки крові відібрані для ПЛР-аналізу «у реальному часі» були у пробірках Vacutest з K3-EDTA як антикоагулянт («Vacutest Kima», Італія). Набір BRCA («ДНК Технологія», РФ) використовувався згідно з інструкції виробника для виявлення конкретної мутації. ПЛР «у реальному часі» проводили за допомогою 7500 Real-Time PCR System («Applied Biosystems», США).

2.3. Методи статистичного аналізу

Для проведення аналізу отриманих результатів проведеного дослідження використовувалися програми Excel Microsoft Office 2002 та v. 1.54 (graphical user interface for R statistical software version 4.0.3, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) [110,111].

Для оцінки якісних ознак розраховувалася абсолютна та відносна частота (%). Порівняння проводилося за критерієм хі-квадрат або з використанням точного критерію Фішера. При представленні кількісних ознак проводилася перевірка розподілу показників на нормальність (використано критерій Шапіро-Уїлка). У випадку нормального закону розподілу показників у досліджуваних групах було розраховано середнє значення показника (\bar{X}) та стандартне відхилення ($\pm SD$), у випадку відмінності закону розподілу від нормального було розраховане медіанне значення (Me) та значення першого і третього кватилей ($Q_I - Q_{III}$). При порівнянні середніх значень в двох групах використовувався критерій Стюдента (у разі нормального закону розподілу) або критерій Манна-Уїтні (у випадку закону розподілу відмінного від нормального). Зв'язок для кількісних ознак проводився за показником рангової кореляції Спірмена.

Аналіз безрецидивного та загального виживання хворих проводився за методом побудови кривих виживання Каплана–Майєра. Для оцінки впливу факторів ризику на виживання, було використано регресійну модель пропорційних ризиків Кокса, розраховано показник відносного ризику (HR) та його 95% вірогідний інтервал (95% ВІ). Оцінка ступеню впливу факторних ознак на ефективність лікування проводилася із використанням методу побудови моделей логістичної регресії. Прогностичність моделей оцінювалася за площею під ROC-кривою моделі (AUC) та її 95% ВІ. Ступінь впливу факторних ознак на ризик випадку оцінено за величиною показників відношення шансів (ВШ) для яких розраховано 95% ВІ.

У всіх випадках статистичного аналізу використанні критерії із двосторонньою критичною областю, відмінності вважалися статистично значимими при рівні значимості $p < 0,05$.

РЕЗЮМЕ

До обстежень, що проводились пацієнтам входили: фізикальне обстеження, лабораторні, в тому числі молекулярні і інструментальні методи дослідження.

З метою встановлення діагнозу та оцінки розповсюдження захворювання проводились: мамографія в 2 проекціях, рентгенографія органів грудної порожнини в 2 проекціях, КТ ОЧП, ОМТ, ОГП з внутрішньовенним контрастуванням, УЗД органів черевної порожнини, молочних залоз та регіонарних лімфатичних вузлів, трепан-біопсія пухлини з морфологічним та імуногістохімічним дослідженням.

Для оцінки ефективності проведеної НПХТ на доопераційному етапі виконувались контрольні дослідження, такі як: мамографія та УЗД молочної залози та регіонарних лімфатичних вузлів, КТ ОЧП, ОМТ, ОГП з внутрішньовенним контрастуванням. На післяопераційному етапі виконувались: морфологічне дослідження операційного матеріалу з

оцінкою ступеню лікувального патоморфозу та повторне імуногістохімічне дослідження за умови наявності резидуальної пухлини.

Наведені в розділі результати опубліковані в наступних наукових працях:

1. А.А. Самусева, О.В. Пономарьова, О.О. Кошик, В.В.Зайчук. (2020) Патент на корисну модель «Спосіб прогнозування відповіді на антрациклінвмісну хіміотерапію у хворих на рак молочної залози». Патент на корисну модель № 144983 Україна, № u 202003389; заявл. 03.06.2020; опубл. 11.11.2020; Бюл. № 21/2020.
2. А.А. Самусева, О.С. Зотов. (2019). Протипухлинна хіміотерапія: можливі ризики, помилки при проведенні й шляхи їх профілактики. Практична онкологія. Том 2, №1: 26-29. DOI: 10.22141/oncology.2.1.2019.165450\$

РОЗДІЛ III

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1 Загальна характеристика групи хворих

В дослідженні приймали участь 45 пацієнок з ТНРМЗ. Середній вік хворих на момент виявлення РМЗ в групі склав $52,6 \pm 11,8$ років (від 26 до 74 років). Розподіл пацієнок за віком наведено на рис. 3.1.1

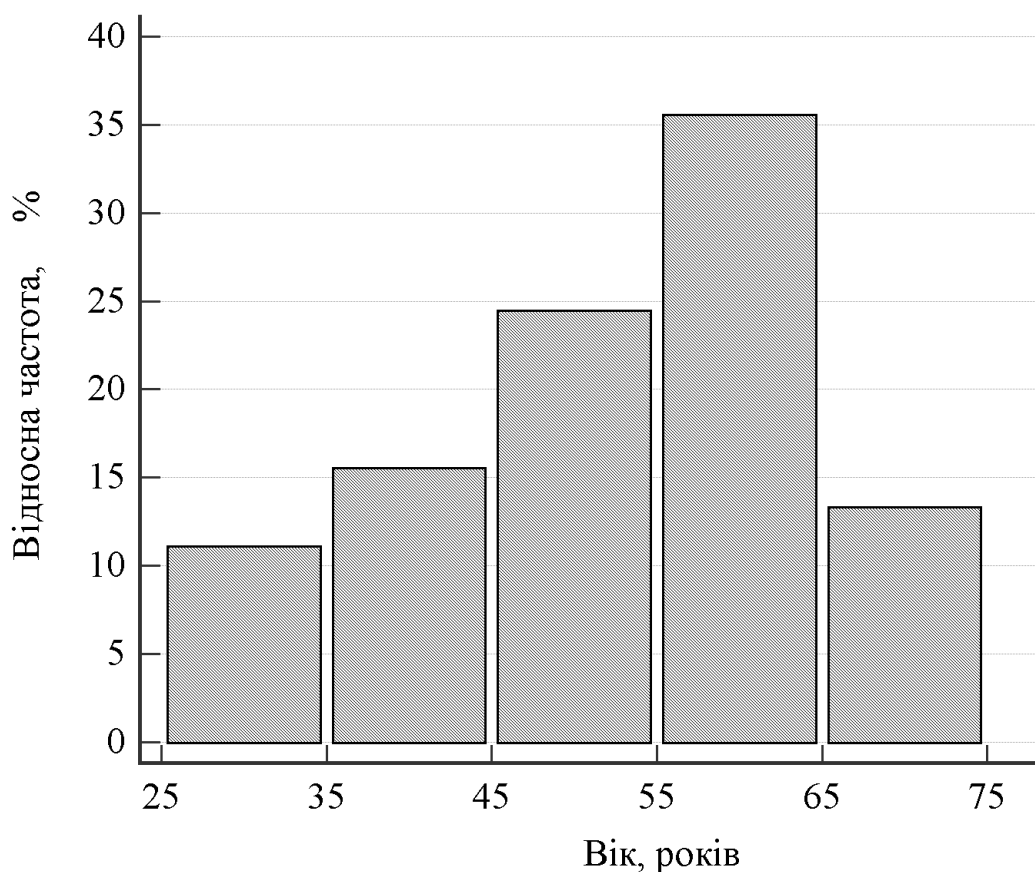


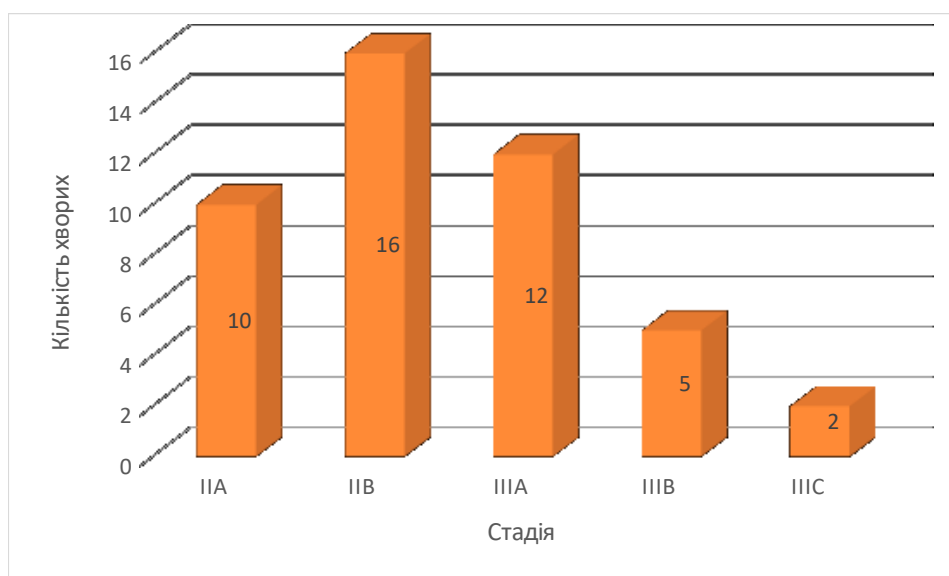
Рисунок 3.1.1 Розподіл пацієнок за віком

У всіх хворих діагностовано ТНРМЗ II та III стадії. Розподіл груп хворих в залежності від стадії РМЗ наведено в таблиці 3.1.1 та на діаграмі 3.1.1.

Таблиця 3.1.1 Розподіл пацієток залежно від стадії, розміру первинної пухлини (T) та наявності метастазів у регіонарних лімфовузлах (N) раку молочної залози

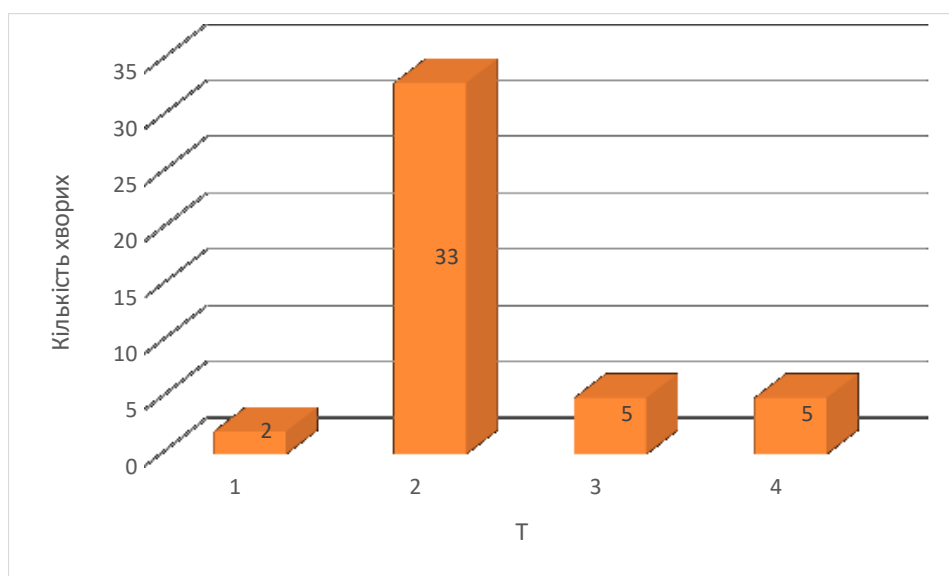
Показник		Кількість абс.	Частота, %
Стадія (n=45)	IIA	10	22,2
	IIB	16	35,6
	IIIA	12	26,7
	IIIB	5	11,1
	IIIC	2	4,4
T (n=45)	1	2	4,4
	2	33	73,4
	3	5	11,1
	4	5	11,1
N (n=45)	0	9	20,0
	1	21	46,7
	2	11	24,4
	3	4	8,9

За стадіями хворі розподілялись наступним чином: IIA стадія (T1N1M0, T2N0M0) – 10 пацієток (22,2%), IIB стадію (T2N1M0, T3N0M0)–16 пацієток (35,6%), IIIA (T0-3N2M0, T3N1-2M0) – 12 пацієток (26,7%), стадія IIIB (T4N0-3M0,) – 5 пацієток (11,1%) та стадія IIIC (T0-4N3M0) – 2 пацієтки (4,4%). Пацієтки з I та IV стадіями в дослідження не включались.



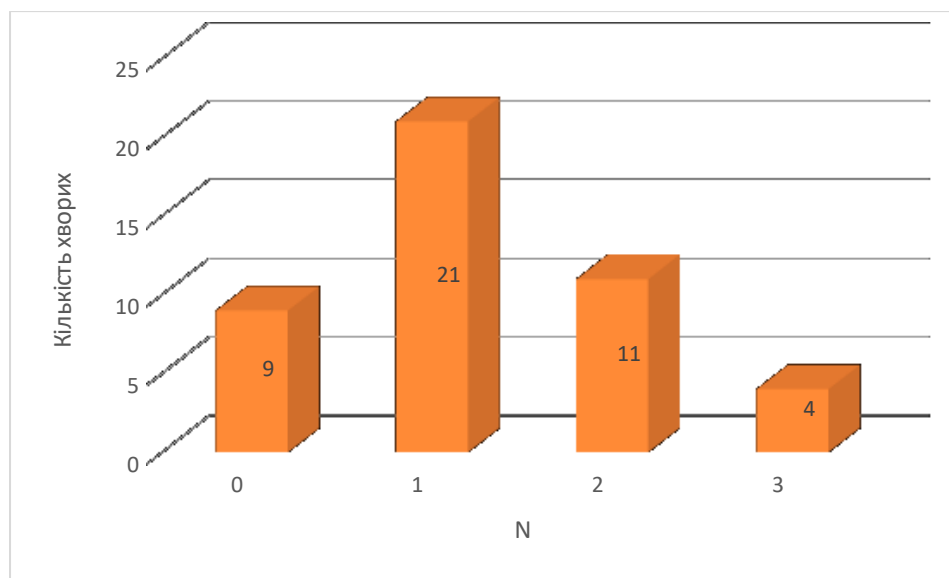
Діаграма 3.1.1. Розподіл пацієток залежно від стадії РМЗ

За розміром первинної пухлини пацієтки розподілились наступним чином: T1 – 2 (4.4%), T2- 33 (73.4%), T3 – 5 (11.1%) та T4- 5 (11.1%). Розподіл пацієток залежно від розміру первинної пухлини наведено у табл. 3.1.1 та на діаграмі 3.1.2.



Діаграма 3.1.2. Розподіл пацієток залежно від розміру первинної пухлини (T).

Також аналізувався розподіл пацієток за наявністю метастазів у регіонарних лімфовузлів, хворі розподілились таким чином: N0 – 9 (20.0%), N1 – 21 (46.7%), N2 – 11 (24.4%), N3 – 4 (8.9%). Розподіл пацієток залежно від наявності метастазів у регіонарних лімфовузлів наведено у табл. 3.1.1 та на діаграмі 3.1.3.



Діаграма 3.1.3. Розподіл пацієток залежно від наявності метастазів у регіонарних лімфовузлах (N).

При гістологічному дослідженні матеріалу трепан-біопсії пухлини молочної залози у більшості пацієток 28 (62,2%) виявляли помірно диференційовані пухлини (G2), у 16 пацієток (33,6%) – низько диференційовані (G3) пухлини і лише у 1 пацієтки (2,2%) була виявлена недиференційована пухлина (G4), високо диференційовані (G1) пухлини не були виявлені у жодної пацієтки. Розподіл пацієток з ТН РМЗ за ступенем диференціації пухлини наведено в табл. 3.1.2.

Таблиця 3.1.2 Розподіл пацієток за ступенем диференціювання пухлини (G)

Показник		Кількість абс.	Частота, %
G (n=45)	2	28	62.2
	3	16	35.6

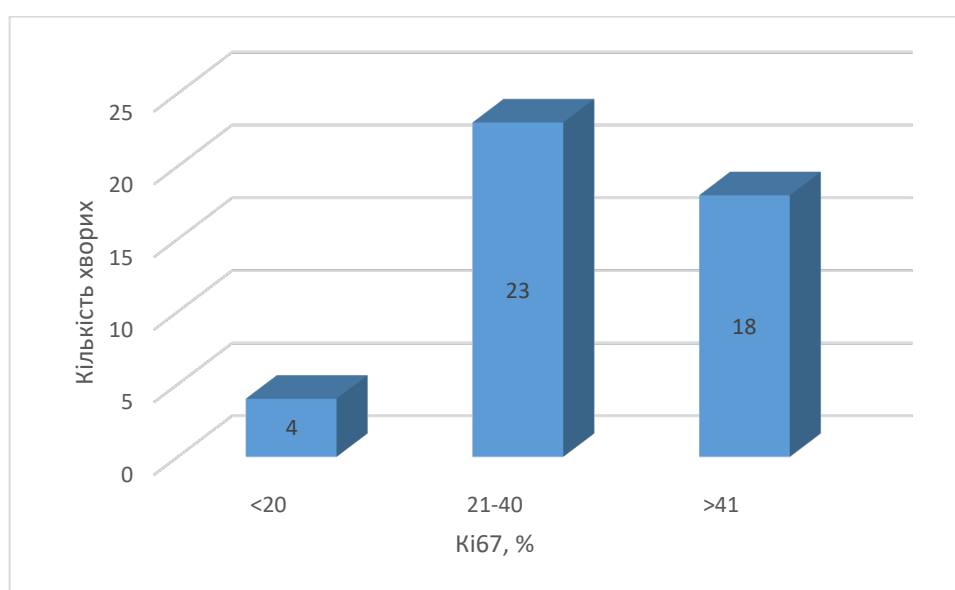
	4	1	2.2
--	---	---	-----

Відмінності за стадією РМЗ, розміром пухлини (Т), наявністю метастатичних регіонарних лімфатичних вузлів (N) та ступенем диференціювання (G) показниками між досліджуваними групами статистично не достовірні, що свідчить про рівномірний розподіл хворих по групам по вищевказаним критеріям.

