



Бородина Мария Евгеньевна

**ТАРГЕТНАЯ ДЕТЕКЦИЯ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРА HER2/NEU
У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
МЕЧЕННОГО ТЕХНЕЦИЕМ-99М КАРКАСНОГО ПРОТЕИНА DARPIN-
(HE)3-G3**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

3.1.25. Лучевая диагностика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» и Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

член-корр. РАН, доктор медицинских наук
Феденко Александр Александрович
доктор медицинских наук
Брагина Ольга Дмитриевна

Официальные оппоненты:

**Новиков Сергей
Николаевич**

доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, научное отделение радиационной онкологии и ядерной медицины, заведующий, ведущий научный сотрудник

**Станжевский Андрей
Алексеевич**

доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий имени академика А.М. Гранова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заместитель директора по научной работе

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва)

Защита состоится «___» _____ 2026 года в ___ часов ___ минут на заседании диссертационного совета 24.1.215.06 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» по адресу: г. Томск, пер. Кооперативный 5.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», адрес сайта <http://tnimc.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 2026 года

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук



Медведева А.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

В настоящее время в онкологической практике широко применяется концепция персонифицированной медицины, к одному из наиболее стремительно развивающихся направлений которой относится *тераностика* (Чернов В.М. и соавт., 2018; Tolmachev V. et al, 2020). Термин «тераностика» объединяет в себе понятия «*терапия*» и «*диагностика*» и подразумевает использование агентов или методов, включающих диагностическую визуализацию и таргетную терапию (Брагина О.Д. и соавт., 2022; Turner N.H. et al., 2013). При этом, «визуализирующий» этап тераностического подхода состоит из обработки изображений, визуализации биологической мишени и идентификации подгруппы пациентов, у которых ожидается наибольшая эффективность планируемого лечения; последующий же «терапевтический» этап представляет собой введение лекарственного агента, воздействующего на выявленные ранее мишени (Брагина О.Д. и соавт., 2019; Bragina O. et al, 2022). Основными целями данной стратегии являются повышение эффективности проводимой терапии, улучшение показателей выживаемости онкологических больных, снижение побочных реакций и вытекающее из этого уменьшение общих затрат. Стремительный прогресс в развитии тераностического подхода во многом обусловлен получением новых данных о молекулярных основах канцерогенеза, созданием технологий изготовления новых биологических агентов, а также улучшением качества и точности диагностических приборов (Krasniqi A. et al, 2018; Eissler N. et al., 2024).

Рецептор эпидермального фактора роста HER2/neu. Одной из наиболее изученных молекулярных мишеней, встречающихся на поверхности опухолевых клеток, является рецептор эпидермального фактора роста 2 типа (HER2/neu), относящийся к семейству трансмембранных рецепторов тирозинкиназ EGF (рецептор эпидермального фактора роста: ErbB1/HER1; ErbB2/HER2; ErbB3/HER3; ErbB4/HER4) и регулирующий процессы клеточного деления, роста, дифференцировки, пролиферации, миграции и апоптоза (Gutierrez C. et al., 2011; Nagini S. et al., 2017; Grassini D. et al., 2022).

Наиболее часто гиперэкспрессия HER2/neu и/или амплификация гена ERBB2 отмечается при инвазивном раке молочной железы (ПМЖ) (Broughton M.N. et al., 2017; Ahn S. et al., 2020) (частота 15 – 20 % случаев) и является неблагоприятным прогностическим фактором у данной категории пациентов, что проявляется агрессивным течением заболевания, а также низкими показателями общей и безрецидивной выживаемости (Cronin K.A. et al., 2010). Помимо этого, положительная экспрессия данного рецептора, согласно российским и международным клиническим рекомендациям, требует назначения направленного (таргетного) лечения с использованием таких таргетных препаратов, как трастузумаб (Герцептин), пертузумаб (Перьета), лапатиниб (Тайверб), трастузумаб эмтанзин (T-DM1, Кадсила), а также трастузумаб дерукстекан (Энхерту) (Тюляндин С.А. и соавт., 2023; Slamon D.J. et al., 2011; Swain S.M. et al., 2015; Modi S. et al., 2020; Cortes J. et al., 2022), что увеличивает частоту ответа, показателей общей, безрецидивной выживаемости, а также выживаемости без прогрессирования и общей выживаемости (Тюляндин С.А. и соавт., 2022; Schneeweiss A. et al., 2014).

Избирательность таргетной терапии диктует необходимость тщательного отбора кандидатов (Liu M.A. et al., 2019; Tsai T.F. et al., 2019). В настоящее время для определения статуса HER2/neu используются методики, оценивающие экспрессию маркера на уровне белка, ДНК и РНК. Наибольшее распространение получили одобренные FDA иммуногистохимическое исследование (ИГХ) и флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) (Wesola M.A. et al., 2015; Wollf A.C. et al., 2023). С клинической точки зрения их существенным недостатком на диагностическом этапе является невозможность одномоментной оценки распространенности опухолевого процесса *in vivo* с анализом молекулярных характеристик выявленных опухолевых очагов до назначения специального лечения (Griguolo G. et al., 2019; Ocana A. et al., 2020). Данный факт имеет особое значение в аспекте все чаще обсуждаемой межопухолевой гетерогенности экспрессии HER2/neu в первичной опухоли, регионарных и отдаленных метастатических очагах, что может встречаться по данным различных анализов до 6 – 48 % случаев (Lower E.E. et al., 2017; Schrijver W.M. et al., 2018). Наиболее существенное значение данный факт имеет при метастатическом и местно-распространенном раках молочной железы, характеризующихся длительным и «волнообразным» течением и требующих комплексного и продолжительного лечения. Выполнение же биопсии из существующих и/или вновь выявленных метастатических очагов для оптимизации тактики лечения у каждого пациента порой технически невозможно, либо может повлечь за собой серьезные осложнения (Turner N.H. et al., 2013).

Радионуклидные методы диагностики HER2-позитивного рака молочной железы. В последние годы для выявления злокачественных новообразований изучаются таргетные радионуклидные методы исследования (Брагина О.Д. и соавт., 2021; Jadvar G. et al., 2018). По сравнению с «инвазивными» методами диагностики, молекулярная радионуклидная визуализация онкологических заболеваний позволяет не только одномоментно определить анатомическое расположение опухолевых очагов (одномоментная визуализация первичной опухоли, регионарных лимфатических узлов и отдаленных органов и тканей) (Bodei L. et al., 2022), но и оценить их молекулярные характеристики, например экспрессию HER2/neu. К дополнительным преимуществам данной методики относятся неинвазивный характер исследования с возможностью проведения повторных визуализаций и оценка экспрессии таргетного маркера в динамике проводимого лечения (Gallivanone F. et al., 2017).