При імуногістохімічному дослідженні матеріалу трепан-біопсії пухлини молочної залози у більшості пацієток 23 (50%) індекс проліферації Кі67 був в межах від 21% до 40%, у 18 (40.9%) пацієток показник Кі-67 був $\geq 41\%$, та лише у 4 (9.1%) пацієток показник був $\leq 20\%$. Розподіл хворих за індексом проліферації Кі67 наведено у таблиці 3.1.3 та на діаграмі 3.1.5.

Таблиця 3.1.3 Розподіл пацієток за індексом проліферації Кі-67

Показник Кі-67, %	Кількість абс.	Частота, %
≤ 20	4	8.9
21-40	23	51.1
≥ 41	18	40.0

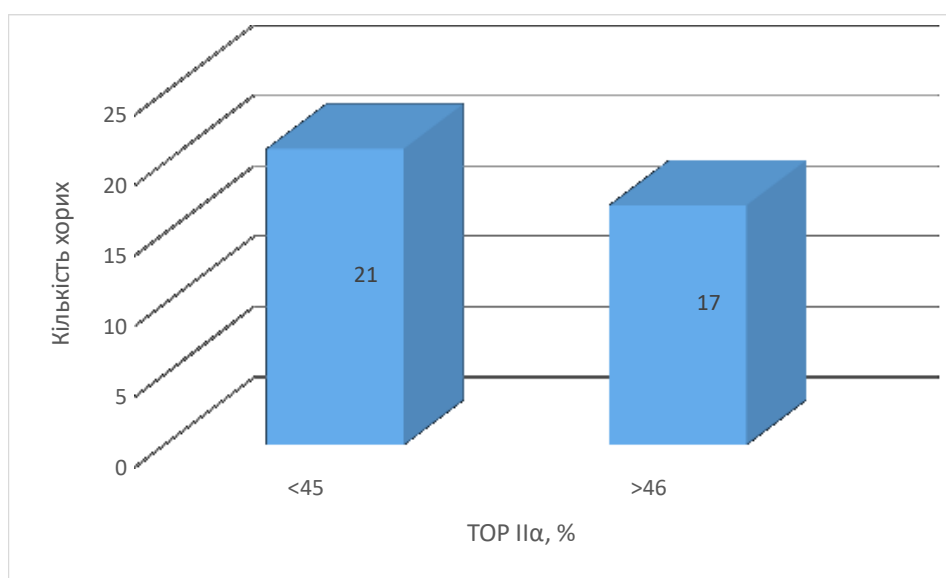


Діаграма 3.1.4. Розподіл пацієток за індексом проліферації Кі-67.

Також при імуногістохімічному дослідженні матеріалу трепан-біопсії пухлини молочної залози у 38 пацієнток досліджувався рівень експресії TOP II α , у більшості пацієнток 21 (55.3%) експресія TOP II α була $\leq 45\%$, та у 17 (44.7%) пацієнток експресія TOP II α була 46% і вище. Розподіл хворих за рівнем експресії TOP II α наведено у таблиці 3.1.4 та на діаграмі 3.1.6.

Таблиця 3.1.4 Розподіл пацієнток за рівнем експресії TOP II α

Показник TOP II α , %	Кількість абс.	Частота, %
≤ 45	21	55.3%
≥ 46	17	44.7%



Діаграма 3.1.5. Розподіл пацієнток за рівнем експресії TOP II α

Був проведений розподіл пацієнтів за індексом проліферації Ki-67 в залежності від рівня експресії TOP II α клітинами первинної пухлини, дані розподілу наведено у таблиці 3.1.5.

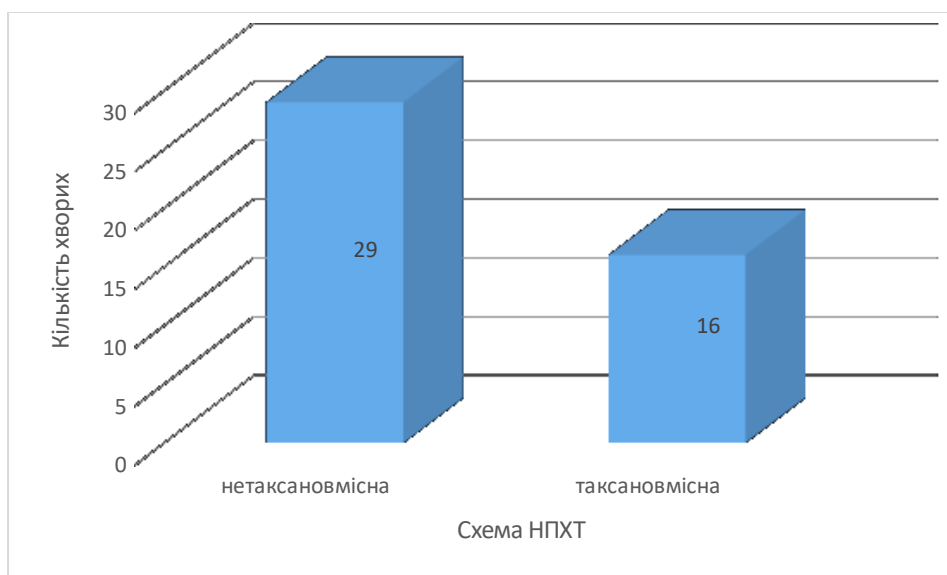
Таблиця 3.1.5. Розподіл пацієток за індексом проліферації Ki67 в залежності від рівня експресії TOP IIa

Ki-67, %	TOP IIa до НПХТ ≤45%, абс. (%)	TOP IIa до НПХТ ≥46%, абс. (%)
≤15	1 (50%)	1 (50%)
16-35	8 (72.7%)	3 (27.3%)
≥36	12 (48%)	13 (52%)

В залежності від того яку схему хіміотерапії отримували пацієтки перед хірургічним лікуванням, пацієток поділяли на тих що отримали нетаксановмісну НПХТ – 29 (64.4%) та тих що отримали таксановмісну НПХТ – 16 (35.6%). Розподіл хворих за схемою НПХТ наведено у таблиці 3.1.6 та проілюстровано на діаграмі 3.1.7.

Таблиця 3.1.6 Розподіл пацієток за схемою неoad'ювантної хіміотерапії.

Схема НПХТ	Кількість абс.	Частота, %
Нетаксановмісна	29	64.4
Таксановмісна	16	35.6



Діаграма 3.1.6. Розподіл хворих за схемою неoad'ювантної хіміотерапії.

При аналізі пацієнтів за кількістю курсів НПХТ пацієнтки розподілились таким чином: пацієнти що отримали менше 4 курсів НПХТ – 14 (31.1%), пацієнтки що отримали 4 курси НПХТ – 27 (60%) та пацієнтки що отримали більше 4 курсів НПХТ – 4 (8.9%). Розподіл хворих за кількістю отриманих курсів НПХТ наведено у таблиці 3.1.7.

Таблиця 3.1.7 Розподіл хворих за кількістю отриманих курсів НПХТ

Кількість курсів НПХТ	Кількість абс.	Частота, %
>4	14	31.1
4	27	60
<6	4	8.9

Отже, в дослідження було включено жінок з ТНРМЗ II -III стадій. Найбільша кількість випадків встановлення діагнозу ТНРМЗ припала на вік 55-65 років, ПВ стадію, ступенем диференціювання G2.

3.2. Роль окремих факторів у досягненні лікувального патоморфозу

Для аналізу зв'язку факторних ознак з ризиком недосягнення ЛП використано метод побудови моделей логістичної регресії. Залежна змінна Y приймає значення 0 у випадку коли ЛП відповідає 3, 4 або 5 ступеням (лікувальний ефект досягнуто, не випадок), Y приймає значення 1 у випадку коли ЛП відповідає 1 або 2 ступеням (лікувальний ефект не досягнуто, випадок). В якості факторів ризику аналіз проводився для 10 показників: вік пацієнта, стадія захворювання, T, N, G, розмір пухлинного вузла до початку НПХТ, рівень Ki-67 до НПХТ, рівень експресії TOP P α до НПХТ, схема НПХТ та кількість курсів НПХТ. В таблиці 3.2.1 наведені результати однофакторного аналізу.

Таблиця 3.2.1 Коефіцієнти однофакторних моделей логістичної регресії прогнозування ризику недосягнення ЛП.

Факторна ознака		Коефіцієнт моделі, $b \pm m$	Рівень значимості відмінності коефіцієнту від 0, p	Показник ВШ (95% ВІ)
Вік		-0,016 \pm 0,027	0,559	—
Стадія	IIA	Референтна		
	IIB	-0,84 \pm 0,87	0,611	—
	IIIA	-1,25 \pm 0,94	0,185	—
	IIIB-C	-0,15 \pm 1,11	0,889	—
T		0,23 \pm 0,45	0,618	—
N		-0,37 \pm 0,37	0,328	—
G		0,86 \pm 0,78	0,271	—

Розмір пухлини до НПХТ		-0,034±0,027	0,216	–
Ki-67 до НПХТ		-0,003±0,020	0,877	–
Експресія TOP Па до НПХТ		-0,001±0,012	0,905	–
Схема НПХТ	нетаксановмісна	Референтна		
	таксановмісна	-1,01±0,66	0,129	–
Кількість курсів НПХТ		-0,26±0,26	0,323	–

При проведенні однофакторного аналізу не було виявлено значущого зв'язку ризику недосягнення ЛП з кожною факторною ознакою окремо (коефіцієнти однофакторних моделей логістичної регресії не відрізнялися від 0, у всіх випадках $p > 0,05$).

Для виявлення можливих багатофакторних зв'язків аналізованих ознак із ризиком недосягнення ЛП було проведено відбір значимих факторів ризику у багатофакторній моделі логістичної регресії. Для проведення відбору використано метод покрокового включення/виключення ознак із порогом включення $p < 0,2$ та порогом виключення $p < 0,3$. При проведенні відбору було виділено 5 факторів ризику: вік пацієнта, N, ступеню G, розмір пухлинного вузла до початку НПХТ та схема НПХТ.

П'ятифакторна модель логістичної регресії прогнозування ризику не досягнення ЛП адекватна (χ^2 -квадрат=25,6 статистично значимо відмінне від 0 на рівні значимості $p < 0,001$). На рисунку 3.2.1 представлено криву операційних характеристик моделі.

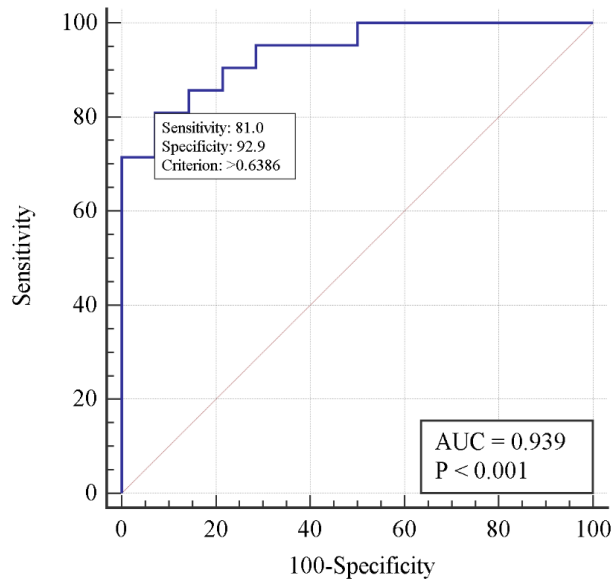


Рис. 3.2.1. ROC-крива п'ятифакторної моделі прогнозування ризику не досягнення ЛП.

Площа під кривою операційних характеристик моделі $AUC = 0,94$ (95% ВІ 0,80–0,99), що свідчить про дуже сильний зв'язок віку пацієнта, наявності метастазів в регіонарних лімфовузлах (N), ступені диференціації G, розміром пухлинного вузла до початку НПХТ та схемою НПХТ із ризиком не досягнення ЛП.

В таблиці 3.2.2 представлені результати багатофакторного аналізу.

Таблиця 3.2.2 Коефіцієнти п'ятифакторної моделі логістичної регресії прогнозування ризику не досягнення ЛП.

Факторна ознака	Коефіцієнт моделі, $b \pm m$	Рівень значимості відмінності коефіцієнту від 0, p	Показник ВШ (95% ВІ)
Вік	0,26±0,11	0,018	1,29 (1,05–1,61)
N	-2,83±1,28	0,027	0,06 (0,01–0,72)

G		3,14±1,56	0,044	23,2 (1,1–496)
Розмір пухлини до НПХТ		-0,15±0,08	0,056	–
Схема НПХТ	нетаксанвмісна	Референтна		
	таксанвмісна	-6,35±2,61	0,015	0,002 (0,000–0,290)

При проведенні багатофакторного аналізу виявлено зростання ($p=0,018$) ризику недосягнення ЛП з віком пацієнта, ВШ = 1,29 (95% ВІ 1,05–1,61) на кожен рік (при стандартизації за N, ступенем G, розміром пухлинного вузла до початку НПХТ та схемою НПХТ.). Виявлено зниження ($p=0,027$) ризику недосягнення із ЛП зростанням N, ВШ = 0,06 (95% ВІ 0,01–0,72), у середньому, на кожен градацію показника (при стандартизації за віком, ступенем G, розміром пухлинного вузла до початку НПХТ та схемою НПХТ). При зростанні ступеню G ризик недосягнення ЛП зростає ($p=0,044$), ВШ = 23,2 (95% ВІ 1,1–496), у середньому, на кожен градацію показника (при стандартизації за віком, N, розміром пухлини до НПХТ та схемою НПХТ). При використанні таксановмісної НПХТ недосягнення ЛП буде нижчим ($p=0,015$), ВШ = 0,002 (95% ВІ 0,000–0,290) у порівнянні із використанням нетаксановмісної НПХТ (при стандартизації за N, ступенем G, розміром пухлини до НПХТ та схемою НПХТ).

Було проведено аналіз зв'язку показника TOP Па до НПХТ з розміром пухлини до НПХТ та показником Ki-67 до НПХТ методом кореляційного аналізу. При проведенні аналізу не виявлено зв'язку показника TOP Па до НПХТ з розміром пухлини до НПХТ та показником Ki-67 до НПХТ, показник кореляції Спірмена не відрізняється статистично значимої від 0 ($p=0,875$ та $p=0,359$ відповідно).

Проведено аналіз зв'язку показника TOP Па до НПХТ з стадією процесу, показниками розміру пухлини (T), наявністю метастазів у регіонарних лімфовузлах (N) та ступенем диференціації (G). Дані аналізу наведені у таблиці 3.2.3.

При проведенні аналізу не виявлено зв'язку показника TOP Па до НПХТ з стадією процесу, показниками T та N ($p > 0,05$ у всіх випадках). Встановлена більш висока ($p = 0,047$) експресія TOP Па до НПХТ у пацієнтів із G3-4 у порівнянні з пацієнтами із G2 (рисунок 3.2.2.).

Таблиця 3.2.3. Зв'язок показника TOP Па до НПХТ з стадією процесу, показниками T, N та G.

Факторна ознака		TOP Па до НПХТ	Рівень значимості відмінності, p
Стадія	2A (n=8)	36,5±31,3	0,529
	2B (n=14)	50,4±24,8	
	3A (n=11)	41,8±32,7	
	3B-C (n=5)	58±27,7	
T	1 (n=2)	35±21,2	0,945
	2 (n=28)	46,5±30	
	3 (n=4)	43,8±34,7	
	4 (n=4)	50±24,5	
N	0 (n=7)	34,6±33,2	0,265
	1 (n=19)	47,6±25,4	
	2 (n=10)	44±31,3	
	3 (n=2)	80±14,1	
G	2 (n=23)	39,8±26,3	0,047
	3-4 (n=15)	59,8±28,2	

Примітки: для проведення аналізу використано критерій ANOVA.

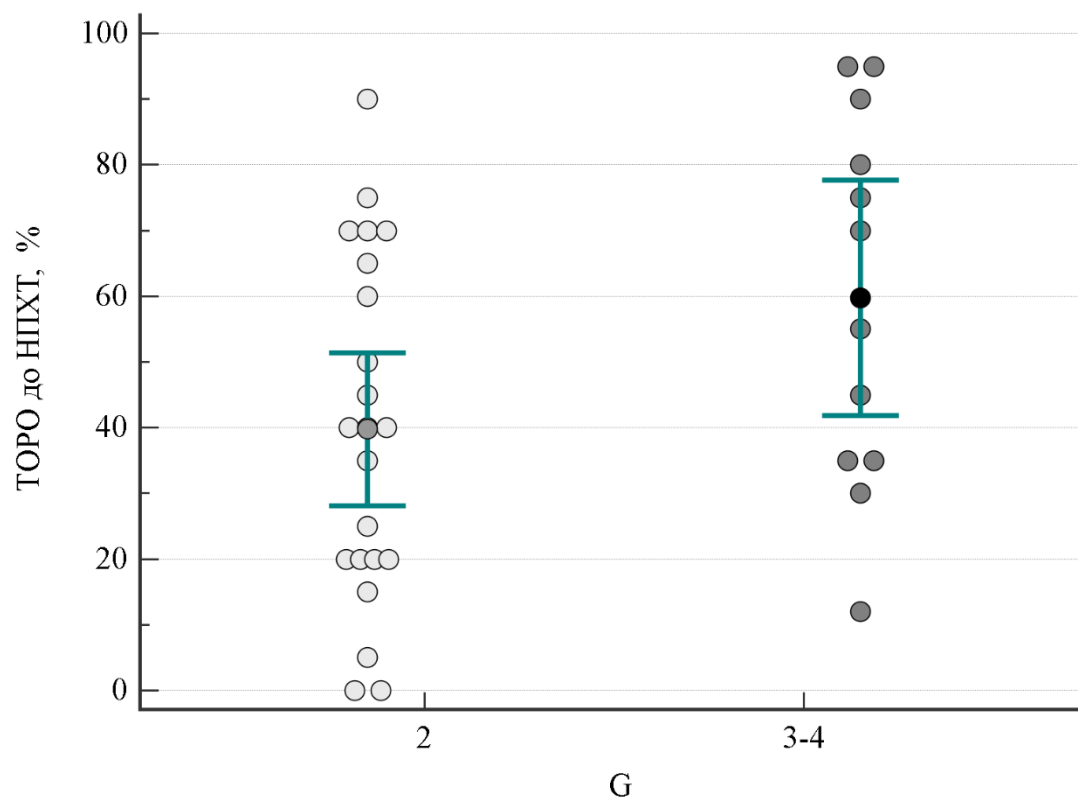


Рис. 3.2.2. Розподіл рівня TOP Па до НПХТ для різних ступеней диференціації пухлини, указане середнє значення та 95% ВІ

Було проведено аналіз зв'язку ризику недосягнення ЛП з такими показниками після лікування, як Ki-67 та TOP Па. Результати аналізу наведені у таблиці 3.2.4.