Структура радиофармацевтического лекарственного препарата (РФЛП) как правило одинакова и состоит из «нацеливающего» модуля (или лиганд-мишень), соединенного с помощью линкера/хелатора с «визуализирующим» компонентом (диагностическим радиоизотопом). Введенный в организм пациента РФЛП взаимодействует с искомой мишенью (рецептором), а излучение изотопа при этом регистрируется внешними детекторами (Jadvar G. et al., 2018; Bragina O. et al., 2022).

В настоящее время в качестве неинвазивных диагностических методик в ядерной медицине используются однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ) и позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ). В зависимости от излучения (гамма-кванты или β -положительные излучатели), которое исходит от радионуклида основным принципом разделения РФЛП является метод получения изображения (Li L. et al., 2017; Ljungberg M. et al., 2018). ОФЭКТ получила широкое распространение во многом благодаря своей низкой себестоимости, в то время как

ПЭТ-диагностика, имеющая более высокую стоимость, обеспечивает значительно лучшую чувствительность, пространственное разрешение и точность количественного определения. В тоже время, недавнее внедрение сканеров для ОФЭКТ-диагностики на основе теллурида кадмия и цинка позволяет значительно увеличить чувствительность и разрешение камеры (Massicano A.V. et al., 2018).

Альтернативные каркасные белки. В настоящее время большую популярность в качестве «нацеливающих» модулей приобретает новый класс таргетных молекул, получивших название «альтернативные каркасные белки» (АКБ) или «скаффолды» (scaffolds) и отвечающих всем требованиям для оптимальной доставки радионуклида к опухолевым клеткам. К несомненным преимуществам таких конструкций относятся значительно меньшие размеры по сравнению со стандартным антителом, что увеличивает проникновение вещества в опухоль; стабильная структура; дополнительная функционализация и экспрессия в бактериальной системе, обеспечивающие низкие затраты на производство; высокая термостабильность, способствующая длительному хранению препарата при комнатной температуре, возможность прямого химического синтеза, а также быстрое выведение из организма пациента, что существенно сокращает время от момента введения РФЛП до начала исследования (Bragina O. et al., 2022; Larkina M. et al., 2022).

Одними из представителей АКБ являются *Дарпины* (DARPin – Designed Ankyrin Repeat Proteins), которые были сконструированы на основе белков анкиринов, участвующих в прикреплении мембранных белков к цитоскелету (Брагина О.Д. и соавт., 2021; Ko F.P. et al., 2016). Каркас Дарпинов может включать 4-6 анкириновых доменов, каждый из которых содержит 33 аминокислоты; домены организованы как две антипараллельные альфа-спирали с бета-поворотом между ними. Поскольку молекулярная масса одного модуля чуть больше 3,5 кДа, а дарпины состоят из 4–6 модулей, их молекулярный вес колеблется от 14 до 21 кДа и составляет примерно одну десятую размера обычного антитела (IgG) или одну треть размера Fab. Доклинические исследования различных вариаций дарпинов показали их высокую тропность и специфичность к рецептору HER2/neu (Gabriele F. et al., 2023; Deyev S.M. et al., 2024).

Результаты доклинических *in vitro* и *in vivo* исследований меченной технецием-99m молекулы DARPin(HE)₃-G3 продемонстрировали ее высокую специфичность и пикомолярную аффинность к рецептору HER2/neu и перспективность ее дальнейшего клинического изучения (Vorobyeva A. et al., 2018; Vorobyeva A. et al., 2019). Результаты I фазы клинических испытаний продемонстрировали у больных раком молочной железы с использованием препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE)₃-G3 показали его безопасность, удовлетворительные фармакокинетические свойства, а также более высокое накопление в опухолях молочной железы с высокой экспрессией рецептора HER2/neu ($p < 0,05$, Mann-Whitney U test). Вопросы, касающиеся выбора дозировки протеина для дальнейшего клинического исследования, были затронуты в ходе выполненного анализа лишь частично (Bragina O. et al., 2022).

Изменение парадигм в отношении эффективности таргетных препаратов (в частности, трастузумаба дерукстекана) в опухолях молочной железы с низкими значениями рецептора HER2/neu (Cortes J. et al., 2021), а также в отношении бинарного подхода оценки его экспрессии, способствовало увеличению интереса к возможной эффективности таргетной радионуклидной терапии, проводимой в аспекте тераностического подхода (Denkert C. et al., 2021; Barolia A. et al., 2023). В этом

случае, при смене диагностического этапа на терапевтический важным будет выбор категорий пациентов с различной экспрессией HER2/neu, у которых можно ожидать наибольший эффект от проводимого лечения. В связи с этим, актуальным также является изучение корреляции накопления препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 с основными клинико-морфологическими параметрами, эффективностью предоперационного лечения и показателями выживаемости, что будет способствовать усилению понимания биологических процессов, а также выделению групп пациентов с потенциальной выгодой от таргетной радионуклидной терапии.

Учитывая мировые тенденции и перспективность данного научного направления в детекции статуса HER2/neu, в коллаборации в НИИ онкологии Томского НИМЦ, Томского политехнического университета (ТПУ), Института биоорганической химии (ИБХ) имени М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, а также Уппсальского университета (Швеция) было запланировано продолжение клинических испытаний препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 с определением оптимальной дозировки протеина и времени исследования после его введения, выделения диагностических критериев для дифференцировки первичной опухоли в зависимости от статуса HER2/neu, а также корреляция накопления с клинико-морфологическими характеристиками, эффективностью предоперационного системного лечения и выживаемостью у больных раком молочной железы.

Степень разработанности темы

Стремительное развитие молекулярных технологий и необходимость совершенствования существующих диагностических методик у больных злокачественными образованиями в течение последних тридцати лет, способствовало синтезу и изучению различных неиммуноглобулиновых каркасных протеинов, тропных к рецептору HER2/neu. Основными преимуществами данных молекул являются отсутствие иммуногенности, высокая термостабильность, возможность быстрой химической модификации при проведении процессов мечения, быстрая элиминация из организма пациента, что существенно сокращает временной интервал между введением препарата и началом исследования (Tolmachev V. et al., 2020).

К настоящему времени отделением радионуклидной терапии и диагностики НИИ онкологии Томского НИМЦ совместно с Томским политехническим университетом (ТПУ), Институтом биоорганической химии имени М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, а также Уппсальским университетом (Швеция) накоплен большой опыт по таргетной радионуклидной диагностике рецептора HER2/neu у больных раком молочной железы. Так первым препаратом, прошедшим клиническую апробацию, является [^{99m}Tc]Tc-DARPin9_29, который продемонстрировал свою безопасность, а также высокую специфичность в типировании опухолей молочной железы с положительной и отрицательной экспрессией HER2/neu ($p < 0,05$, Mann-Whitney U test) (Брагина, 2021). Несмотря на это, в ходе исследования была определена неэффективность использования данного соединения для оценки состояния печени и, соответственно, нецелесообразность его дальнейшего использования в диагностическом алгоритме обследования больных РМЖ (Брагина О.Д. и соавт., 2021; Vorobyeva A. et al., 2018).

Выполненная I фаза клинических исследований препарата [^{99m}Tc]Tc-ADAPT6 на базе отделения радионуклидной терапии и диагностики НИИ онкологии Томского НИМЦ продемонстрировала хорошую переносимость соединения, отсутствие изменений функционирования жизненно важных органов и возможность его использования для дифференцировки статуса HER2/neu в первичных опухолях молочной железы ($p < 0,05$, Mann-Whitney test) (Bragina O. et al., 2021). Еще одно клиническое исследование с препаратом [^{99m}Tc]Tc-ZHER2:41071 показало его безопасность, хорошую фармакокинетику и возможность дифференцировки статуса HER2/neu в первичной опухоли молочной железы при использовании дозировки 1000 мкг через 2 часа после введения ($p < 0,05$, Mann-Whitney test) (Bragina O. et al., 2023).

Принципиальное значение имеет выполненная I фаза клинических испытаний препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 с использованием в качестве «таргетного» модуля протеина DARPInG3, синтез которого осуществляется на территории Российской Федерации. Результатами выполненного анализа была показана безопасность, удовлетворительные фармакокинетические свойства, а также более высокое накопление в опухолях молочной железы с высокой экспрессией рецептора HER2/neu ($p < 0,05$, Mann-Whitney U test) (Bragina O. et al., 2022). Полученные положительные данные обусловили необходимость продолжения исследований и расширения их объема с определением оптимальной дозировки протеина и времени исследования после его введения, выделения диагностических критериев для дифференцировки первичной опухоли в зависимости от статуса HER2/neu, а также корреляция накопления с клинико-морфологическими характеристиками, эффективностью предоперационного системного лечения и выживаемостью у больных раком молочной железы.

Цель исследования

Оценить возможности таргетной детекции рецептора HER2/neu в первичной опухоли больных раком молочной железы с использованием радиофармацевтического лекарственного препарата на основе меченного технецием- 99m каркасного протеина DARPIn(HE) $_3$ -G3 и сопоставить его накопление с основными клинико-морфологическими параметрами, эффективностью предоперационной терапии и выживаемостью.

Задачи исследования

- 1) Определить оптимальную дозировку протеина для приготовления радиофармацевтического лекарственного препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 и время исследования для определения статуса HER2/neu в первичной опухоли больных раком молочной железы.
- 2) Выявить наиболее информативный диагностический критерий для дифференцировки статуса HER2/neu в первичной опухоли больных раком молочной железы при использовании препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3.
- 3) Соотнести аккумуляцию радиофармацевтического лекарственного препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 с основными клинико-морфологическими параметрами у больных раком молочной железы.
- 4) Определить связь накопления радиофармацевтического лекарственного препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 с эффективностью предоперационного лечения у больных раком молочной железы.

5) Провести корреляционный анализ накопления радиофармацевтического лекарственного препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ с выживаемостью у больных раком молочной железы.

Научная новизна

Впервые продемонстрирована возможность определения статуса HER2/neu в первичных опухолях с использованием радиофармацевтического лекарственного препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ в дозировке протеина 3000 мкг через 4 часа после введения у больных раком молочной железы.

Впервые выявлено, что наиболее информативным диагностическим критерием для дифференцировки статуса HER2/neu в первичной опухоли у больных раком молочной железы при использовании радиофармацевтического лекарственного препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ является параметр накопления в опухоли с пороговым значением ≥ 1975 импульсов с показателями чувствительности и специфичности 85,71 % и 81,25 %.

Впервые определена связь уровня накопления препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ с возрастом пациента, размером первичной опухоли, стадией заболевания и молекулярно-биологическим подтипом больных раком молочной железы.

Впервые определено отсутствие корреляции накопления радиофармацевтического лекарственного препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ с ответом опухоли на предоперационное лечение у больных раком молочной железы.

Впервые показано, что использование порогового значения соотношения опухоль/ШМС равного 2,12 с чувствительностью и специфичностью 70 % и 90 % позволяет прогнозировать развитие гематогенных метастазов у больных раком молочной железы при использовании радиофармацевтического лекарственного препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$.

Теоретическая и практическая значимость

Выполненный объем работ и полученные в ходе исследования результаты позволяют судить о возможностях таргетной радионуклидной детекции рецептора HER2/neu в первичной опухоли у больных раком молочной железы с использованием синтетических каркасных протеинов в клинической практике.

Практическую значимость работы составляют результаты, ассоциированные с возможностью применения радиофармацевтического лекарственного препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ для дифференцировки статуса рецептора HER2/neu в первичной опухоли больных раком молочной железы. При этом, оптимальным диагностическим критериями для достижения этой цели является параметр накопления в опухоли с пороговым значением 1975 импульсов с показателями чувствительности и специфичности 85,71 % и 81,25 %.

Дополнительное значение для практической медицины приобретает возможность использования порогового значения соотношения опухоль/ШМС препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$, который при показателе $\geq 2,12$ прогнозирует высокий риск развития гематогенных метастазов у больных раком молочной железы с чувствительностью и специфичностью 70 % и 90 %.

Методология и методы исследования

Основой методологии данной диссертации являются современные теоретические и практические знания отечественной и зарубежной онкологии и радионуклидной диагностики.

Представленная работа была выполнена на проспективном клиническом материале, включающем 50 больных раком молочной железы до начала системного лечения. Выполненные исследования проведены с использованием современных диагностических, морфологических, молекулярных, радиоизотопных, клинических и статистических методов.

На первом этапе исследования были определены оптимальные дозировка протеина, а также время исследования после введения для дальнейшего клинического использования.