Таблиця 3.2.4. Показники Ki67 та ТОРО після лікування для групи із досягнутим і не досягнутим ЛП, Me (Q_I – Q_{III}).

Показник	Група із досягнутим ЛП, (n=17)	Група із не досягнутим ЛП, (n=28)	Рівень значимості відмінності, p
Ki-67 після НПХТ	1 (0 – 30)	40 (22,5 – 48,75)	0,003

TOP II α після НПХТ	0 (0 – 0)	6 (0 – 32,5)	0,032
Delt Ki-67	-37,5 (-50 – -5)	-10,5 (-20 – 5)	0,026
Delt TOP II α	-65 (-71,25 – -20)	-17,5 (-70 – 0)	0,285

Примітка: для проведення порівняння використано критерій Манна–Уїтні.

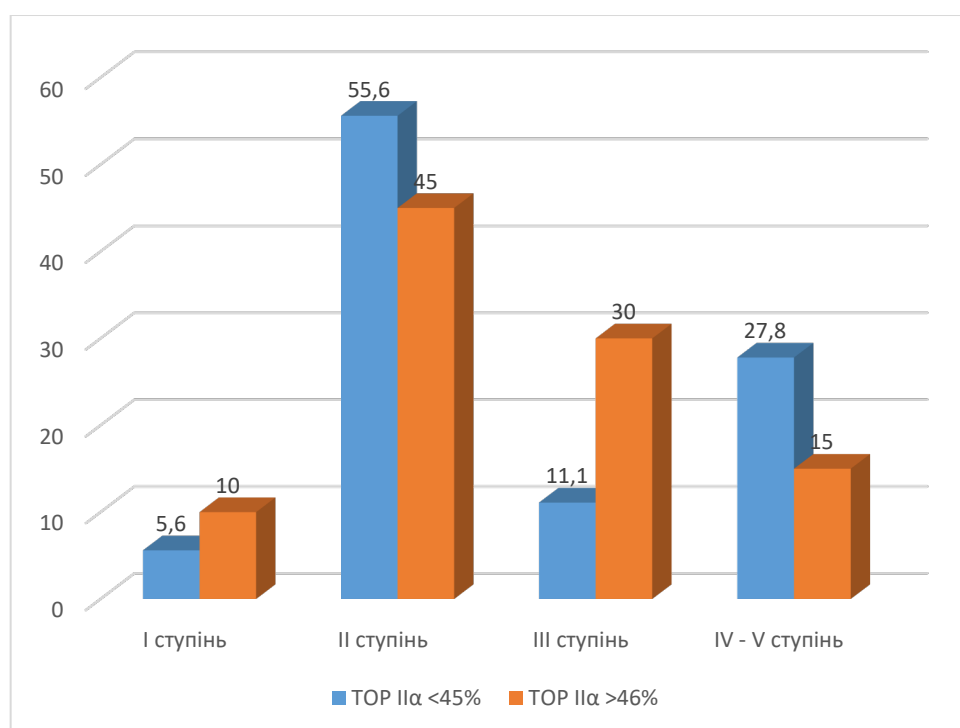
При аналізі було виявлено, що у групі пацієнтів із досягнутим ЛП зниження рівня Ki67 після НПХТ (в середньому на -37,5% міжквартильний інтервал (-50% – -5%)) в більшій мірі ($p=0,026$), ніж для групи пацієнтів із недосягнутим ЛП (в середньому на -10,5% міжквартильний інтервал (-20% – +5%)). Для групи пацієнтів із досягнутим ЛП виявлено зниження рівня експресії TOP II α після НПХТ (в середньому на -65% міжквартильний інтервал (-71,25% – -20%)) що не відрізняється ($p=0,285$) від групи пацієнтів із не досягнутим ЛП (в середньому на -17,5% міжквартильний інтервал (-70% – 0%)).

Ефективність лікування оцінювали клінічно, патоморфологічно та за змінами індексу проліферації Ki67. Розподіл пацієнток залежно від ефективності НПХТ ТНРМЗ наведено в таблиці 3.2.5 та на діаграмі 3.2.1.

Таблиця 3.2.5. Розподіл хворих з ТНРМЗ в залежності від ефективності проведеної неoad'ювантної поліхіміотерапії.

Ефект проведеного лікування	TOP II α \leq 45%		TOP II α \geq 46%	
	n	%	n	%
Лікувальний патоморфоз				
I ступінь	1	5.6	2	10.0

II ступінь	10	55.6	9	45.0
III ступінь	2	11.1	6	30.0
IV - V ступінь	5	27.8	3	15.0
Зміна індексу проліферації клітин залишкової пухлини (Ki-67)				
Зменшення більш ніж на 50%	7	50	8	53.3
Зменшення менш ніж на 50%	3	21.4	3	20
Без змін або збільшення	4	28.6	4	26.7



Діаграма 3.2.1. Розподіл хворих за рівнем експресії TOP II в залежності від патоморфологічної оцінки ефективності НПХТ.

45.0% пацієнтів з гіперекспресією TOP II ($\geq 46\%$) досягли ЛП III-V ступенів проти 38.9 % пацієнтів з експресією TOP II $\leq 45\%$. Динаміка змін Ki-67 не показала суттєвої різниці між групами пацієнок. Статистично

достовірної різниці у розподілі в залежності від ступеню ЛП ($p=0,825$) та від змін індексу Ki-67 ($p=0,764$) серед груп не виявлено.

Підсумовуючи результати статистичного аналізу факторів, що впливають на лікувальний патоморфоз, виявлено зростання ($p=0,018$) ризику недосягнення ЛП з віком пацієнта, ВШ = 1,29 (95% ВІ 1,05–1,61) на кожен рік; зниження ($p=0,027$) ризику недосягнення із ЛП зростанням N, ВШ = 0,06 (95% ВІ 0,01–0,72), у середньому, на кожен градацію показник; при зростанні ступеню G ризик недосягнення ЛП зростає ($p=0,044$), ВШ = 23,2 (95% ВІ 1,1–496), у середньому, на кожен градацію показника; при використанні таксановмісної НПХТ недосягнення ЛП буде нижчим ($p=0,015$), ВШ = 0,002 (95% ВІ 0,000–0,290) у порівнянні із використанням нетаксановмісної НПХТ.

3.3. Вплив окремих факторів на досягнення органозберігаючого хірургічного лікування

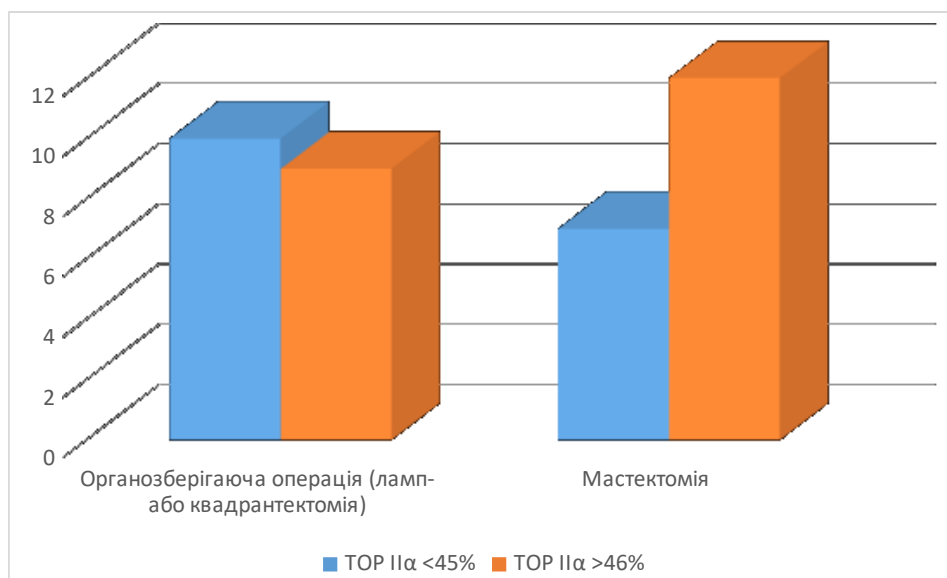
Кількість органозберігаючих операцій серед пацієток є супутнім показником ефективності передопераційного лікування.

Проведено аналіз розподілу пацієток залежно від проведеного об'єму хірургічного лікування, дані наведені в таблиці 3.3.1. та на діаграмі 3.3.1.

Таблиця 3.3.1. Розподіл пацієток за рівнем експресії TOP Па залежно від об'єму хірургічного втручання.

Об'єм оперативного втручання	TOP Па $\leq 45\%$	TOP Па $\geq 46\%$
Органозберігаюча операція (лампа- або квадрантектomia)	10 (58.8%)	9 (42.9%)
Мастектомія	7 (41.2%)	12 (57.1%)
Всього	17	21

Органозберігаючі операції було виконано у 58.8% пацієток з рівнем TOP II α \leq 45% проти 42.9% пацієток з рівнем TOP II α \geq 46%. А мастектомію було виконано у 41.2% пацієток з рівнем TOP II α \leq 45% проти 57.1% з групи пацієток з рівнем TOP II α \geq 46%.



Діаграма 3.3.1. Розподіл пацієток за рівнем експресії TOP II α залежно від об'єму хірургічного втручання.

Виконано аналіз факторних ознак, що пов'язані із ризиком мастектомії у пацієток. Було використано метод побудови моделей логістичної регресії. В якості факторних ознак було відібрано та проаналізовано 13 факторів: вік, стадія РМЗ, Т, N, розмір пухлини до НПХТ, рівень Ki-67 до НПХТ, рівень ТОРО II α до НПХТ, рівень Ki-67 після НПХТ, рівень ТОРО II α після НПХТ, ступінь ЛП, схема НПХТ, кількість курсів НПХТ.

При проведенні аналізу факторних ознак, пов'язаних із ризиком мастектомії вихідна змінна Y=1 (n=24 пацієнти) яким була виконана мастектомія та вихідна змінна Y=0 (n=21 пацієнти) яким було виконано органозберігаючу операцію. У 5 (11,1%) пацієток початково були

протипокази до виконання органозберігаючої операції у зв'язку з розповсюдженням пухлини на шкіру молочної залози (критерій T4 за класифікацією TNM).

В таблиці 3.3.2. представлено результати однофакторного аналізу.

Таблиця 3.3.2. Коефіцієнти однофакторних моделей логістичної регресії прогнозування ризику мастектомії.

Факторна ознака		Значення коефіцієнту моделі, $b \pm m$	Рівень значимості відмінності коефіцієнту моделі від 0, p	Показник відношення шансів, ВШ (95% ВІ)
Вік		0,026±0,026	0,316	–
Стадія	2A	Референтний		
	2B	1,39±0,94	0,138	–
	3A	1,72±0,98	0,080	–
	3B-C	21,8	<0,001	Всі
T	1-2	Референтний		
	3-4	21,8	<0,001	Всі
N	0	Референтний		
	1	1,54±0,92	0,092	–
	2	1,44±1,00	0,153	–
	3	21,6	<0,001	Всі
Розмір пухлини до НПХТ		0,080±0,032	0,012	1,08 (1,02–1,15)
Ki-67 до НПХТ		–0,009±0,019	0,614	–
ТОРО IIα до НПХТ		0,002±0,011	0,895	–
Ki-67 після НПХТ		0,020±0,015	0,200	–
ТОР IIα після НПХТ		0,012±0,027	0,656	–

ЛП		-0,55±0,36	0,123	-
тип схеми НПХТ	нетаксановміс на	Референтний		
	таксановмісна	-2,43±0,76	0,001	0,09 (0,02–0,39)
Кількість курсів НПХТ		-0,12±0,24	0,628	-

При проведенні однофакторного аналізу не виявлено зв'язку ризику мастектомії з віком, рівнем Ki-67 до НПХТ, рівнем TOP Па до НПХТ, рівнем Ki-67 після НПХТ, рівнем TOP Па після НПХТ, ЛП, типом схеми НПХТ ($p > 0,05$ у всіх випадках). Виявлено зростання ризику мастектомії при зростанні стадії РМЗ, Т, N ($p < 0,05$ у всіх випадках), для стадії 3В-С, або Т=3 чи 4, або N=3 всім хворим була виконана мастектомія.

Виявлено зростання ($p = 0,012$) ризику мастектомії із зростанням розміру пухлини до НПХТ, ВШ = 1,08 (95% ВІ 1,02–1,15) на кожен міліметр зростання розміру пухлини.

Виявлено також зниження ($p = 0,001$) ризику мастектомії для пацієнтів які отримали таксановмісні схеми НПХТ, ВШ = 0,09 (95% ВІ 0,02–0,39) у порівнянні з пацієнтами з нетаксановмісними схемами НПХТ.

На другому етапі аналізу ризику необхідності виконання мастектомії, для виявлення сукупності ознак, методом побудови багатофакторних моделей логістичної регресії було проведено відбір мінімального набору показників пов'язаних із ризиком. При проведенні аналізу було виділено два значимих фактори: розмір пухлини до НПХТ та схема НПХТ. Двофакторна модель, побудована на виділених ознаках адекватна (хі-квадрат=19,0 при двох ступенях свободи, $p < 0,001$). На рисунку 3.3.1 наведено криву операційних характеристик моделі. Площа під ROC-кривою, AUC = 0,85 (95% ВІ 0,71–0,94), що свідчить про наявність сильного

зв'язку ризику необхідності виконання мастектомії з розміром пухлини до НПХТ та типом схеми НПХТ.

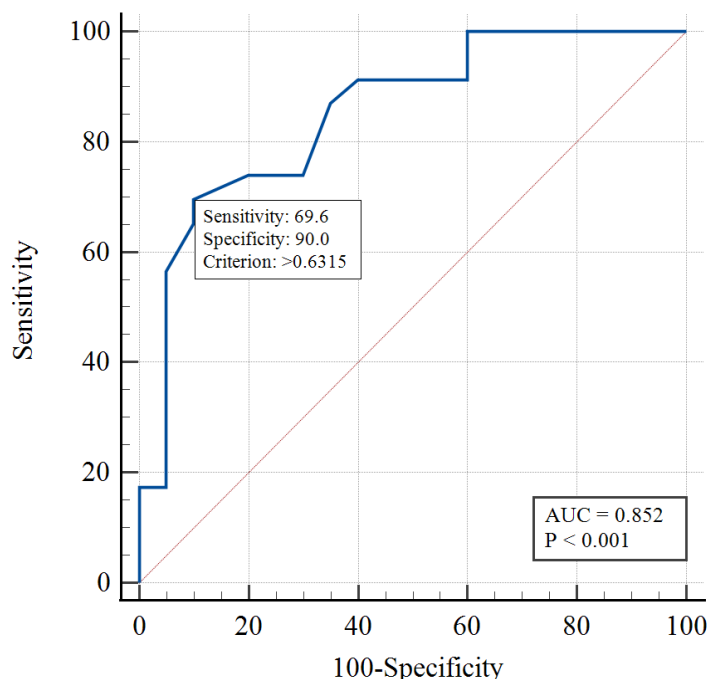


Рис. 3.3.1. Крива операційних характеристик двофакторної моделі прогнозування ризику необхідності виконання мастектомії.

В таблиці 3.3.3 представлені результати багатofакторного аналізу.

Таблиця 3.3.3. Коефіцієнти двофакторної моделі логістичної регресії прогнозування ризику мастектомії.

Факторна ознака		Значення коефіцієнт у моделі, $b \pm m$	Рівень значимості відмінності коефіцієнту моделі від 0, p	Показник відношення шансів, ВШ (95% ВІ)
Розмір пухлини до НПХТ (T)		0,079±0,03 9	0,040	1,08 (1,00–1,17)
тип схеми НПХТ	нетаксановмісна	Референтний		
	таксановмісна	-2,35±0,83	0,004	0,09 (0,02–0,48)

При проведенні багатофакторного аналізу виявлено зростання ($p=0,040$) ризику мастектомії із зростанням розміру пухлини до НПХТ, ВШ = 1,08 (95% ВІ 1,00–1,17) на кожен міліметр зростання розміру пухлини (при стандартизації за типом схеми НПХТ). Виявлено зниження ($p=0,004$) ризику мастектомії для таксановмісних схем НПХТ, ВШ = 0,09 (95% ВІ 0,02–0,48) у порівнянні з нетаксановмісними схемами НПХТ (при стандартизації за розміром пухлини до НПХТ).

При виборі оптимального (за Youden Index) критичного порогу, $Y_{crit}=0,6315$ чутливість двофакторної моделі логістичної регресії прогнозування ризику мастектомії дорівнює 69,6% (95% ВІ 47,1% – 86,8%), специфічність – 90% (95% ВІ 68,3% – 98,8%), прогностичність +PV= 88,9% (95% ВІ 67,6% – 96,8%), прогностичність –PV= 72,0% (95% ВІ 57,7% – 82,9%).

Отже, при аналізі факторів впливу на об'єм хірургічного лікування виявлено зростання ($p=0,040$) ризику мастектомії із зростанням розміру пухлини до НПХТ, ВШ = 1,08 (95% ВІ 1,00–1,17) та зниження ($p=0,004$) ризику мастектомії для таксановмісних схем НПХТ, ВШ = 0,09 (95% ВІ 0,02–0,48) у порівнянні з нетаксановмісними схемами НПХТ.

3.4. Аналіз безрецидивної виживаності

При порівнянні безрецидивної виживаності пацієнтів, що отримали таксановмісні схеми НПХТ та тих що отримали нетаксановмісні схеми НПХТ була виявлена статистично значуща відмінність кривих ($p=0.031$ за логранговим критерієм). Так безрецидивна виживаність у пацієнтів, що отримали нетаксановмісні схеми НПХТ була нижчою (медіана склала 25.0 місяців (95% ВІ 11.6 місяців - 59.3 місяців), ніж у пацієнтів, що отримали таксановмісні схеми НПХТ (медіана не досягнута) (рис. 3.4.1.).

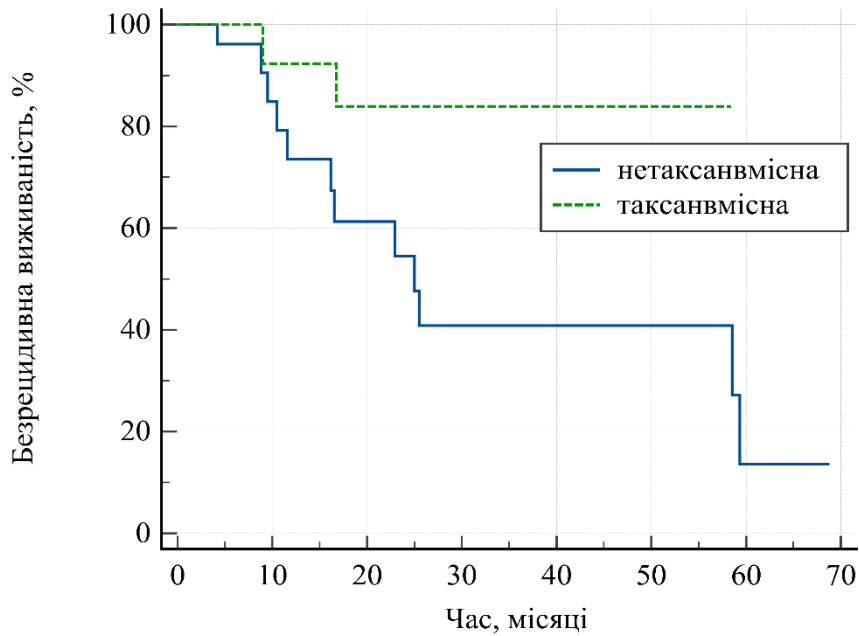


Рис. 3.4.1. Криві безрецидивної виживаності в залежності від отриманих схем НПХТ.

Аналіз безрецидивної виживаності пацієнтів з рівнем експресії TOP П α до НПХТ $\leq 45\%$ та з рівнем TOP П α $\geq 46\%$ не показав статистично значущої відмінності ($p=0.090$) (рис. 3.4.2).

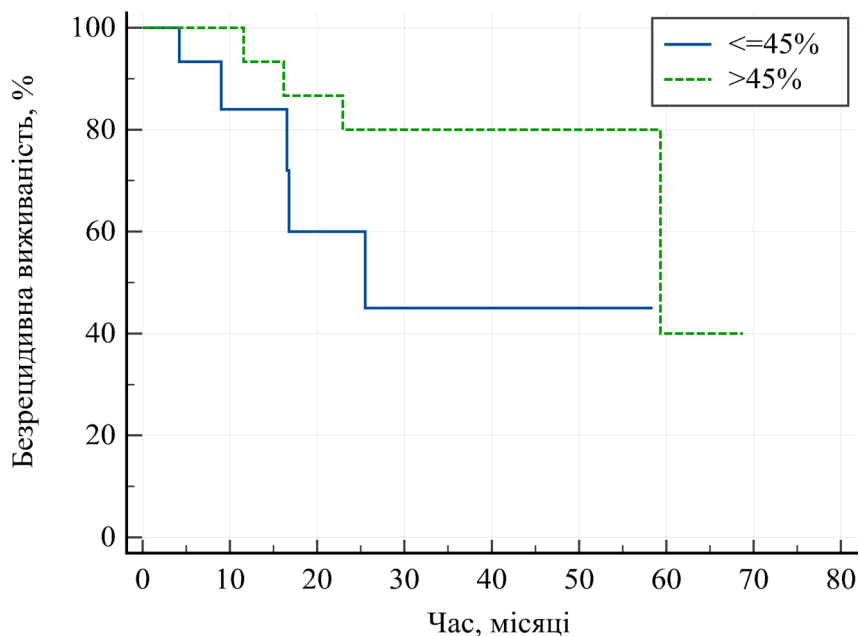


Рис. 3.4.2. Криві безрецидивної виживаності в залежності від рівня експресії TOP П α .

З використанням моделей пропорційних інтенсивностей Кокса було проаналізовано вплив віку при постановці діагнозу, стадії захворювання, розміру первинної пухлини, ураження периферичних лімфовузлів, ступеню диференціювання пухлини, індексу проліферації, рівня експресії топоізомерази 2 альфа, ступеню лікувального патоморфозу, типу та кількості курсів НПХТ, об'єму оперативного втручання та кількості курсів АПХТ на безрецидивну виживаність. В таблиці 3.4.1 представлено аналіз коефіцієнтів однофакторних моделей Кокса прогнозування ризику рецидиву.

Таблиця 3.4.1. Коефіцієнти однофакторних моделей пропорційних інтенсивностей Кокса прогнозування ризику виникнення рецидиву.

Факторна ознака		Значення коефіцієнт у моделі, $b \pm m$	Рівень значимості відмінності коефіцієнту моделі від 0, p	Показник відносного ризику, ВР (95% ВІ)
Вік, роки		0,038±0,03 2	0,235	–
Стадія	2 А	Референтний		
	2 В	0,18±0,83	0,827	–
	3 А	-0,23±0,93	0,805	–
	3 В	0,46±1,26	0,712	–
	3 С	2,08±1,08	0,054	–
Т		0,70±0,37	0,058	–
N		0,43±0,35	0,215	–
G		-1,51±0,79	0,024	0,22 (0,05–1,03)

Розмір пухлини до НПХТ, мм		0,016±0,01 5	0,305	–
Кі-67 до НПХТ, %		0,000±0,01 9	0,981	–
TOP IIa до НПХТ, %		– 0,032±0,01 7	0,057	–
ЛП		–0,59±0,32	0,065	–
тип схеми НПХТ	нетаксановмісна	Референтний		
	таксановмісна	–1,07±0,78	0,170	–
Кількість курсів НПХТ		0,22±0,21	0,282	–
Операція	ОЗО	Референтний		
	МЕ	1,24±0,66	0,059	–
Кількість курсів АПХТ		–0,45±0,23	0,052	–

При проведенні однофакторного аналізу виявлено зниження ($p=0,024$) ризику виникнення рецидиву при зростанні G, $BP=0,22$ (95% ВІ 0,05–1,05) на кожен пункт. Виявлено тенденцію ($p>0,05$), див. Таблицю 3.4.1) до зростання ризику виникнення рецидиву при зростанні розміру пухлини (T), та при проведенні операції МЕ та зниження ризику виникнення рецидиву при зростанні рівня TOP IIa до НПХТ, зростанні ступеню ЛП і при збільшенні кількості курсів АПХТ.

При проведенні багатфакторного аналізу виділено 3 незалежні факторні ознаки, пов'язані з ризиком виникнення рецидиву: розмір пухлини (T), рівень TOP IIa до НПХТ та кількість курсів АПХТ. Трифакторна модель пропорційних інтенсивностей Кокса прогнозування ризику виникнення рецидиву адекватна ($\chi^2=13,6$ при трьох ступенях

свободи, $p=0,004$). В таблиці 3.4.2 представлено аналіз коефіцієнтів трифакторної моделі прогнозування ризику рецидиву.

Таблиця 3.4.2. Коефіцієнти трифакторної моделі пропорційних інтенсивностей Кокса прогнозування ризику виникнення рецидиву.

Факторна ознака	Значення коефіцієнту моделі, $b \pm m$	Рівень значимості відмінності коефіцієнту моделі від 0, p	Показник відносного ризику, ВР (95% ВІ)
T	1,05±0,58	0,072	–
ТОР Па до НПХТ, %	–0,044±0,021	0,040	0,95 (0,92–0,99)
Кількість курсів АПХТ	–0,71±0,30	0,017	0,49 (0,27–0,88)

Для побудованої трифакторної моделі значення показника конкордації C-index=0,83 (95% ВІ 0,73–0,93), що свідчить про сильний зв'язок показників розміру первинної пухлини (T), рівня ТОР Па до НПХТ та кількості курсів АПХТ з імовірністю виникнення рецидиву. Виявлено зниження ($p=0,040$) ризику виникнення рецидиву при зростанні рівня ТОР Па до НПХТ, в середньому ВР= 0,95 (95% ВІ 0,92–0,99) на кожен відсоток зростання ТОР Па до НПХТ (при стандартизації за розміром первинної пухлини (T) та кількістю курсів АПХТ). Виявлено зниження ($p=0,017$) ризику виникнення рецидиву при зростанні кількості курсів АПХТ, в середньому ВР= 0,49 (95% ВІ 0,27–0,88) на кожен додатковий курс (при стандартизації за розміром пухлини (T) та рівнем ТОР Па до НПХТ).

Аналіз безрецидивної виживаності показав вплив схеми хіміотерапії, у пацієнтів, що отримали таксановмісні схеми НПХТ безрецидивна виживаність вища ($p=0.031$) ніж у пацієнтів, що отримали нетаксановмісні

схеми НПХТ. Також, Виявлено зниження ($p=0,040$) ризику виникнення рецидиву при зростанні рівня TOP II α до НПХТ.

3.5. Аналіз загальної виживаності

При порівнянні загальної виживаності пацієнтів, що отримали таксановмісні схеми НПХТ та тих що отримали нетаксановмісні схеми НПХТ була виявлена статистично значуща відмінність кривих виживаності ($p=0.027$ за логранговим критерієм). Так виживаність у пацієнтів, що отримали нетаксановмісні схеми НПХТ була нижчою (медіана виживання склала 44.3 місяці (95% ВІ 20.6 місяців - 58.4 місяців), п'ятирічна виживаність склала 29%+-15%) ніж у пацієнтів, що отримали таксановмісні схеми НПХТ (медіана виживання не досягнута, п'ятирічна виживаність склала 100%) (рис. 3.5.1).

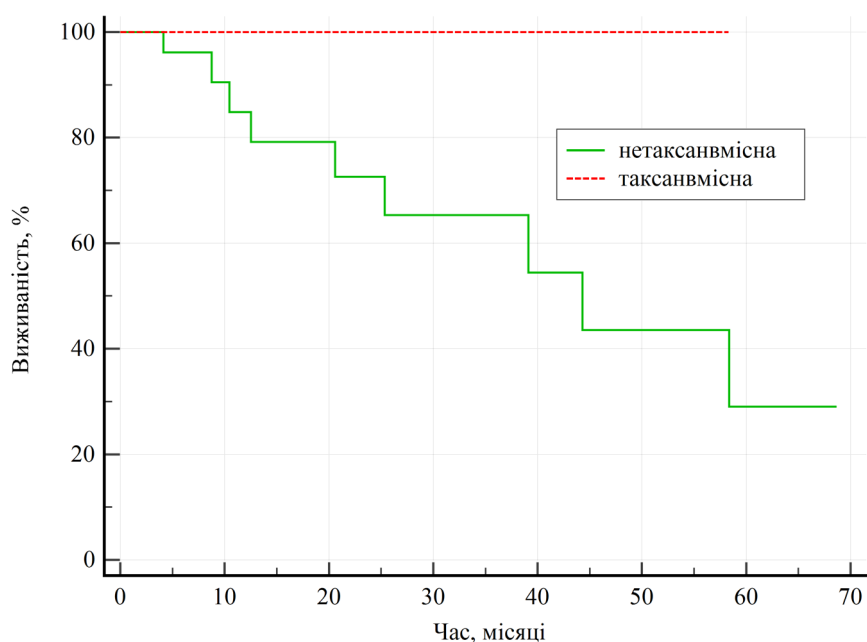


Рис. 3.5.1. Криві загальної виживаності в залежності від отриманих схем НПХТ.

При аналізі загальної виживаності пацієнтів з рівнем експресії TOP II α до НПХТ $\leq 45\%$ та з рівнем TOP II α $\geq 46\%$ не було виявлено статистично значущої відмінності ($p=0.083$) (рис. 3.5.2).

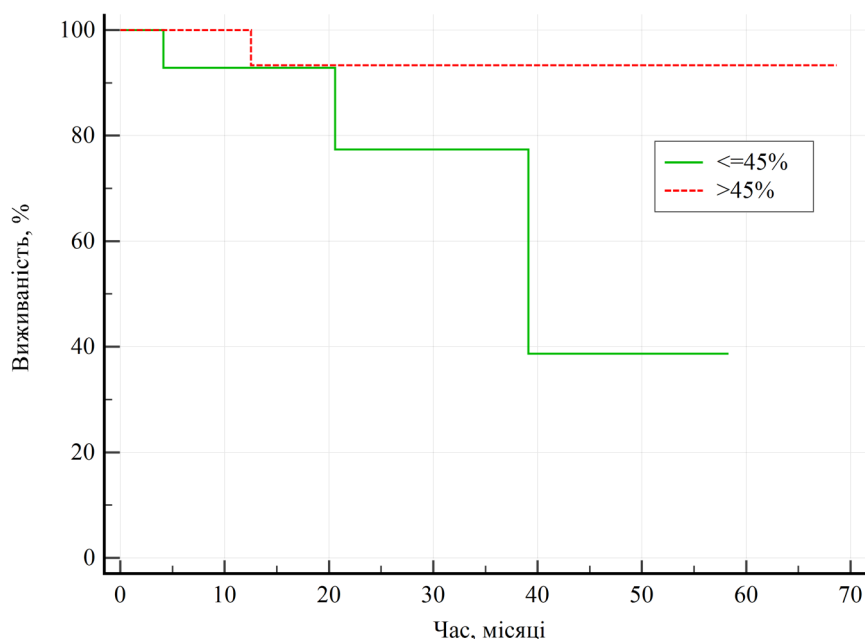


Рис. 3.5.2. Криві загальної виживаності в залежності від рівня експресії TOP 2α.

З використанням моделей пропорційних інтенсивностей Кокса було проаналізовано вплив віку при постановці діагнозу, стадії захворювання, розміру первинної пухлини, ураження периферичних лімфовузлів, ступеню диференціювання пухлини, індексу проліферації, рівня експресії топоізомерази 2 альфа, ступеню лікувального патоморфозу, типу та кількості курсів НПХТ, об'єму оперативного втручання та кількості курсів АПХТ на загальну виживаність. В таблиці 3.5.1 наведено аналіз коефіцієнтів однофакторних моделей Кокса прогнозування ризику смерті пацієнта.

Таблиця 3.5.1. Коефіцієнти однофакторних моделей пропорційних інтенсивностей Кокса прогнозування ризику смерті пацієнта.

Факторна ознака		Значення коефіцієнту моделі, $b \pm m$	Рівень значимості відмінності коефіцієнту моделі від 0, p	Показник відносного ризику, ВР (95% ВІ)
Вік, роки		0,052±0,040	0,188	—
Стадія	2 А	Референтний		

	2 B	0,66±1,13	0,561	–
	3 A	–0,61±1,43	0,671	–
	3 B	1,51±1,51	0,318	–
	3 C	2,47±1,32	0,061	–
	T	1,08±0,47	0,021	2,96 (1,18–7,42)
	N	0,53±0,42	0,204	–
	G	–1,92±1,10	0,080	–
	Розмір пухлини до НПХТ, мм	0,005±0,019	0,779	–
	Ki-67 до НПХТ, %	– 0,031±0,026	0,234	–
	TOP IIα до НПХТ, %	– 0,040±0,026	0,125	–
	ЛП	–0,60±0,40	0,132	–
тип схеми НПХТ	нетаксановмісна	Референтний		
	таксановмісна	–13,2	0,007	Ні одного летального випадку
	Кількість курсів	0,20±0,28	0,486	–
Операція	ОЗО	Референтний		
	ME	2,05±1,07	0,056	–
	Кількість курсів АПХТ	–0,32±0,31	0,297	–

При проведенні однофакторного аналізу виявлено зростання ($p=0,021$) ризику виникнення рецидиву при зростанні розміру пухлини (T), $VP= 2,96$ (95% ВІ 1,18–7,42) на кожен пункт. Для таксановмісної схеми НПХТ летальних випадків не спостерігалось. Виявлено тенденцію ($p=0,056$, Таблиця 3.5.1) до зростання ризику виникнення рецидиву у пацієнтів які

отримали хірургічне лікування. Даних за значущі відмінності у ризиках рецидиву при органозберігаючих операціях та мастектомія отримано не було. Таке зростання ризику вказує на необхідність НПХТ у пацієнтів з ТНРМЗ та важливість досягнення повного лікувального патоморфозу, що у комплексі з хірургічним лікуванням буде мати важливі впливи на ризики пов'язані з перебігом ТНРМЗ.