Второй этап включал определение наиболее информативного диагностического критерия для оценки статуса HER2/neu в первичной опухоли больных раком молочной железы при использовании препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 путем анализа таких показателей, как накопление в опухоли, контрлатеральном участке противоположной молочной железы (фон), печени и широчайшей мышце спины, а также соотношений опухоль/фон, опухоль/печень и опухоль/широчайшая мышца спины. Помимо этого, проводилось соотношение параметров накопления препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 с основными клинико-морфологическими параметрами (возраст, состояние менструальной функции, размер опухоли, состояние регионарных лимфатических узлов, экспрессия рецептора эстрогена и маркера клеточной пролиферации Ki67, молекулярно-биологический подтип), а также эффективностью предоперационного лечения и выживаемостью.

Результаты выполненного исследования позволяют расширить представления о возможностях клинического применения радиофармацевтического препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 у больных раком молочной железы и его использовании в качестве дополнительного диагностического метода для оценки распространенности опухолевого процесса и статуса HER2/neu в первичной опухоли, а также определить связь накопления препарата с эффективностью предоперационного лечения и выживаемостью.

Положения, выносимые на защиту

1. Оптимальным для клинического использования у больных раком молочной железы является применение радиофармацевтического лекарственного препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 в дозировке протеина 3000 мкг с выполнением исследования через 4 часа после введения.

2. Наиболее информативным диагностическим критерием для дифференцировки статуса HER2/neu в первичной опухоли молочной железы при использовании радиофармацевтического лекарственного препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 является параметр накопления в опухоли с пороговым значением 1975 импульсов с показателями чувствительности и специфичности 85,71 % и 81,25 %.

3. Пороговое значение соотношения опухоль/ШМС $\geq 2,12$ с чувствительностью и специфичностью 70 % и 90 % прогнозирует высокий риск развития гематогенных метастазов при использовании радиофармацевтического лекарственного препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 у больных раком молочной железы.

Степень достоверности результатов

Высокая достоверность полученных результатов подтверждается достаточным объемом клинического материала, а также использованием адекватных поставленным задачам методологий и современных методов статистического анализа.

Апробация материалов диссертации

Материалы диссертации были доложены и обсуждены на следующих научно-практических конференциях: III международной научно-практической конференции «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы» (19 сентября 2024 г., Россия, Томск); IV международном форуме онкологии и радиотерапии «Ради жизни – FOR LIFE» (16-20 сентября 2024 г., Москва); V Юбилейном национальном международном конгрессе с международным участием «Времена года. Женское здоровье от юного до серебряного и золотого возраста» (17-18 октября 2024 г., Москва).

Публикации результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 4 печатные работы, в том числе 3 статьи в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации и цитируемых в базах Scopus и Web of Science, зарегистрирована 1 база данных.

Внедрение результатов исследования в клиническую практику

Научные положения и практические рекомендации, сформулированные в диссертации, в настоящее время используются в процессе обучения студентов и аспирантов лаборатории иммунологии, генетики и патологии, лаборатории медицинской химии Уппсальского университета (Швеция), а также в научно-исследовательском центре «Онкотераностика» Томского политехнического института. Результаты исследования внедрены в клиническую работу отделений радионуклидной терапии и диагностики, общей онкологии и химиотерапии НИИ онкологии Томского НИМЦ, а также отделения дневного стационара лекарственного лечения опухолей Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России.

Личный вклад автора

Личный вклад автора состоит в поиске и изучении имеющейся по теме диссертационного исследования литературы, разработке дизайна исследований, анализе фактического материала, статистической обработке и интерпретации полученных результатов, подготовке научных публикаций по результатам исследования, а также оформлении базы данных, отражающей сведения по клиническим, иммуногистохимическим и радиоизотопным исследованиям.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 133 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материала и методов исследования, 1 главы собственных исследований с обсуждением полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, включает список сокращений и список

литературы. Работа иллюстрирована 33 рисунками и 26 таблицами. Список литературы содержит 169 источников, из которых 13 отечественных и 156 зарубежных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В плане подготовки было получено одобрение биоэтического комитета НИИ онкологии Томского НИМЦ (протокол № 4 от 24.04.2021). Согласно Федеральному закону от 12.04.2010 № 61-ФЗ (ред. от 29.12.2015) «Об обращении лекарственных средств» и приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации № 1218н от 12.11.2020 «Об утверждении порядка изготовления радиофармацевтических лекарственных препаратов непосредственно в медицинских организациях» радиофармацевтические лекарственные препараты, изготовленные непосредственно в медицинских организациях в порядке, установленном уполномоченным федеральным органом исполнительной власти, не подлежат государственной регистрации» исследования с использованием радиофармпрепаратов для диагностики HER2-позитивных опухолей молочной железы получили одобрение приказом НИИ онкологии Томского НИМЦ № 24-п от 19.02.2018. Все пациенты перед введением препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 подписывали информированное согласие.

Набор клинического материала осуществлялся на базе отделений консультативно-госпитального приема НИИ онкологии Томского НИМЦ, планирование дизайна исследования, статистическая обработка и анализ полученных результатов осуществлялись на базе отделения лекарственного лечения опухолей Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России.

В исследование было включено 50 больных раком молочной железы (сT2-4сN0-3сM0-1) с положительной и отрицательной экспрессией HER2/neu в первичной опухоли молочной железы до начала локального/системного лечения, проходивших обследование и лечение в период с 2020-2023 гг. Критерии включения и исключения пациентов в исследование представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Критерии включения и исключения больных РМЖ в исследование

Критерии включения	Критерии исключения
– Возраст старше 18 лет; – Морфологически диагноз рака молочной железы T$_{2-4}$N$_{0-3}$M$_{0-1}$; – Наличие результатов определения статуса HER2/neu первичной опухоли (данные ИГХ и/или FISH-анализа). – Отсутствие изменений гематологических показателей; – Отрицательный тест на беременность у всех пациенток в репродуктивном возрасте; – Общее состояние больных с оценкой по системе ECOC ВОЗ 0 – 2 балла; – Возможность прохождения пациенткой всех диагностических манипуляций, планируемых в исследовании; – Подписанное информированное согласие пациента	– Отказ пациентки от исследования; – Тяжелое состояние пациентки; – Клаустрофобия; – Беременность; – Вторая локализация опухолевого процесса; – Аутоиммунное заболевание в активной фазе или аутоиммунное заболевание в анамнезе; – Подтвержденная ВИЧ-инфекция или гепатиты В и С. – Начало таргетной анти-HER2/neu терапии до проведения исследования

Дизайн исследования представлен на рисунке 1. *Первый этап исследования* включал 30 больных раком молочной железы, которые были разделены на 3 группы в зависимости от используемых дозировок протеина DARPin(HE)₃-G3, равных 1000 мкг, 2000 мкг и 3000 мкг (в каждой группе у 5 пациенток была выявлена положительная экспрессия HER2/neu, у 5 – отрицательная).