При проведенні багатофакторного аналізу виділено 2 незалежні факторні ознаки, пов'язані з ризиком смерті пацієнта: розмір первинної пухлини та рівень TOP IIa до НПХТ. Двофакторна модель пропорційних інтенсивностей Кокса прогнозування ризику смерті пацієнта адекватна (хі-квадрат=7,3 при двох ступенях свободи, $p=0,026$).

В таблиці 3.5.2 наведено аналіз коефіцієнтів двофакторної моделі прогнозування смерті пацієнта.

Таблиця 3.5.2. Коефіцієнти двофакторної моделі пропорційних інтенсивностей Кокса прогнозування ризику смерті пацієнта.

Факторна ознака	Значення коефіцієнту моделі, $b \pm m$	Рівень значимості відмінності коефіцієнту моделі від 0, p	Показник відного ризику, ВР (95% ВІ)
T	1,56±0,83	0,060	–
TOP IIa до НПХТ, %	-0,051±0,030	0,084	–

Для побудованої двофакторної моделі значення показника конкордації C-index=0,91 (95% ВІ 0,88–0,94), що свідчить про дуже сильний зв'язок показників розміру пухлини (T), та TOP IIa до НПХТ з імовірністю летального випадку. На рисунку 3.5.1 наведено криві виживання для пацієнтів із різним рівнем TOP IIa до НПХТ при стандартизації за розміром первинної пухлини (T).

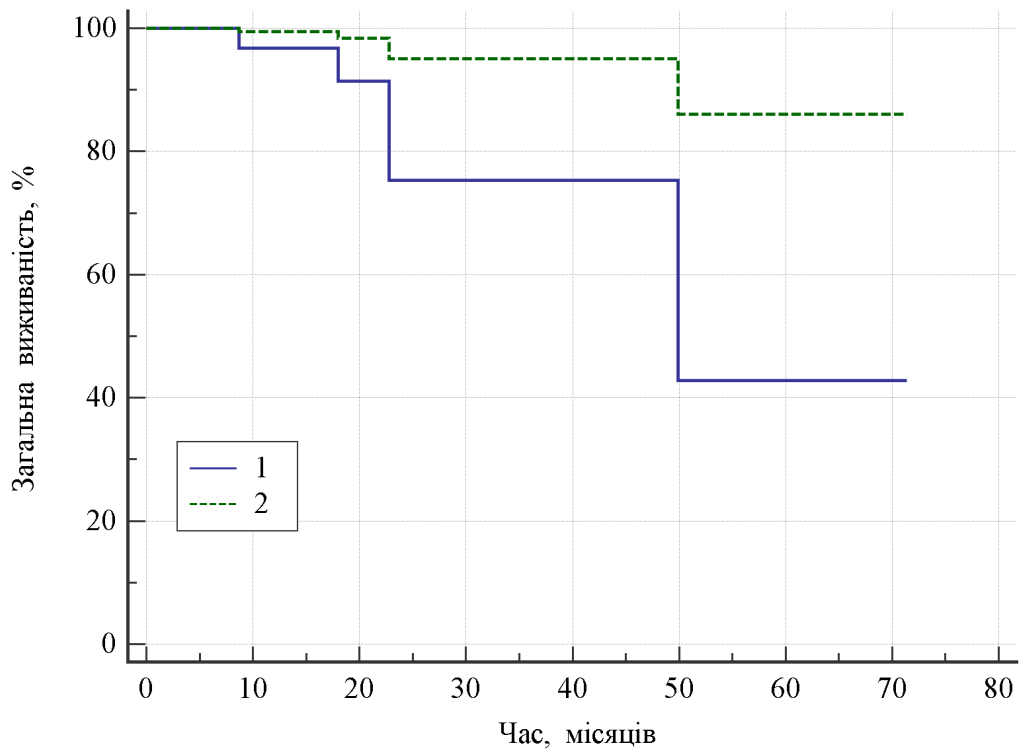
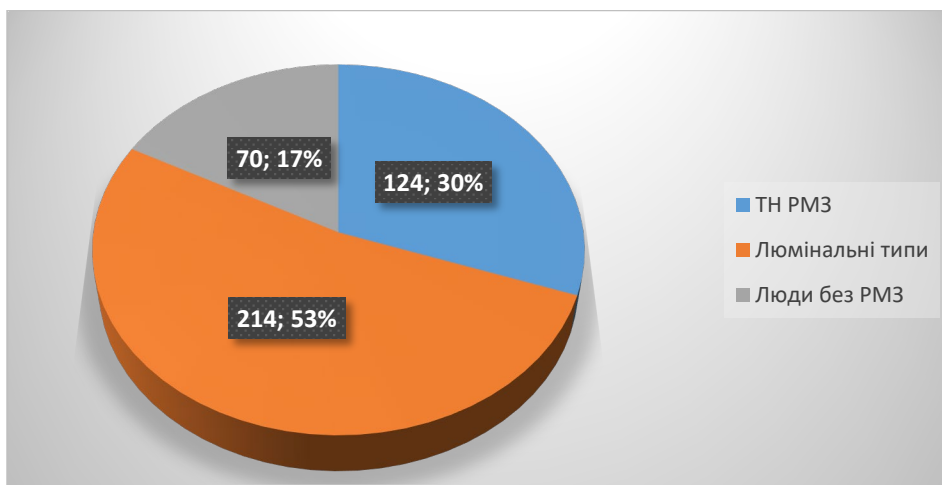


Рис. 3.5.1. Криві загальної виживаності (стандартизовані за показником розміру пухлини (T) для пацієнтів із рівнем TOP $\Pi\alpha$ до НПХТ $\leq 45\%$ (1) та TOP $\Pi\alpha$ до НПХТ $\geq 46\%$ (2).

Отже, аналіз даних загальної виживаності показав вплив таксановмісних схем НПХТ на підвищення загальної виживаності ($p=0.027$). Виявлено зв'язок показників розміру пухлини (T), та TOP $\Pi\alpha$ до НПХТ з імовірністю летального випадку ($p=0,026$).

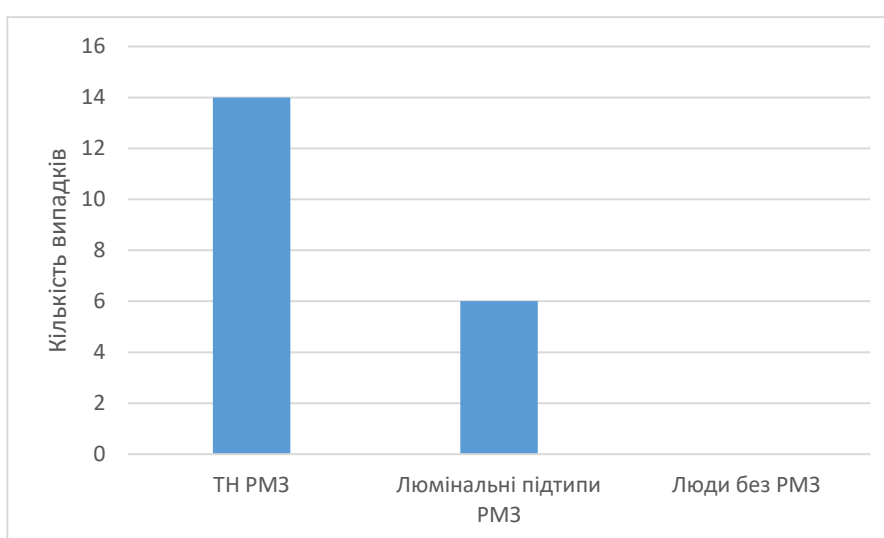
3.6. Частота мутації *BRCA1* 5382insC серед пацієнтів з ТНРМЗ

Пацієнти з дослідження брали участь у сумісному дослідженні серед 124 пацієнок з ТНРМЗ. Метою дослідження було вивчення частоти мутації *BRCA1* 5382insC в українській популяції. Загалом в дослідженні брало участь 338 пацієнок з РМЗ та 70 людей без РМЗ. Розподіл пацієнтів зображений на діаграмі 3.6.1.



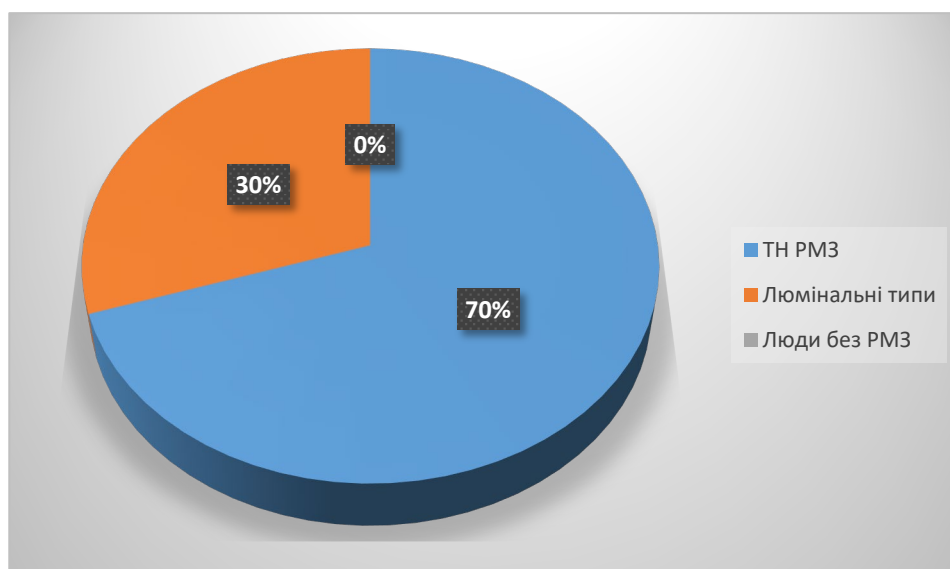
Діаграма 3.6.1. Розподіл пацієнтів у дослідженні

Усі біологічні зразки були відібрані у Києві: КНП «КМКОЦ» (136 хворих), Національний інститут раку (63 хворих) та ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України» (139 пацієнтів) за 2015-2019 рр. у 23 пацієток з ТНРМЗ цього дослідження діагноз був встановлений до 40 років та у 92 після 40 років. В дослідженні вивчалась частота мутації *BRCA1* 5382insC у пацієток з ТНРМЗ та з люмінальними типами РМЗ. Загалом було виявлено 20 випадків мутації (частота 5,9%), серед яких у пацієток з ТНРМЗ -14 (частота 11,3%) та 6 випадків (частота 2,8%) серед пацієток з люмінальними підтипами РМЗ (діаграма 3.6.2.).



Діаграма 3.6.2. Частота мутації *BRCA1* 5382insC

Дослідження показало, що мутація *BRCA1* 5382insC є поширенішою серед пацієнтів з ТНPMЗ у порівнянні з люмінальними підтипами PMЗ ($p = 0.0041$) (діаграма 3.6.3.). Серед 70 людей без PMЗ випадків мутації виявлено не було. Аналіз віку встановлення діагнозу PMЗ у носіїв мутації не показав достовірної відмінності серед пацієток з ТНPMЗ та з люмінальними підтипами PMЗ ($p < 0.12114$). Також аналіз не показав різниці у частоті мутації *BRCA1* 5382insC серед пацієток з ТНPMЗ у групах молодше 40 років та старше 40 років ($p < 0.6957$). Дослідження вперше описало частоту мутації *BRCA1* 5382insC серед пацієнтів з ТНPMЗ в українській популяції. Також дослідження показало важливість генетичного тестування всіх пацієнтів з ТН PMЗ незалежно від віку або сімейного анамнезу. На відміну від рекомендацій у стандартах - генетичне тестування на мутації *BRCA1/2* для жінок з діагнозом ТН PMЗ у віці < 60 років [112].



Діаграма 3.6.3. Розподіл за підтипами PMЗ пацієнтів з мутацією *BRCA1* 5382insC

Для пацієток з ТНPMЗ розуміння поширеності мутації *BRCA1* 5382insC та важливості рутинного генетичного тестування є важливим

кроком у персоніфікації та оптимізації існуючих схем лікування для носіїв цієї мутації. Також дослідження показує необхідність подальшого вивчення ризиків та поширеності мутацій інших генів.

Наведені в розділі результати опубліковані в наступних наукових працях:

1. A. Samusieva, S. Serga, S. Klymenko, et al. (2022) Contribution of *BRCAl* 5382insC mutation to triplene-gative and luminal types of breast cancer in Ukraine. *Breast Cancer Research and Treatment*. 195(3):453-459. DOI: [10.1007/s10549-022-06692-3](https://doi.org/10.1007/s10549-022-06692-3);

2. A.Samusieva, R. Liubota, V. Zaichuk, O. Ponomarova, I. Liubota (2023) Planning and use of oncoplastic surgery for breast cancer. *Reproductive health of women*. 1(64): 82-87. DOI: <https://doi.org/10.30841/2708-8731.1.2023.276256>;

3. А.А. Самусєва. Топоізомераза II альфа та її вплив на ефективність неoad'ювантної хіміотерапії при тричі негативному раку молочної залози. *Онкологія*. 2023. Том 25, №1: 69-73. DOI: <https://doi.org/10.15407/oncology.2023.01.069>.

РОЗДІЛ ІV

УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

РМЗ продовжує займати перші позиції серед злоякісних новоутворень у жінок у всьому світі. За даними Національного канцер-реєстру України в 2019 році було зареєстровано 138509 нових випадків злоякісних новоутворень, серед яких 14720 випадків РМЗ у жінок та 135 у чоловіків. Загалом в Україні РМЗ становить 20,3% випадків злоякісних захворювань та 20,1% випадків смерті у жінок. Згідно показника захворюваності серед жінок РМЗ продовжує зберігати тенденцію до зростання [1].

В даний час досягнення в молекулярній біології дозволили визначати різні маркери в пухлинній тканині, що дозволило поділяти РМЗ на суттєво різні за патогенезом, перебігом захворювання та прогнозом молекулярні підтипи: Люмінальний А, Люмінальний Б, HER2 гіперекспресуючий та тричі негативний (базальний) підтипи [7]. Ця класифікація суттєво покращила і певною мірою оптимізувала підходи до лікування РМЗ. Молекулярні характеристики пухлини відіграють ключову роль у прогнозуванні перебігу і оцінці ризиків рецидиву пухлини. Клінічні характеристики РМЗ невід’ємно залежать від віку пацієнта, стану репродуктивної системи, перенесених та наявних хронічних захворювань, гормонального статусу та багатьох інших.

Тричі негативний РМЗ становить до 12% від усіх випадків РМЗ [8]. При цьому підтипі відсутні такі традиційні терапевтичні мішені як: естрогени, прогестерони та HER2, тому цей підтип залишається великою клінічною проблемою. Найчастіше виникає у молодих (<50 років) жінок, та представлений як інтервальний рак. Характеризується більш агресивним перебігом, пов’язаний з високим ризиком рецидиву та смерті у перші 3-5 років захворювання. Загалом 5 річна виживаність у пацієнтів з тричі негативним РМЗ нижча на 8-16%, ніж у пацієнтів з гормонозалежними типами РМЗ. [9-11]. Нерідкими є випадки, коли пацієнти з однаковими

клінічно, морфологічно та за молекулярною будовою пухлинами реагують на ідентичні схеми терапії по-різному. Що говорить про недосконалість існуючих маркерів і необхідності пошуку нових, потенційно значущих маркерів для прицільного підбору тактики лікування. Враховуючи клінічний поліморфізм ТНPMЗ очевидно є необхідність подальшого вивчення молекулярно-біологічних властивостей цього типу PMЗ. Що дозволить оптимізувати та індивідуалізувати підходи до лікування у пацієнтів з ТНPMЗ. Також, необхідно відмітити, що сучасні стратегії лікування PMЗ спрямовані на досягнення максимального результату, тобто елімінацію усіх пухлинних клітин. Наслідком такого підходу є збільшення ризиків тяжких побічних реакцій у пацієнтів та ризиків резистентності пухлини до препаратів, що в свою чергу, призводить до неможливості досягнення pCR. Загалом при різних підтипах PMЗ, досягнення pCR не є прогностичним маркером безрецидивної або загальної виживаності. Але при агресивних підтипах, особливо при ТНPMЗ, pCR має найцінніше прогностичне значення. НПХТ, як опція лікування дає можливість зменшити розміри пухлини з цілю проведення ОЗО та оцінити клінічно та морфологічно відповідь пухлини на певну схему хіміотерапії, що дозволяє відкоригувати схему АПХТ.

У сьогоднішній день, для пацієнтів з ТНPMЗ питання покращення показників безрецидивної та загальної виживаності є особливо критичним, тому виявлення нових прогностично цінних маркерів є актуальним та важливим завданням в сучасній онкології. Більш детальне розуміння молекулярної будови тричі негативних пухлин дасть змогу виділити групи пацієнтів, що будуть краще відповідати на ті чи інші схеми лікування, що в свою чергу зменшить кількість та тяжкість побічних реакцій у таких пацієнтів і збільшить вірогідність досягнення pCR.

Зазначене вище стало підставою для проведення даного дисертаційного дослідження, мета якого полягала у покращенні результатів лікування

хворих на тричі негативний РМЗ шляхом індивідуалізації терапевтичних алгоритмів.

Дана дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідної роботи кафедри онкології Національного університету охорони здоров'я імені П.Л. Шупика: «Оптимізація діагностики та лікування хворих з пухлинами різних локалізацій».

Для досягнення поставленої мети і перевірки гіпотез у дослідження було включено 45 жінок з II-III стадіями ТНРМЗ, яким було показано комплексне лікування за радикальною програмою та які отримували лікування у клініці кафедри онкології НУОЗ України імені П.Л. Шупика на базі КНП «Київський міський клінічний онкологічний центр».

Всі пацієнтки підлягали проведенню стандартного алгоритму обстеження пацієнткам згідно стандартів: фізикальне обстеження, лабораторні дослідження крові та сечі, ЕКГ, мамографія в 2 проєкціях, рентгенографія органів грудної порожнини в 2 проєкціях, КТ ОГП, ОМТ, ОЧП з внутрішньовенним контрастуванням, УЗД органів черевної порожнини, молочних залоз та регіонарних лімфатичних вузлів, трепан-біопсія пухлини з морфологічним та імуногістохімічним дослідженням. При наявності показань проводили УЗД органів малого тазу та заочеревинного простору, комп'ютерну томографію з внутрішньовенним контрастуванням органів грудної порожнини, черевної порожнини та малого тазу, радіоізотопні обстеження. Розміри первинної пухлини та при контрольних дослідженнях динаміка оцінювались за мамограмами виміром максимального діаметру пухлини.

У пацієнтів визначали вік на час встановлення діагнозу, розмір, гістологічний тип, ступінь диференціювання клітин, імуногістохімічним дослідженням оцінювались рецептори естрогену, рецептори прогестерону, HER2/neu, проліферативна активність клітин пухлини, на основі чого встановлювався молекулярний підтип РМЗ, та рівень експресії

топоізомерази 2 альфа в клітинах пухлини, та наявність метастазів в регіонарних лімфатичних вузлах.

Після встановлення діагнозу ТН РМЗ та проведення обстеження згідно стандартів пацієнткам призначалась НПХТ (таксановмісна або нетаксановмісна схема). Фізикальний огляд та контроль лабораторних показників крові пацієнтів проводились перед кожним курсом НПХТ. У випадках досягнення повної клінічно вираженої регресії пухлини після 2 та 3 курсів НПХТ пацієнтам проводили контроль ефективності проведеного лікування: рентгенологічно (мамографія) та сонографічно (УЗД молочної залози та регіонарних лімфатичних вузлів). Проблемним є стандартизація оцінки ефективності НПХТ у пацієток з місцево-поширеним РМЗ на передопераційному етапі. Для пацієнтів з метастатичним перебігом існує шкала критеріїв RECIST, яка є універсальною для оцінки ефективності системної терапії у пацієнтів з солідними пухлинами з метастатичним перебігом. Ця шкала розрахована на оцінку даних МРТ досліджень та в деяких випадках КТ. Для мамографічної оцінки такої стандартизованої шкали немає. При контрольних мамографічних дослідженнях пацієток з РМЗ, які отримують НПХТ оцінюють динаміку відповіді первинної пухлини за порівнянням зміни розмірів, з метою більш точної оцінки можливий розрахунок об'єму пухлини та порівняння з об'ємом первинного вогнища до початку лікування. Також оцінюються характеристики контурів пухлини та наявність і кількість мікрокальцинатів на мамограмах. За сумою цих даних визначається ефективність НПХТ, яка може бути оцінена як: позитивна динаміка, стабілізація процесу та негативна динаміка.

Також враховуючи технологічний прогрес теперішнього часу, такий діагностичний метод як томосинтез молочних залоз набуває більшого поширення. Томосинтез за своєю суттю є тримірною мамографією. Цей метод є більш точним в порівнянні з класичною мамографією, так як зменшує вірогідність накладання тіней тканин залози та помилкового трактування даних у цій ділянці, що збільшує вірогідність виявлення

новоутворень та підвищує діагностичну цінність цієї процедури. А тримірна інформація, яка отримана з набору даних томосинтезу, забезпечує ефективнішу візуалізацію [113]. Така методика дає можливість більш точної оцінки ефективності системної терапії у пацієток з місцево-поширеним РМЗ.

Окремим важливим моментом оцінки ефективності НПХТ у пацієток з РМЗ на передопераційному етапі є дослідження регіонарних лімфовузлів. Яке рутинно виконується методом УЗД та в деяких випадках, при сумнівних даних додатково виконується КТ дослідження з внутрішньовенним контрастуванням.

Перед кожним циклом НПХТ проводилась оцінка скарг пацієнта, загального стану, проводився фізикальний огляд з оцінкою змін розмірів первинної пухлини молочної залози та іпсілатиральних лімфатичних вузлів, виконувались загальний та біохімічний аналізи крові, загальний аналіз сечі. Через кожні 2 курси проводились контрольні інструментальні дослідження: мамографія, УЗД аксілярних лімфатичних вузлів.

Після підтвердження інструментальними методами дослідження, відсутності усіх екстралімфатичних вогнищ або за досягнення всіх запланованих курсів НПХТ, та регресії всіх лімфатичних вузлів до 10 мм та менше, пацієнткам виконували хірургічне лікування (ОЗО або мастектомію) з подальшим морфологічним визначенням відповіді пухлини на проведену НПХТ. При наявній резидуальній пухлині виконувалось імуногістохімічне дослідження.

Після хірургічного лікування, пацієнтам що не отримали повний курс медикаментозного лікування у НПХТ режимі, призначалась АПХТ з урахуванням результатів гістологічного та імуногістохімічного досліджень операційного матеріалу, згідно стандартів.

Основою даної роботи було вивчення ролі експресії топоізомерази 2 альфа клітинами карциноми молочної залози, як прогностичного фактору перебігу ТНРМЗ та відповіді пухлини на хіміотерапевтичне лікування, та

вплив на тактику та індивідуалізацію лікування у пацієнтів з цим підтипом РМЗ. Вперше проведено теоретичне узагальнення проблематики хіміотерапії при ТНРМЗ. При аналізі літератури у I розділі цієї роботи дані різних досліджень вказують на проблематику досягнення pCR у пацієнтів з ТНРМЗ. Застосування НПХТ на першому етапі лікування у таких пацієнтів дає змогу оцінити чутливість пухлини до лікування *in vivo*, також збільшує вірогідність органозберігаючої операції у подальшому. Враховуючи, що прогностично дуже важливим є досягнення pCR в світі постійно вивчаються фактори, що потенційно можуть мати вплив. Ферменти, які обумовлюють відмінні властивості пухлинних клітин, такі як прискорена проліферація, морфологічна трансформація, стійкість до несприятливих факторів та ін., є потенційними мішенями для протипухлинної терапії [73]. Згідно з даними розділу II, цієї роботи, топоізомерази - ферменти, які каталізують топологічні зміни кільцевої молекули ДНК шляхом контролю рівня суперспіралізації, який може змінюватися в процесі її реплікації, транскрипції, гомологічної рекомбінації, а також під час перебудов хроматину. Для забезпечення більш швидкого ділення, ракові клітини потребують більш високого рівня топоізомерази, що як правило відображається у високій експресії топоізомерази в клітинах пухлини [82]. Топоізомерази є мішенями для протипухлинної терапії. Антрациклінові антибіотики викликають особливий інтерес, тому що широко застосовуються при хіміотерапії РМЗ. Однак, ця група препаратів має токсичний ефект на серцевий м'яз, що призводить до підвищення захворюваності та смертності від серцево-судинної патології серед хворих на рак. Клінічна серцева недостатність може виникати у 5% пацієнтів високого ризику. Відзначено, що кардіотоксичність антрациклінових препаратів зростає з підвищенням кумулятивної дози.

Тому враховуючі дані описані вище, важливою і перспективною є стратегія спрямована на покращення ефективності лікування пацієнтів з ТНРМЗ, початковий прогноз яких є гіршим ніж у пацієнтів з іншими підтипами

PM3, яка полягає у визначенні маркерів, що надають інформацію про чутливість пухлини до хіміотерапевтичного лікування до початку лікування. Що призводить до мінімізації побічних ефектів, особливо які суттєво знижують якість життя, шляхом відбору пацієнтів в залежності від наявності ряду молекулярних предикторів ефективності цієї терапії. З метою досягнення такої цілі, як виявлення факторних ознак що пов'язані з ризиком недосягнення задовільного лікувального патоморфозу був використаний метод побудови та аналізу багатофакторних моделей регресії. Для проведення відбору використано метод покрокового включення/виключення ознак із порогом включення $p < 0,2$ та порогом виключення $p < 0,3$. При проведенні відбору було виділено 5 факторів ризику: вік пацієнта, N, ступеню G, розмір пухлинного вузла до початку НПХТ та схема НПХТ. Проведений аналіз показав наявність сильного зв'язку віку пацієнта, наявності метастазів в регіонарних лімфовузлах (N), ступеню диференціації G, розміру пухлинного вузла до початку НПХТ та схемою НПХТ із ризиком недосягнення ЛП. Стосовно схеми НПХТ, при використанні таксановмісної НПХТ недосягнення ЛП буде нижчим ($p = 0,015$), ВШ = 0,002 (95% ВІ 0,000–0,290) у порівнянні із використанням нетаксановмісної НПХТ. Тобто пацієнти, що отримали таксановмісні схеми мали кращу відповідь пухлини на НПХТ.

При аналізі даних було виявлено зв'язок ЛП зі зниженням рівня Ki67: у групі пацієнтів в яких ЛП було досягнуто виявлено зниження Ki67 в середньому на -37,5% ($p = 0,026$), у групі пацієнтів в яких ЛП був не досягнений виявлено зниження в середньому на -10,5%. Зниження рівня TOP II α після НПХТ не показало статистично достовірної різниці у пацієнтів в залежності від ступеню ЛП ($p = 0,285$).

Було проведено аналіз типів проведених оперативних втручань у пацієнок з різним рівнем експресії TOP II α . Виявлено, що у пацієнок з рівним експресії TOP II α $\leq 45\%$ більшість оперативних втручань були органозберігаючі операції (58,8%) у порівнянні з пацієнками з рівнем

експресії TOP $Pa \geq 46\%$ (42,9%). При проведенні аналізу факторів пов'язаних з ризиком мастектомії у пацієнтів було виявлено зв'язок зростання ризику ($p=0,012$) мастектомії зі зростанням розміру первинної пухлини. Виявлено також зниження ($p=0,001$) ризику мастектомії для пацієнтів які отримали таксановмісні схеми НПХТ, у порівнянні з пацієнтами з нетаксановмісними схемами НПХТ.

При аналізі факторів, що можуть впливати на ризик рецидиву було виявлено зниження ($p=0,040$) ризику виникнення рецидиву при зростанні рівня TOP Pa до НПХТ та зниження ($p=0,017$) ризику виникнення рецидиву при зростанні кількості курсів АПХТ. Це свідчить про те, що у пацієнтів з високим рівнем експресії TOP Pa нижчий ризик рецидиву захворювання. Також при проведенні повного курсу НПХТ у пацієнтів з ТНРМЗ відмічається зниження ризику настання рецидиву захворювання.

Було проведено статистичний аналіз ризику смерті та було виявлено сильний зв'язок показників розміру пухлини (Т), та TOP Pa до НПХТ з імовірністю летального випадку (значення показника конкордації $C-index=0,91$ (95% ВІ 0,88–0,94) ($p=0,026$).

В нашому дослідженні виявлено тенденцію до зростання ризику рецидиву при проведенні операції. Це свідчить про агресивність захворювання та превалююче значення системного лікування у пацієнтів з ТНРМЗ.

При аналізі даних частоти мутації *BRCA1* 5382insC виявлено підвищення частоти випадків цієї мутації серед пацієнтів з ТНРМЗ (частота 11,3%) при порівнянні отриманих результатів з частотою серед пацієнтів з люмінальними підтипами РМЗ (частота 2,8%) ($p=0,0041$). Серед людей без РМЗ випадків мутації виявлено не було. Аналіз віку встановлення діагнозу РМЗ у носіїв мутації не показав достовірної відмінності серед пацієнок з ТНРМЗ та з люмінальними підтипами РМЗ ($p < 0,12114$) та не показав різниці у частоті мутації *BRCA1* 5382insC серед пацієнок з ТНРМЗ у групах молодше 40 років та старше 40 років ($p < 0,6957$). Отримані дані свідчать

про необхідність генетичного тестування всіх пацієнтів з ТНРМЗ незалежно від віку або сімейного анамнезу. Наявність мутації впливає на прогноз перебігу захворювання і відповіді на лікування, та повинна враховуватись при виборі тактики лікування для пацієнтів.

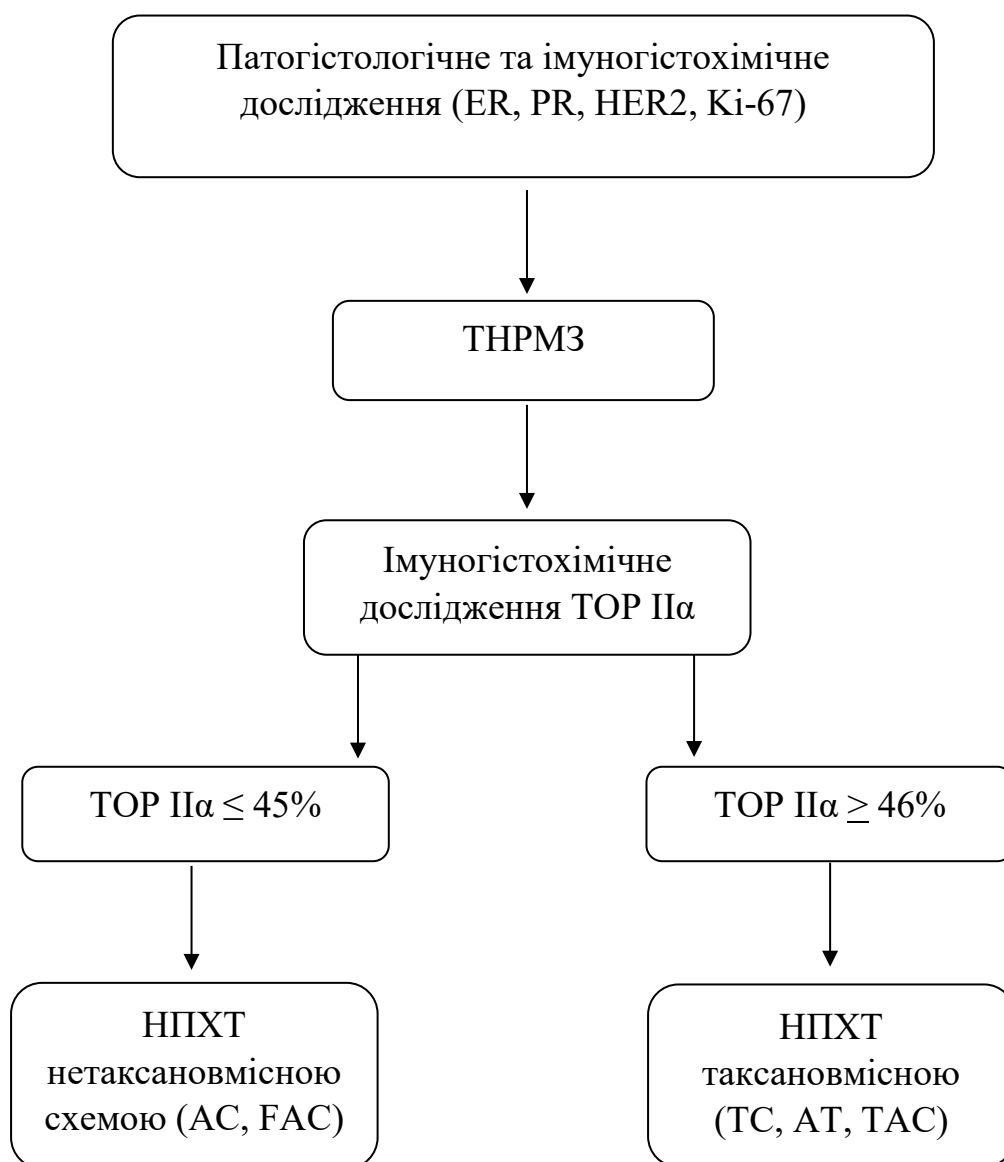
При проведенні аналізу безрецидивної виживаності пацієнтів, що отримали таксановмісні схеми НПХТ та тих що отримали нетаксановмісні схеми НПХТ була виявлена статистично значуща відмінність кривих ($p=0.031$ за логранговим критерієм). Так безрецидивна виживаність у пацієнтів, що отримали нетаксановмісні схеми НПХТ була нижчою (медіана склала 25.0 місяців (95% ВІ 11.6 місяців - 59.3 місяців), ніж у пацієнтів, що отримали таксановмісні схеми НПХТ (медіана не досягнута). Аналіз безрецидивної виживаності пацієнтів з рівнем експресії TOP П α до НПХТ $\leq 45\%$ та з рівнем TOP П α $\geq 46\%$ не показав статистично значущої відмінності ($p=0.090$).

Було проведено порівняння загальної виживаності пацієнтів, що отримали таксановмісні схеми НПХТ та тих що отримали нетаксановмісні схеми НПХТ та виявлена статистично значуща відмінність кривих виживаності ($p=0.027$ за логранговим критерієм). Так виживаність у пацієнтів, що отримали нетаксановмісні схеми НПХТ була нижчою (медіана виживання склала 44.3 місяці (95% ВІ 20.6 місяців - 58.4 місяців), п'ятирічна виживаність склала 29% \pm 15%) ніж у пацієнтів, що отримали таксановмісні схеми НПХТ (медіана виживання не досягнута, п'ятирічна виживаність склала 100%). При аналізі загальної виживаності пацієнтів з рівнем експресії TOP П α до НПХТ $\leq 45\%$ та з рівнем TOP П α $\geq 46\%$ не було виявлено статистично значущої відмінності ($p=0.083$).