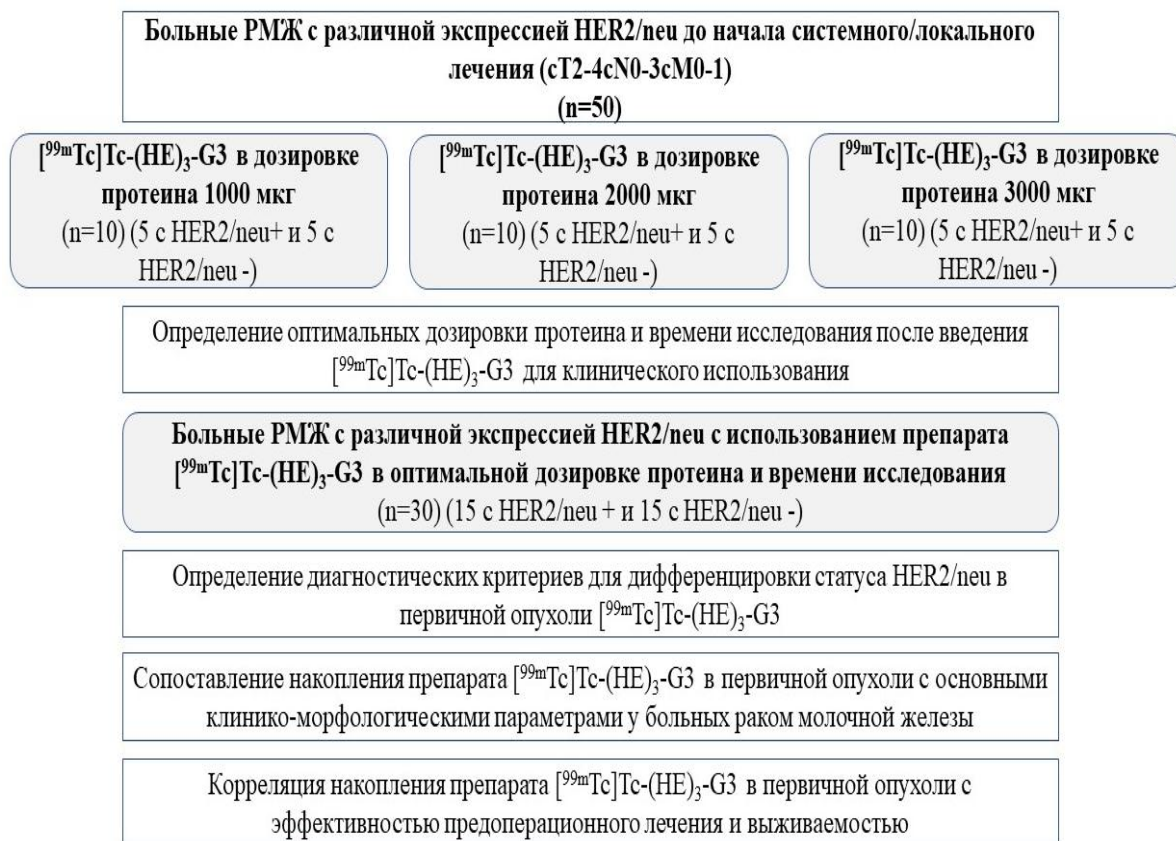


Рисунок 1 – Дизайн исследования с препаратом [^{99m}Tc]Tc-(HE)₃-G3

Проводилось определение оптимальных дозировки протеина и интервал времени после введения препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE)₃-G3 для последующих клинических испытаний. *На втором этапе* в подгруппу с определенными на предыдущем этапе дозировкой протеина и времени исследования дополнительно были включены 20 больных раком молочной железы (суммарно 15 пациенток с положительной экспрессией HER2/neu и 15 – с отрицательной). В рамках второго этапа выполнялись определение диагностических критериев для дифференцировки статуса HER2/neu в первичной опухоли у больных раком молочной железы при использовании препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE)₃-G3, а также корреляция его аккумуляции с основными клинико-морфологическими параметрами, эффективностью предоперационного лечения и показателями выживаемости.

Характеристика клинического материала. В группе больных, вошедших в первый этап исследования, преобладали пациентки возрастной группы 45 лет и старше (средний возраст больных 46,5 ± 10,2 лет) (53 %) с сохраненной менструальной функцией (77 %), без поражения регионарных лимфатических узлов (63 %) и ПА стадией опухолевого процесса (63 %). Помимо этого, наиболее частым

молекулярно-биологическим фенотипом у вошедших в исследование пациентов являлся Люминальный В HER2-позитивный рак молочной железы (38 %).

Среди пациенток второго этапа преобладали больные в возрастной группе 45 лет и старше (средний возраст больных $49,3 \pm 11,4$ лет) (77 %) с сохраненной менструальной функцией (57 %), без вовлечения в процесс регионарных лимфатических узлов (76 %) и IIА стадией опухолевого процесса (76 %). Положительная экспрессия рецептора эстрогена отмечалась у 63 % пациенток, отрицательная – у 37 %. Значения маркера клеточной пролиферации Ki67 менее 20 % отмечались в 20 % случаев, 20 и более % – в 80 %. При анализе иммуногистохимических характеристик преобладал Люминальный В HER2-позитивный молекулярно-биологический подтип рака молочной железы (30 %).

Все пациенты, вошедшие во II этап настоящего клинического наблюдения после этапа комбинированного лечения, находились на динамическом наблюдении. У 12 (40 %) пациенток отмечалось прогрессирование заболевания: в 2 (17 %) случаях – локорегионарный рецидив и в 10 (83 %) – отдаленные метастазы в висцеральные органы (50 %) и кости (50 %).

Всем больным с гиперэкспрессией HER2/neu и с тройным отрицательным фенотипом в первичной опухоли на первом этапе комбинированного лечения согласно Российским клиническим рекомендациям проводилось предоперационное системное лечение (Тюляндин С.А. и соавт., 2023). Помимо этого, согласно клинической ситуации в 3 случаях Люминального В HER2-отрицательного рака также проводились курсы неоадьювантной терапии. У 9 (30 %) больных после проведения предоперационного лечения отмечалась полная морфологическая регрессия (pCR), у 14 (70 %) пациенток – остаточная опухоль (non-pCR).

Методы исследования

Проведение догоспитального обследования, а также периоды и объем исследований после проведения комбинированного лечения у больных раком молочной железы выполнялись в соответствии с Российскими клиническими рекомендациями (Тюляндин С.А. и соавт., 2023).