В даній дисертаційній роботі визначено вплив топоізомерази 2 альфа на перебіг ТНРМЗ та ефективність хіміотерапевтичного лікування, як фактор індивідуалізації тактики лікування. За отриманими даними розроблено алгоритм вибору схеми НПХТ у пацієнтів з ТНРМЗ, де першим етапом рекомендовано виконання товстоголкової біопсії з подальшим

патогістологічним та імуногістохімічним дослідженнями, що дозволяє встановити підтип РМЗ. Після чого у пацієнтів з ТНРМЗ рекомендовано визначення рівня експресії топоізомерази 2 альфа, при нормальному рівні експресії цього ферменту в клітинах пухлини призначається нетаксановмісна схема НПХТ, при гіперекспресії топоізомерази 2 альфа для НПХТ використовуються таксановмісні схеми (схема 4.1).

Схема 4.1. Алгоритм вибору схеми НПХТ у пацієнтів з місцево-поширеним ТНРМЗ



ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та наукове обґрунтування впливу експресії TOP Па на прогноз перебігу РМЗ та відповіді на медикаментозне лікування. Аналіз літературних даних викладених в розділі I цієї роботи показав покращення відповіді на антрациклінвмісну хіміотерапію при гіперекспресії топоізомерази 2 альфа клітинами карциноми. Тому визначення рівня експресії топоізомерази 2 альфа в пухлинних клітинах у пацієнок з ТНРМЗ може бути потенційний предиктивним маркером чутливості пухлини до хіміотерапевтичного лікування та частиною перспективної стратегії спрямованої більш прицільний відбір пацієнтів в залежності від наявності ряду молекулярних предикторів ефективності терапії з метою мінімізації побічних ефектів.

В дисертаційній роботі визначено вплив експресії TOP Па ефективність неoad'ювантною поліхіміотерапії, як один з варіантів індивідуалізації тактики лікування хворих на тричі негативний рак молочної залози.

1. Виявлено зв'язок віку пацієнта ($p=0,018$), наявністю метастазів в регіонарних лімфовузлах ($p=0,027$), ступеню диференціації G ($p=0,044$), розміром пухлинного вузла до початку НПХТ та схемою НПХТ ($p=0,015$) із ризиком недосягнення ЛП;
2. Виявлено сильний зв'язок показників розміру пухлини (T), та TOP Па до НПХТ з імовірністю летального випадку (значення показника конкордації C-index=0,91 (95% ВІ 0,88–0,94)($p=0,026$);
3. Виявлено також зниження ($p=0,001$) ризику мастектомії для таксановмісних схем НПХТ, ВШ = 0,09 (95% ВІ 0,02–0,39);
4. Встановлено зв'язок зниження ($p=0,040$) ризику виникнення рецидиву при зростанні рівня TOP Па до НПХТ та зниження ($p=0,017$) ризику виникнення рецидиву при зростанні кількості курсів АПХТ;
5. Доведено підвищення частоти випадків цієї мутації серед пацієнтів з ТН РМЗ (частота 11,3%) при порівнянні отриманих результатів з

частотою серед пацієнтів з люмінальними підтипами РМЗ (частота 2,8%) ($p = 0.0041$);

6. Виявлено відмінність безрецидивної виживаності пацієнтів, що отримали нетаксановмісні схеми НПХТ та пацієнтів, що отримали таксановмісні схеми НПХТ, на користь тих що отримали таксановмісні схеми НПХТ ($p=0.031$);
7. Виявлено відмінність загальної виживаності пацієнтів, що отримали нетаксановмісні схеми НПХТ та пацієнтів, що отримали таксановмісні схеми НПХТ, на користь тих що отримали таксановмісні схеми НПХТ ($p=0.027$).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для прогностичної оцінки перебігу ТНРМЗ та відповіді на лікування доцільно визначати рівень експресії пухлиною топоізомерази 2 альфа.
2. У пацієнтів, що не досягли задовільного ступеню лікувального патоморфозу після НПХТ, рекомендовано дослідження експресії топоізомерази 2 альфа та Ki-67 у резидуальній пухлині.
3. Застосування в клінічній практиці даного алгоритму визначення чутливості пухлини до хіміотерапевтичного лікування індивідуалізує тактику лікування у пацієнтів з ТНРМЗ та можуть бути використані в клінічній практиці онкологічних стаціонарів для підвищення ефективності лікування хворих на ТНРМЗ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Рак в Україні, 2019-2020 - Захворюваність, смертність, показники діяльності онкослужби - Бюлетень Національного канцер-реєстру України № 22 [Internet]. [cited 2023 Aug 30]. Available from: http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_22/index.htm
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021 May;71(3):209–49.
3. Provenzano E, Ulaner GA, Chin SF. Molecular Classification of Breast Cancer. *PET Clin*. 2018 Jul;13(3):325–38.
4. Ahmed SH. Safety of neoadjuvant chemotherapy for the treatment of breast cancer. *Expert Opin Drug Saf*. 2019 Sep;18(9):817–27.
5. Chen Y, Bao B, Lv Y, Sun D, Zhang L, Wang J, et al. Nab-paclitaxel-based regimens with docetaxel-based regimens as neoadjuvant treatment for early breast cancer. *Invest New Drugs*. 2021 Apr;39(2):524–9.
6. Ding N hua, Liu C fan, Hu C, Yuan J qi, Liao W hua, Xiao Z. Prognostic Factors for Luminal B-like Breast Cancer. *CURR MED SCI*. 2019 Jun 1;39(3):396–402.
7. Choi BB, Jang HJ, Choi SI. Basal-like Breast Cancer: Comparison of Imaging Characteristics. *Curr Med Imaging*. 2020;16(3):241–8.
8. SEER [Internet]. [cited 2023 Aug 30]. Registry Groupings in SEER Data and Statistics - SEER Registries. Available from: <https://seer.cancer.gov/registries/terms.html>

9. Sørbye T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Sep 11;98(19):10869–74.
10. de Araújo RA, Cordero da Luz FA, da Costa Marinho E, Mendes TR, Nascimento CP, Ribeiro Delfino PF, et al. Operable breast cancer: How not to worsen the prognosis, especially in triple negative and stage II tumors. *Surg Oncol*. 2021 Sep;38:101596.
11. Bergin ART, Loi S. Triple-negative breast cancer: recent treatment advances. *F1000Res*. 2019 Aug 2;8:F1000 Faculty Rev-1342.
12. Howard FM, Olopade OI. Epidemiology of Triple-Negative Breast Cancer: A Review. *Cancer J*. 2021 Feb 1;27(1):8–16.
13. Leidy J, Khan A, Kandil D. Basal-like breast cancer: update on clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular features. *Arch Pathol Lab Med*. 2014 Jan;138(1):37–43.
14. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy AB, Shyr Y, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest*. 2011 Jul;121(7):2750–67.
15. Masuda H, Baggerly KA, Wang Y, Zhang Y, Gonzalez-Angulo AM, Meric-Bernstam F, et al. Differential response to neoadjuvant chemotherapy among 7 triple-negative breast cancer molecular subtypes. *Clin Cancer Res*. 2013 Oct 1;19(19):5533–40.
16. Burstein MD, Tsimelzon A, Poage GM, Covington KR, Contreras A, Fuqua SAW, et al. Comprehensive genomic analysis identifies novel subtypes and targets of triple-negative breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2015 Apr 1;21(7):1688–98.

17. Jézéquel P, Loussouarn D, Guérin-Charbonnel C, Champion L, Vanier A, Gouraud W, et al. Gene-expression molecular subtyping of triple-negative breast cancer tumours: importance of immune response. *Breast Cancer Res.* 2015 Mar 20;17:43.
18. Prat A, Adamo B, Cheang MCU, Anders CK, Carey LA, Perou CM. Molecular characterization of basal-like and non-basal-like triple-negative breast cancer. *Oncologist.* 2013;18(2):123–33.
19. Foulkes WD, Grainge MJ, Rakha EA, Green AR, Ellis IO. Tumor size is an unreliable predictor of prognosis in basal-like breast cancers and does not correlate closely with lymph node status. *Breast Cancer Res Treat.* 2009 Sep;117(1):199–204.
20. Kirsh VA, Chiarelli AM, Edwards SA, O'Malley FP, Shumak RS, Yaffe MJ, et al. Tumor characteristics associated with mammographic detection of breast cancer in the Ontario breast screening program. *J Natl Cancer Inst.* 2011 Jun 22;103(12):942–50.
21. Angelini G, Marini C, Iacconi C, Mazzotta D, Moretti M, Picano E, et al. Magnetic resonance (MR) features in triple negative breast cancer (TNBC) vs receptor positive cancer (nTNBC). *Clin Imaging.* 2018;49:12–6.
22. Sanges F, Floris M, Cossu-Rocca P, Muroli MR, Pira G, Urru SAM, et al. Histologic subtyping affecting outcome of triple negative breast cancer: a large Sardinian population-based analysis. *BMC Cancer.* 2020 Jun 2;20(1):491.
23. Mills MN, Yang GQ, Oliver DE, Liveringhouse CL, Ahmed KA, Orman AG, et al. Histologic heterogeneity of triple negative breast cancer: A National Cancer Centre Database analysis. *Eur J Cancer.* 2018 Jul;98:48–58.
24. Masjedi A, Hashemi V, Hojjat-Farsangi M, Ghalamfarsa G, Azizi G, Yousefi M, et al. The significant role of interleukin-6 and its signaling pathway

- in the immunopathogenesis and treatment of breast cancer. *Biomed Pharmacother.* 2018 Dec;108:1415–24.
25. Ortiz-Montero P, Londoño-Vallejo A, Vernot JP. Senescence-associated IL-6 and IL-8 cytokines induce a self- and cross-reinforced senescence/inflammatory milieu strengthening tumorigenic capabilities in the MCF-7 breast cancer cell line. *Cell Commun Signal.* 2017 May 4;15(1):17.
26. Chatterjee S, Bhat V, Berdnikov A, Liu J, Zhang G, Buchel E, et al. Paracrine Crosstalk between Fibroblasts and ER+ Breast Cancer Cells Creates an IL1 β -Enriched Niche that Promotes Tumor Growth. *iScience.* 2019 Jul 24;19:388–401.
27. Lv Z, Liu M, Shen J, Xiang D, Ma Y, Ji Y. Association of serum interleukin-10, interleukin-17A and transforming growth factor- α levels with human benign and malignant breast diseases. *Exp Ther Med.* 2018 Jun;15(6):5475–80.
28. Bongartz H, Gille K, Hessenkemper W, Mandel K, Lewitzky M, Feller SM, et al. The multi-site docking protein Grb2-associated binder 1 (Gab1) enhances interleukin-6-induced MAPK-pathway activation in an SHP2-, Grb2-, and time-dependent manner. *Cell Commun Signal.* 2019 Oct 24;17(1):135.
29. Heo TH, Wahler J, Suh N. Potential therapeutic implications of IL-6/IL-6R/gp130-targeting agents in breast cancer. *Oncotarget.* 2016 Jan 31;7(13):15460–73.
30. Uciechowski P, Dempke WCM. Interleukin-6: A Masterplayer in the Cytokine Network. *Oncology.* 2020;98(3):131–7.
31. Fu S, Lin J. Blocking Interleukin-6 and Interleukin-8 Signaling Inhibits Cell Viability, Colony-forming Activity, and Cell Migration in Human Triple-negative Breast Cancer and Pancreatic Cancer Cells. *Anticancer Res.* 2018 Nov;38(11):6271–9.

32. Weng YS, Tseng HY, Chen YA, Shen PC, Al Haq AT, Chen LM, et al. MCT-1/miR-34a/IL-6/IL-6R signaling axis promotes EMT progression, cancer stemness and M2 macrophage polarization in triple-negative breast cancer. *Mol Cancer*. 2019 Mar 18;18(1):42.
33. Sporikova Z, Koudelakova V, Trojanec R, Hajduch M. Genetic Markers in Triple-Negative Breast Cancer. *Clin Breast Cancer*. 2018 Oct;18(5):e841–50.
34. Nones K, Johnson J, Newell F, Patch AM, Thorne H, Kazakoff SH, et al. Whole-genome sequencing reveals clinically relevant insights into the aetiology of familial breast cancers. *Ann Oncol*. 2019 Jul 1;30(7):1071–9.
35. Okano M, Nomizu T, Tachibana K, Nagatsuka M, Matsuzaki M, Katagata N, Ohtake T, Yokoyama S, Arai M, Nakamura S. The relationship between BRCA-associated breast cancer and age factors: an analysis of the Japanese HBOC consortium database. *J Hum Genet*. 2021 Mar;66(3):307-314.
36. Ma ZP, Wang W, Zhang W. [BRCA1/2 gene mutation and clinicopathologic features of triple negative breast cancer]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*. 2016 Jun 8;45(6):397–400.
37. Marotti JD, Schnitt SJ. Genotype-Phenotype Correlations in Breast Cancer. *Surg Pathol Clin*. 2018 Mar;11(1):199-211.
38. Ha SM, Chae EY, Cha JH, Kim HH, Shin HJ, Choi WJ. Association of BRCA Mutation Types, Imaging Features, and Pathologic Findings in Patients With Breast Cancer With BRCA1 and BRCA2 Mutations. *AJR Am J Roentgenol*. 2017 Oct;209(4):920–8.
39. Rossing M, Sørensen CS, Ejlersen B, Nielsen FC. Whole genome sequencing of breast cancer. *APMIS*. 2019 May;127(5):303–15.
40. Stewart MD, Duncan ED, Coronado E, DaRosa PA, Pruneda JN, Brzovic PS, et al. Tuning BRCA1 and BARD1 activity to investigate RING ubiquitin ligase mechanisms. *Protein Sci*. 2017 Mar;26(3):475–83.

41. Takaoka M, Miki Y. BRCA1 gene: function and deficiency. *Int J Clin Oncol*. 2018 Feb;23(1):36–44.
42. Armstrong N, Ryder S, Forbes C, Ross J, Quek RG. A systematic review of the international prevalence of BRCA mutation in breast cancer. *Clin Epidemiol*. 2019;11:543–61.
43. Clifton K, Gutierrez-Barrera A, Ma J, Bassett R Jr, Litton J, Kuerer H, Moulder S, Albarracin C, Hortobagyi G, Arun B. Adjuvant versus neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer patients with BRCA mutations. *Breast Cancer Res Treat*. 2018 Jul;170(1):101-109.
44. Bonadonna G, Veronesi U, Brambilla C, Ferrari L, Luini A, Greco M, et al. Primary chemotherapy to avoid mastectomy in tumors with diameters of three centimeters or more. *J Natl Cancer Inst*. 1990 Oct 3;82(19):1539–45.
45. van der Hage JA, van de Velde CJ, Julien JP, Tubiana-Hulin M, Vandervelden C, Duchateau L. Preoperative chemotherapy in primary operable breast cancer: results from the European Organization for Research and Treatment of Cancer trial 10902. *J Clin Oncol*. 2001 Nov 15;19(22):4224–37.
46. Kuroi K, Toi M, Ohno S, Nakamura S, Iwata H, Masuda N, et al. Prognostic significance of subtype and pathologic response in operable breast cancer; a pooled analysis of prospective neoadjuvant studies of JBCRG. *Breast Cancer*. 2015 Sep;22(5):486–95.
47. Watanabe T, Kuranami M, Inoue K, Masuda N, Aogi K, Ohno S, et al. Comparison of an AC-taxane versus AC-free regimen and paclitaxel versus docetaxel in patients with lymph node-positive breast cancer: Final results of the National Surgical Adjuvant Study of Breast Cancer 02 trial, a randomized comparative phase 3 study. *Cancer*. 2017 Mar 1;123(5):759–68.

48. Mauri D, Pavlidis N, Ioannidis JPA. Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2005 Feb 2;97(3):188–94.
49. Research C for DE and. Pathological Complete Response in Neoadjuvant Treatment of High-Risk Early-Stage Breast Cancer: Use as an Endpoint to Support Accelerated Approval Food and Drug Administration. 2020 Jul 29.
50. Грабовой АН, Тарасова ТО, Кошубарова МВ. Гистологическая оценка ответа опухоли на химио-/лучевую терапию. *Клінічна онкологія.* 2012. 6(2):139–143.
51. Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M, Winkler A. Reporting results of cancer treatment. *Cancer.* 1981 Jan 1;47(1):207–14.
52. Ogston KN, Miller ID, Payne S, Hutcheon AW, Sarkar TK, Smith I, et al. A new histological grading system to assess response of breast cancers to primary chemotherapy: prognostic significance and survival. *Breast.* 2003 Oct;12(5):320–7.
53. Sejben A, Kószó R, Kahán Z, Cserni G, Zombori T. Examination of Tumor Regression Grading Systems in Breast Cancer Patients Who Received Neoadjuvant Therapy. *Pathol Oncol Res.* 2020;26(4):2747–54.
54. Symmans WF, Wei C, Gould R, Yu X, Zhang Y, Liu M, et al. Long-Term Prognostic Risk After Neoadjuvant Chemotherapy Associated With Residual Cancer Burden and Breast Cancer Subtype. *J Clin Oncol.* 2017 Apr 1;35(10):1049–60.
55. Choi M, Park YH, Ahn JS, Im YH, Nam SJ, Cho SY, et al. Assessment of pathologic response and long-term outcome in locally advanced breast cancers after neoadjuvant chemotherapy: comparison of pathologic classification systems. *Breast Cancer Res Treat.* 2016 Dec 1;160(3):475–89.