Морфологические методы исследования. У всех больных проводились морфологический и иммуногистохимический анализы биопсийного материала опухоли молочной железы по стандартным методикам на базе отделения общей и молекулярной патологии НИИ онкологии Томского НИМЦ. Диагноз рака молочной железы устанавливался согласно «Гистологической классификации опухолей молочной железы» (ВОЗ, 2012). Подтверждение метастатического поражения регионарных лимфатических узлов осуществлялось с помощью анализа цитологического и/или морфологического материала. Оценка лечебного патоморфоза осуществлялась по системе «Residual Cancer Burden» (RCB) и по Г.А. Лавниковой по стандартным методикам (Андреева и соавт., 2016).

HER2-статус оценивался в соответствии с рекомендациями ASCO/CAP от 2023 года, согласно которым отрицательной экспрессия HER2/neu считалась при отсутствии окрашивания или со слабым, прерывистым мембранным окрашиванием (0 и 1+), положительной – в случаях с периферическим мембранным полным интенсивным окрашиванием более 10 % опухолевых клеток (3+). В сомнительных случаях (2+) результат подтверждался амплификацией гена HER2 методом

гибридизации *in situ* (FISH) с использованием ДНК-зонда ERBB2(17q12)/SE17 (Kreatech, США). (Wolff A.C. et al., 2023).

Наработка протеина DARPin(HE)₃-G3 выполнялась в бактериальном продуценте в лаборатории молекулярной иммунологии ФГБУН Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН под руководством академика РАН, проф. С.М. Деева. Последовательность представленных в протеине аминокислотных остатков была следующая: MRGSHEHEHEGSDLGKKLLEAARAGQDDEVRLMANGADVNAKEYGLTPYLATA HGHLEIVEVLLKNGADVNAVDAIGFTPLHLAAFIGHLEIAEVLLKHGADVNAADKGK TAFDISIGNGNEDLAEILQKLN (молекулярная масса молекулы составила 18160.29).

Радионуклидные исследования. Препарат [^{99m}Tc]Tc-(HE)₃-G3 готовился непосредственно перед введением пациенту по трикарбонильной методике) (Bragina O. et al., 2022) на базе отделения радионуклидной диагностики и терапии НИИ онкологии Томского НИМЦ с использованием трех дозировок протеина: 1000, 2000 и 3000 мкг. По результатам исследования средняя введенная активность препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE)₃-G3 составляла 287 ± 30 МБк. Радиохимический выход составил 83 ± 9 %, радиохимическая чистота – 98 ± 8%.

У всех больных раком молочной железы выполнялась однофотонная эмиссионная компьютерная томография с использованием препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE)₃-G3 в положении лежа на спине с заведенными за голову руками; в поле зрения детектора входили голова, шея, аксиллярная область и грудная клетка до уровня бифуркации трахеи и верхний этаж брюшной полости. На первом этапе исследование проводилось через 2, 4 и 6 часов после внутривенного введения препарата, на втором – через оптимальный временной интервал, определенный ранее. Анализ выполнялся на гамма-камере E.CAM 180 фирмы Siemens (Германия) с использованием параллельных высокоразрешающих коллиматоров для энергии 140 кэВ со скоростью сканирования 12 см/мин, запись исследования производилась на матрицу 256×1024 пикселей без аппаратного увеличения по стандартному протоколу исследования. Для оценки накопления [^{99m}Tc]Tc-(HE)₃-G3 при ОФЭКТ использовался объем 3,5 см³ (volume of interest, VOI), который был очерчен на томограммах с центром на самом высоком уровне поглощения опухолью. Для достижения количественного счета данный объем копировался в проекцию зон интереса, числовые значения выражались в импульсах.

При анализе данных ОФЭКТ *на первом этапе* оценивалось накопление радиофармпрепарата [^{99m}Tc]Tc-(HE)₃-G3 в первичной опухоли молочной железы и печени у больных раком молочной железы через 2, 4 и 6 часов после введения. Дополнительно определялись оптимальные дозировка соединения и время исследования после введения соединения. *На втором этапе* с использованием оптимальной дозировки протеина и времени проведения исследования после введения препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE)₃-G3, анализировались его накопление в опухоль, контралатеральный участок противоположной молочной железы (фон), печень и широчайшую мышцу спины (ШМС), также определялись соотношения опухоль/фон, опухоль/печень и опухоль/ШМС. Выбор референсных органов основывался на результатах клинических исследований других каркасных протеинов, где большая информативность была получена при использовании параметров накопления препарата в печени и широчайшей мышце спины (Sandström M. et al., 2016; Sandberg D. et al., 2017).

Статистическая обработка результатов. В выполненной работе для статистической обработки результатов исследования применялись программы IBM SPSS Statistics v.20.0 и Statistica 10.0. Нормальность распределения количественных показателей проверяли с применением критерия Шапиро-Уилка. Поскольку данные не соответствовали нормальному распределению, для сравнения независимых групп использовали непараметрические методы: критерии Манна-Уитни (при сравнении двух групп) и Краскела-Уоллиса (при сравнении трёх и более групп). Результаты представлены в формате медианы (Me) с указанием 25-го (Q1) и 75-го (Q3) квартилей. Прогностическая ценность параметров анализировалась с построением ROC-кривых. Оценку выживаемости проводили методом Каплана-Майера, для сравнения кривых выживаемости использовали лог-ранговый критерий. Во всех видах анализа порогом статистической значимости служило значение $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Накопление препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ в первичной опухоли. При использовании радиофармацевтического лекарственного препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ визуализация опухолей молочной железы была выявлена во всех случаях независимо от используемой дозировки протеина и статуса HER2/neu. Анализ аккумуляции препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ в первичной опухоли молочной железы показал более высокие значения у больных с гиперэкспрессией HER2/neu при использовании всех трех дозировок меченного протеина ($p < 0,05$, Mann-Whitney test). При этом, более значимая разница в накоплении в опухолях молочной железы с положительной и отрицательной экспрессии HER2/neu была выявлена у больных с дозой протеина 3000 мкг и времени исследования 4 часа после введения ($p = 0,0243$, Mann-Whitney test) (рисунок 2).

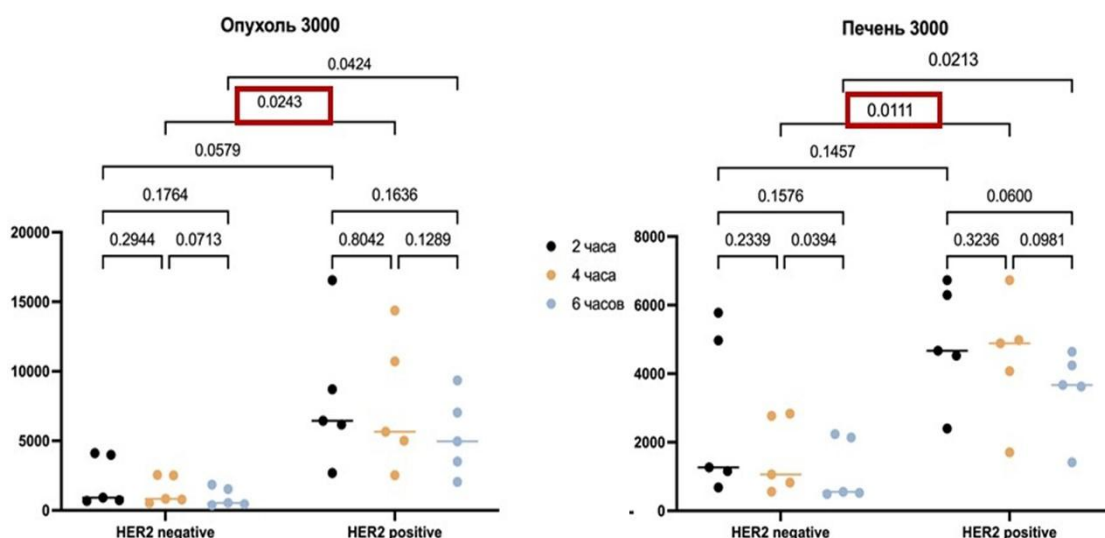


Рисунок 2 – Аккумуляция препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ в первичной опухоли и печени у больных раком молочной железы в дозировке протеина 3000 мкг через 2, 4 и 6 часов после введения (числовые значения выражаются в импульсах)

Накопление препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ в печени. Более низкие показатели (минимальные значения) аккумуляции радиофармацевтического лекарственного препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ в печени были получены при использовании дозировки протеина 3000 мкг. Дополнительный статистический

анализ выявил, что возможность разделения опухолей молочной железы в зависимости от экспрессии HER2/neu, основываясь на данных по накоплению РФЛП в печени, с наибольшей достоверностью осуществима также при использовании дозировки протеина 3000 мкг через 4 часа после введения ($p = 0,011$, Mann-Whitney test) (рисунок 2).

Определение оптимального диагностического критерия для дифференцировки статуса HER2/neu в первичной опухоли молочной железы при использовании препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$. Исследование выполнялось с использованием препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ в дозировке протеина 3000 мкг через 4 часа после введения. Проведенный анализ продемонстрировал, что статистическую значимость для разделения опухолей молочной железы в зависимости от статуса HER2/neu имели параметр накопления препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ в опухоли ($p = 0,0011$), а также соотношения опухоль/фон ($p = 0,0003$) и опухоль/ШМС ($p = 0,0218$).

Данные выполненного ROC анализа в отношении обладающих статистической значимостью параметров дифференцировки статуса HER2/neu первичной опухоли при использовании препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ у больных раком молочной железы продемонстрировали, что показатели чувствительности и специфичности составили: для накопления в опухоли – 85,71 % и 81,25 % с пороговым значением >1975 импульсов (AUC 0,08; 95% ДИ 0,68-0,99) (рисунок 3), для соотношения опухоль/фон – 71,43 % и 87,50 % с пороговым значением $>8,31$ отн. ед. (AUC 0,06; 95% ДИ 0,73-0,99); для соотношение опухоль/ШМС – 75% с пороговым значением 1,93 отн. ед. (AUC 0,09; 95% ДИ 0,56-0,93).

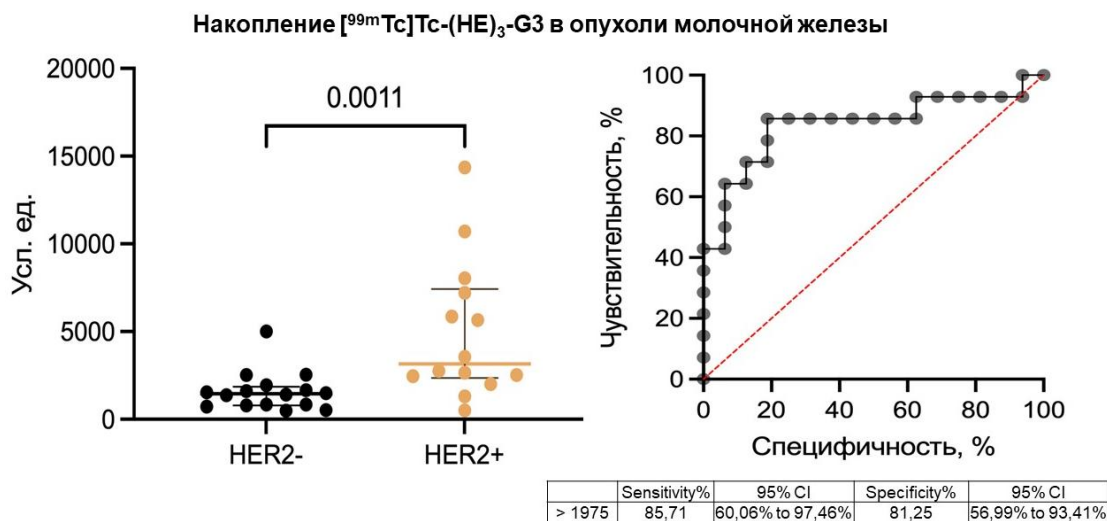


Рисунок 3 – ROC анализ параметра накопления препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ в опухоли в дозировке протеина 3000 мкг через 4 часа после введения у больных раком молочной железы

Разработка модели логистической регрессии для прогнозирования статуса HER2/neu в первичной опухоли у больных раком молочной железы при использовании препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$. В ходе выполнения работы была разработана математическая модель прогнозирования статуса HER2/neu на основе параметра накопления радиофармацевтического препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ в опухоли. Модель демонстрирует высокую диагностическую эффективность:

отношение шансов составило 81,00 (95 % ДИ: 5,020 – 941,2), чувствительность и специфичность достигли 81,25 % и 85,7 % ($p = 0,0001$). Уравнение логистической регрессии имело следующий вид: $Y = -5,13 + 3,258 \times X_1$, где X_1 – накопления [^{99m}Tc]Тс-(НЕ)₃-G3 в опухоли где X_1 – накопление препарата [^{99m}Tc]Тс-(НЕ)₃-G3 в опухоли (1 при накоплении < 1975 импульсов; 2 при ≥ 1975 импульсов).