56. Wu K, Yang Q, Liu Y, Wu A, Yang Z. Meta-analysis on the association between pathologic complete response and triple-negative breast cancer after neoadjuvant chemotherapy. *World J Surg Oncol*. 2014 Apr 15;12:95.
57. Ruiz-Pinto S, Martin M, Pita G, Caronia D, de la Torre-Montero JC, Moreno LT, et al. Pharmacogenetic variants and response to neoadjuvant single-agent doxorubicin or docetaxel: a study in locally advanced breast cancer patients participating in the NCT00123929 phase 2 randomized trial. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2018 Nov;28(11):245.
58. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, André F, Tordai A, Mejia JA, Symmans WF, Gonzalez-Angulo AM, Hennessy B, Green M, Cristofanilli M, Hortobagyi GN, Pusztai L. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol*. 2008 Mar 10;26(8):1275-81.
59. Masuda N, Higaki K, Takano T, Matsunami N, Morimoto T, Ohtani S, et al. A phase II study of metronomic paclitaxel/cyclophosphamide/capecitabine followed by 5-fluorouracil/epirubicin/cyclophosphamide as preoperative chemotherapy for triple-negative or low hormone receptor expressing/HER2-negative primary breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2014 Aug;74(2):229–38.
60. Baulies S, Cusidó M, González-Cao M, Tresserra F, Fargas F, Rodríguez I, et al. Hormone receptor and HER2 status: The only predictive factors of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Obstet Gynaecol*. 2015;35(5):485–9.
61. Székely B, Silber ALM, Pusztai L. New Therapeutic Strategies for Triple-Negative Breast Cancer. *Oncology (Williston Park)*. 2017 Feb 15;31(2):130–7.
62. Chou HH, Kuo WL, Yu CC, Tsai HP, Shen SC, Chu CH, et al. Impact of age on pathological complete response and locoregional recurrence in locally

advanced breast cancer after neoadjuvant chemotherapy. *Biomed J.* 2019 Feb;42(1):66–74.

63. Fisher CS, Ma CX, Gillanders WE, Aft RL, Eberlein TJ, Gao F, et al. Neoadjuvant chemotherapy is associated with improved survival compared with adjuvant chemotherapy in patients with triple-negative breast cancer only after complete pathologic response. *Ann Surg Oncol.* 2012 Jan;19(1):253–8.

64. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG); Peto R, Davies C, Godwin J, Gray R, Pan HC, Clarke M, Cutter D, Darby S, McGale P, Taylor C, Wang YC, Bergh J, Di Leo A, Albain K, Swain S, Piccart M, Pritchard K. Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100,000 women in 123 randomised trials. *Lancet.* 2012 Feb 4;379(9814):432-44.

65. Bagegni NA, Tao Y, Ademuyiwa FO. Clinical outcomes with neoadjuvant versus adjuvant chemotherapy for triple negative breast cancer: A report from the National Cancer Database. *PLoS One.* 2019;14(9):e0222358.

66. Petrelli F, Coinu A, Borgonovo K, Cabiddu M, Ghilardi M, Lonati V, et al. The value of platinum agents as neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancers: a systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 2014 Apr;144(2):223–32.

67. Poggio F, Bruzzone M, Ceppi M, Pondé NF, La Valle G, Del Mastro L, et al. Platinum-based neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Ann Oncol.* 2018 Jul 1;29(7):1497–508.

68. Sharma P, López-Tarruella S, García-Saenz JA, Khan QJ, Gómez HL, Prat A, et al. Pathological Response and Survival in Triple-Negative Breast Cancer Following Neoadjuvant Carboplatin plus Docetaxel. *Clin Cancer Res.* 2018 Dec 1;24(23):5820–9.

69. Pandya JGP, Balolong-Garcia JC, Cruz-Ordinario MVB, Que FVF. Triple negative breast cancer and platinum-based systemic treatment: a meta-analysis and systematic review. *BMC Cancer*. 2019 Nov 8;19(1):1065.
70. Isakoff SJ, Mayer EL, He L, Traina TA, Carey LA, Krag KJ, et al. TBCRC009: A Multicenter Phase II Clinical Trial of Platinum Monotherapy With Biomarker Assessment in Metastatic Triple-Negative Breast Cancer. *J Clin Oncol*. 2015 Jun 10;33(17):1902–9.
71. Schmid P, Cortes J, Pusztai L, McArthur H, Kümmel S, Bergh J, Denkert C, Park YH, Hui R, Harbeck N, Takahashi M, Foukakis T, Fasching PA, Cardoso F, Untch M, Jia L, Karantza V, Zhao J, Aktan G, Dent R, O'Shaughnessy J; KEYNOTE-522 Investigators. Pembrolizumab for Early Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2020 Feb 27;382(9):810-821.
72. Guestini F, Ono K, Miyashita M, Ishida T, Ohuchi N, Nakagawa S, et al. Impact of Topoisomerase II α , PTEN, ABCC1/MRP1, and KI67 on triple-negative breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat*. 2019 Jan;173(2):275–88.
73. Asano T. Drug Resistance in Cancer Therapy and the Role of Epigenetics. *J Nippon Med Sch*. 2020 Dec 14;87(5):244–51.
74. Eltohamy MI, Badawy OM, El kinaai N, Loay I, Nassar HR, Allam RM, Sakr MA. Topoisomerase II α Gene alteration in Triple Negative Breast Cancer and Its Predictive Role for Anthracycline-Based Chemotherapy (Egyptian NCI Patients). *Asian Pac J Cancer Prev*. 2018 Dec 25;19(12):3581-3589.
75. Badawy OM, Loay I. FISH Analysis of TOP2A and HER-2 Aberrations in Female Breast Carcinoma on Archived Material: Egyptian NCI Experience. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2019 Mar;27(3):216–22.
76. Tibau A, López-Vilaró L, Pérez-Olabarria M, Vázquez T, Pons C, Gich I, et al. Chromosome 17 centromere duplication and responsiveness to

- anthracycline-based neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Neoplasia*. 2014 Oct;16(10):861–7.
77. Heestand GM, Schwaederle M, Gatalica Z, Arguello D, Kurzrock R. Topoisomerase expression and amplification in solid tumours: Analysis of 24,262 patients. *Eur J Cancer*. 2017 Sep;83:80–7.
78. Engelstaedter V, Schiffers J, Kahlert S, Mainka P, Engel J, Kirchner T, et al. Her-2/neu and topoisomerase II α in advanced breast cancer: a comprehensive FISH analysis of 245 cases. *Diagn Mol Pathol*. 2012 Jun;21(2):77–83.
79. Delgado JL, Hsieh CM, Chan NL, Hiasa H. Topoisomerases as anticancer targets. *Biochem J*. 2018 Jan 23;475(2):373–98.
80. Wang JC. Interaction between DNA and an *Escherichia coli* protein omega. *J Mol Biol*. 1971 Feb 14;55(3):523–33.
81. Gellert M, Mizuuchi K, O’Dea MH, Nash HA. DNA gyrase: an enzyme that introduces superhelical turns into DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1976 Nov;73(11):3872–6.
82. Liu T, Zhang H, Yi S, Gu L, Zhou M. Mutual regulation of MDM4 and TOP2A in cancer cell proliferation. *Mol Oncol*. 2019 May;13(5):1047–58.
83. Coons AH, Creech HJ, Jones RN. Immunological Properties of an Antibody Containing a Fluorescent Group. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1941;47(2):200-202.
84. Wall ME, Wani MC, Cook CE, Palmer KH, McPhali AT, Sim GA. Plant Antitumor Agents. I. The Isolation and Structure of Camptothecin, a Novel Alkaloidal Leukemia and Tumor Inhibitor from *Camptotheca acuminata* 1,2. *Am. Chem. Soc*. 1966 Aug 1; 88(16):3888–3890.
85. Huang WC, Lee CY, Hsieh T shih. Single-molecule Förster resonance energy transfer (FRET) analysis discloses the dynamics of the DNA–

- topoisomerase II (Top2) interaction in the presence of TOP2-targeting agents. *J Biol Chem*. 2017 Jul 28;292(30):12589–98.
86. Osheroff N. Getting stressed over topoisomerase I poisons. *Cell Chem Biol*. 2021 Jun 17;28(6):743–5.
87. Vesela E, Chroma K, Turi Z, Mistrik M. Common Chemical Inductors of Replication Stress: Focus on Cell-Based Studies. *Biomolecules*. 2017 Feb 21;7(1):19.
88. Montecucco A, Zanetta F, Biamonti G. Molecular mechanisms of etoposide. *EXCLI J*. 2015 Jan 19;14:95–108.
89. Twelves C, Jove M, Gombos A, Awada A. Cytotoxic chemotherapy: Still the mainstay of clinical practice for all subtypes metastatic breast cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016 Apr;100:74–87.
90. Chen T, Sun Y, Ji P, Kopetz S, Zhang W. Topoisomerase II α in chromosome instability and personalized cancer therapy. *Oncogene*. 2015 Jul 30;34(31):4019–31.
91. Henriksen PA. Anthracycline cardiotoxicity: an update on mechanisms, monitoring and prevention. *Heart*. 2018 Jun;104(12):971–7.
92. Hardaway BW. Adriamycin-associated cardiomyopathy: where are we now? updates in pathophysiology, dose recommendations, prognosis, and outcomes. *Curr Opin Cardiol*. 2019 May;34(3):289–95.
93. Li X ru, Liu M, Zhang Y jun, Wang J dong, Zheng Y qiong, Li J, et al. ER, PgR, HER-2, Ki-67, topoisomerase II α , and nm23-H1 proteins expression as predictors of pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast cancer. *Med Oncol*. 2011 Dec;28 Suppl 1:S48-54.
94. Şahin S, Işık Gönül İ, Çakır A, Seçkin S, Uluoğlu Ö. Clinicopathological Significance of the Proliferation Markers Ki67, RacGAP1, and Topoisomerase 2 Alpha in Breast Cancer. *Int J Surg Pathol*. 2016 Oct;24(7):607–13.

95. Arthi M, Arun Kumar K, D’Cruze L, S R, Joseph LD, Dev B. The Significance of Topoisomerase II Alpha in Invasive Breast Carcinoma. *Cureus*. 2021 Oct;13(10):e18733.
96. An X, Xu F, Luo R, Zheng Q, Lu J, Yang Y, Qin T, Yuan Z, Shi Y, Jiang W, Wang S. The prognostic significance of topoisomerase II alpha protein in early stage luminal breast cancer. *BMC Cancer*. 2018 Mar 27;18(1):331.
97. Mrklič I, Pogorelić Z, Čapkun V, Tomić S. Expression of topoisomerase II- α in triple negative breast cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2014 Mar;22(3):182–7.
98. Durbecq V, Paesmans M, Cardoso F, Desmedt C, Di Leo A, Chan S, et al. Topoisomerase-II alpha expression as a predictive marker in a population of advanced breast cancer patients randomly treated either with single-agent doxorubicin or single-agent docetaxel. *Mol Cancer Ther*. 2004 Oct;3(10):1207–14.
99. Sparano JA, Goldstein LJ, Childs BH, Shak S, Brassard D, Badve S, et al. Relationship between Topoisomerase 2A RNA Expression and Recurrence after Adjuvant Chemotherapy for Breast Cancer. *Clin Cancer Res*. 2009 Dec 15;15(24):7693–700.
100. Rody A, Karn T, Ruckhäberle E, Müller V, Gehrman M, Solbach C, et al. Gene expression of topoisomerase II alpha (TOP2A) by microarray analysis is highly prognostic in estrogen receptor (ER) positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2009 Feb;113(3):457–66.
101. Prognostic Significance of TOP2A Gene Dosage in HER-2-Negative Breast Cancer - PMC [Internet]. [cited 2023 Sep 30]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3481890/>

102. Sparano JA, Goldstein LJ, Davidson NE, Sledge GW, Gray R. TOP2A RNA expression and recurrence in estrogen receptor-positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2012 Jul;134(2):751–7.
103. Scandinavian Breast Group Trial 9401, Tanner M, Isola J, Wiklund T, Erikstein B, Kellokumpu-Lehtinen P, et al. Topoisomerase IIalpha gene amplification predicts favorable treatment response to tailored and dose-escalated anthracycline-based adjuvant chemotherapy in HER-2/neu-amplified breast cancer: Scandinavian Breast Group Trial 9401. *J Clin Oncol.* 2006 Jun 1;24(16):2428–36.
104. Di Leo A, Gancberg D, Larsimont D, Tanner M, Jarvinen T, Rouas G, et al. HER-2 amplification and topoisomerase IIalpha gene aberrations as predictive markers in node-positive breast cancer patients randomly treated either with an anthracycline-based therapy or with cyclophosphamide, methotrexate, and 5-fluorouracil. *Clin Cancer Res.* 2002 May;8(5):1107–16.
105. Ali Y, Abd Hamid S. Human topoisomerase II alpha as a prognostic biomarker in cancer chemotherapy. *Tumour Biol.* 2016 Jan;37(1):47–55.
106. Sekine I, Shimizu C, Nishio K, Saijo N, Tamura T. A literature review of molecular markers predictive of clinical response to cytotoxic chemotherapy in patients with breast cancer. *Int J Clin Oncol.* 2009 Apr 1;14(2):112–9.
107. Ghaemian N, Haji Ghazi Tehrani N, Nabahati M. Accuracy of mammography and ultrasonography and their BI-RADS in detection of breast malignancy. *Caspian J Intern Med.* 2021;12(4):573–9.
108. Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, Wanders J, Kaplan RS, Rubinstein L, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst.* 2000 Feb 2;92(3):205–16.

109. Tan QX, Qin QH, Yang WP, Mo QG, Wei CY. Prognostic value of Ki67 expression in HR-negative breast cancer before and after neoadjuvant chemotherapy. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(10):6862–70.
110. Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software “EZR” for medical statistics. *Bone Marrow Transplant*. 2013 Mar;48(3):452–8.
111. Гур’янов ВГ, Лях ЮЄ, Парій ВД, Короткий ОВ, Чалий ОВ, Чалий КО, Цехмістер ЯВ. Посібник з біостатистики. Аналіз результатів медичних досліджень у пакеті EZR (R-statistics). К. : Вістка, 2018. 208 с.
112. Samusieva A, Serga S, Klymenko S, Rybchenko L, Klimuk B, Zakhartseva L, et al. Contribution of BRCA1 5382insC mutation to triplenegative and luminal types of breast cancer in Ukraine. *Breast Cancer Res Treat*. 2022 Oct;195(3):453–9.
113. Chong A, Weinstein SP, McDonald ES, Conant EF. Digital Breast Tomosynthesis: Concepts and Clinical Practice. *Radiology*. 2019 Jul;292(1):1–14.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях:

1. А.А. Самусєва. Рівень експресії топоізомерази Па як прогностичний показник у хворих на рак молочної залози (огляд літератури). (2018). Практична онкологія. Том 1, №1: 11-14. DOI: 10.22141/oncology.1.1.2018.155376
2. А.А. Самусєва, О.С. Зотов. (2019). Протипухлинна хіміотерапія: можливі ризики, помилки при проведенні й шляхи їх профілактики. Практична онкологія. Том 2, №1: 26-29. DOI: 10.22141/oncology.2.1.2019.165450
3. А.А. Самусєва, О.В. Пономарьова, В.В. Зайчук. (2020) Вплив вітаміну D на ризики розвитку раку молочної залози. Здоровье женщины. №7(153): 84-87.
4. Т.А. Кравчун, А.А. Самусєва, В.В. Зайчук. Маркування як метод рутинного контролю відповіді пухлини на терапію. Практична онкологія. 2021. Том 4, №1: 45-51. DOI: <https://doi.org/10.22141/2663-3272.4.1.2021.229872>
5. A. Samusieva, S. Serga, S. Klymenko, et al. (2022) Contribution of *BRCAl* 5382insC mutation to triplene-gative and luminal types of breast cancer in Ukraine. Breast Cancer Research and Treatment. 195(3):453-459. DOI: 10.1007/s10549-022-06692-3
6. A.Samusieva, R. Liubota, V. Zaichuk, O. Ponomarova, I. Liubota (2023) Planning and use of oncoplastic surgery for breast cancer. Reproductive health of women. 1(64): 82-87. DOI: <https://doi.org/10.30841/2708-8731.1.2023.276256>
7. А.А. Самусєва. Топоізомераза II альфа та її вплив на ефективність неоад'ювантної хіміотерапії при тричі негативному раку молочної залози. Онкологія. 2023. Том 25, №1: 69-73. DOI: <https://doi.org/10.15407/oncology.2023.01.069>

Патенти на корисну модель:

8. А.А. Самусєва, О.В. Пономарьова, О.О. Кошик, В.В. Зайчук. (2020) Патент на корисну модель «Спосіб прогнозування відповіді на антрациклінвмісну хіміотерапію у хворих на рак молочної залози». Патент на корисну модель № 144983 Україна, № u 202003389; заявл. 03.06.2020; опубл. 11.11.2020; Бюл. № 21/2020.

Тези доповідей:

9. А.А. Самусєва, Р.В. Любота, О.С. Зотов, О.В. Пономарьова, Р.І. Верещако. Значення експресії топоізомерази 2 α у хворих на рак молочної залози. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «European biomedical young scientist conference NMAPЕ» (до 100-річчя заснування Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України), 19-21 квітня 2018 року, м. Київ. С. 119.
10. А.А. Самусєва, О.В. Пономарьова. Топоізомераза 2 альфа як предиктивний маркер у хворих на тричі негативний рак молочної залози. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених, присвяченої Дню науки, 16-17 травня 2019 року, м. Київ. С. 63-64.
11. А.А. Самусєва, О.В. Пономарьова, В.В. Зайчук. Топоізомераза 2 альфа як прогностичний маркер у хворих на різні молекулярні підтипи раку молочної залози. 3-4 жовтня 2019 року, м. Київ. Матеріали конференції журнал Онкологія т.21, №3(81), 2019. С. 264.
12. А. Samusieva, O. Ponomarova, V. Zaichuk. Predicative significance of topoisomerase 2 Alpha in patients with triple-negative breast cancer. Збірник тез матеріалів науково-практичної конференції з міжнародною участю Young science 4.0 (для молодих вчених, 30 травня 2022 року, м. Київ. С. 53-54.