Оценка статуса рецептора эпидермального фактора роста HER2/neu в первичной опухоли определяется по формуле $P = e^Y / (1 + e^Y)$, где P – значение вероятности развития признака; Y – значение уравнения регрессии; e – математическая константа, равная 2,72. При P более или равно 50 % определяют высокую вероятность, а при P менее 50 % – низкую вероятность положительного HER2-статуса.

Корреляция накопления препарата [^{99m}Tc]Тс-(НЕ)₃-G3 с основными клиничко-морфологическими параметрами у больных раком молочной железы. Выполненный анализ накопления препарата [^{99m}Tc]Тс-(НЕ)₃-G3 с клиничко-морфологическими параметрами не выявил связи с состоянием менструальной функции пациенток, экспрессией рецептора эстрогена и уровнем пролиферативной активности Ki67. В тоже время было определено, что аккумуляция соединения в ШМС была выше в подгруппе больных 45 лет и старше ($p = 0,0374$), а соотношение опухоль/ШМС выше у больных моложе 45 лет ($p = 0,0234$). Выявленная закономерность сохранялась только в подгруппе больных HER2-позитивным РМЖ, в которой дополнительно была обнаружена связь возраста пациентов с соотношением накопления препарата в опухоли против печени ($p = 0,0379$). Помимо этого, значимые различия в накоплении препарата [^{99m}Tc]Тс-(НЕ)₃-G3 были получены у больных с размером опухоли менее 30 мм для показателей накопления в ШМС ($p = 0,0014$) и соотношения опухоль/печень ($p = 0,0374$), а также для пациентов с размером опухоли 30 мм и более для параметров накопления в печени ($p = 0,0229$) и соотношения опухоль/ШМС ($p = 0,0053$). Анализ параметров накопления препарата [^{99m}Tc]Тс-(НЕ)₃-G3 у больных с гиперэкспрессией HER2/neu статистически значимых различий не выявил, в то время как, у больных с отрицательной экспрессией HER2/neu тенденция различий была сохранена для параметров накопления в ШМС ($p = 0,0010$), а также соотношений опухоль/печень и опухоль/ШМС ($p = 0,0110$). По результатам исследования статистические различия в группах также были продемонстрированы при использовании соотношения опухоль/ШМС с большими значениями у больных без метастатического поражения регионарных лимфатических узлов ($p = 0,0276$).

Дополнительно проведенная оценка связи всех изучаемых параметров накопления препарата [^{99m}Tc]Тс-(НЕ)₃-G3 с молекулярно-биологическим подтипом раком молочной железы показала статистическую значимость только показателя аккумуляции в опухоли. При этом, накопление препарата было достоверно выше в HER2-позитивных подтипах (Люминальном В HER2-позитивном и гормон-негативном HER2-позитивном подтипах) ($p < 0,05$) по сравнению с Люминальным А, Люминальным В HER2-негативном и трижды негативном подтипах, что соответствовало данным, полученными на предыдущих этапах настоящего исследования (рисунк 4).

Сопоставление накопления препарата [^{99m}Tc]Тс-(НЕ)₃-G3 с эффективностью предоперационного системного лечения у больных раком молочной железы. Результаты проведенного анализа демонстрируют отсутствие статистически значимых различий между группами pCR и non-pCR по всем

исследованным параметрам.

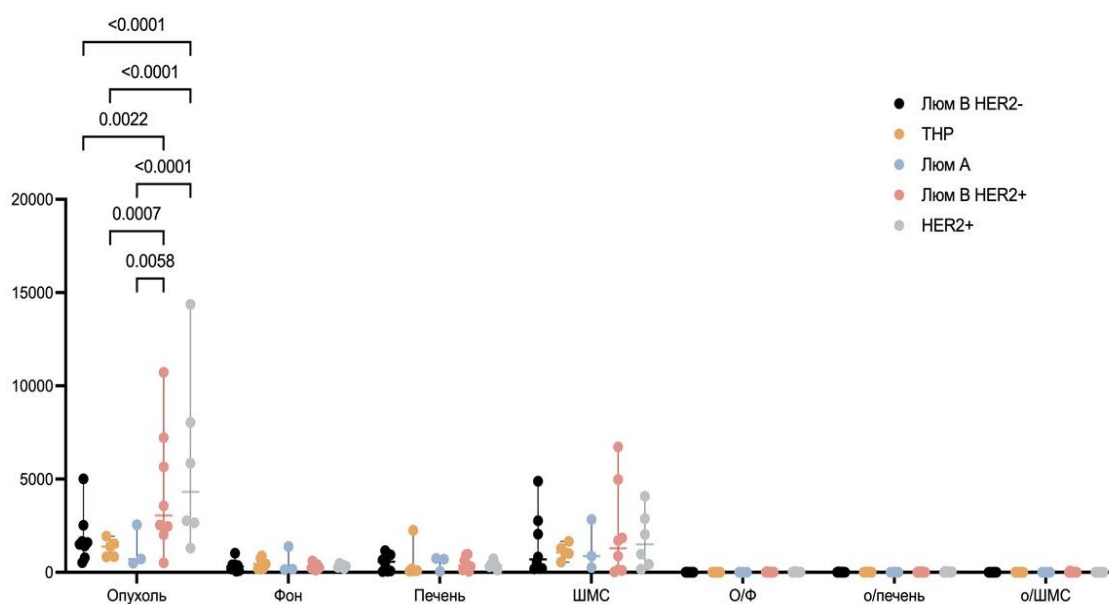


Рисунок 4 – Соотношение накопления препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ у больных раком молочной железы с различными молекулярно-биологическими фенотипами

Соотношение накопления препарата $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ с выживаемостью у больных раком молочной железы. Интересным является обнаруженный факт различия в соотношении накопления опухоль/ШМС при анализе групп больных раком молочной железы с наличием или отсутствием отдаленных метастазов, возникших в период наблюдения. Большее соотношение опухоль/ШМС было обнаружено у пациентов с развившимися гематогенными метастазами (5,09 (2,61 – 8,12)) по сравнению с пациентами без метастазов (1,05 (0,83 – 3,37), $p = 0,028$).

Проведение ROC-анализа показало, что соотношение опухоль/ШМС обладает высокой прогностической ценностью ($\text{AUC} = 0,75$ (95% ДИ 0,55 – 0,95)). Было показано, что использование порогового значения соотношения опухоль/ШМС $\geq 2,12$ отн. ед. позволяет с чувствительностью 70% и специфичностью 90% прогнозировать развитие гематогенных метастазов в отдаленном периоде у больных РМЖ ($p = 0,028$) (рисунок 5).

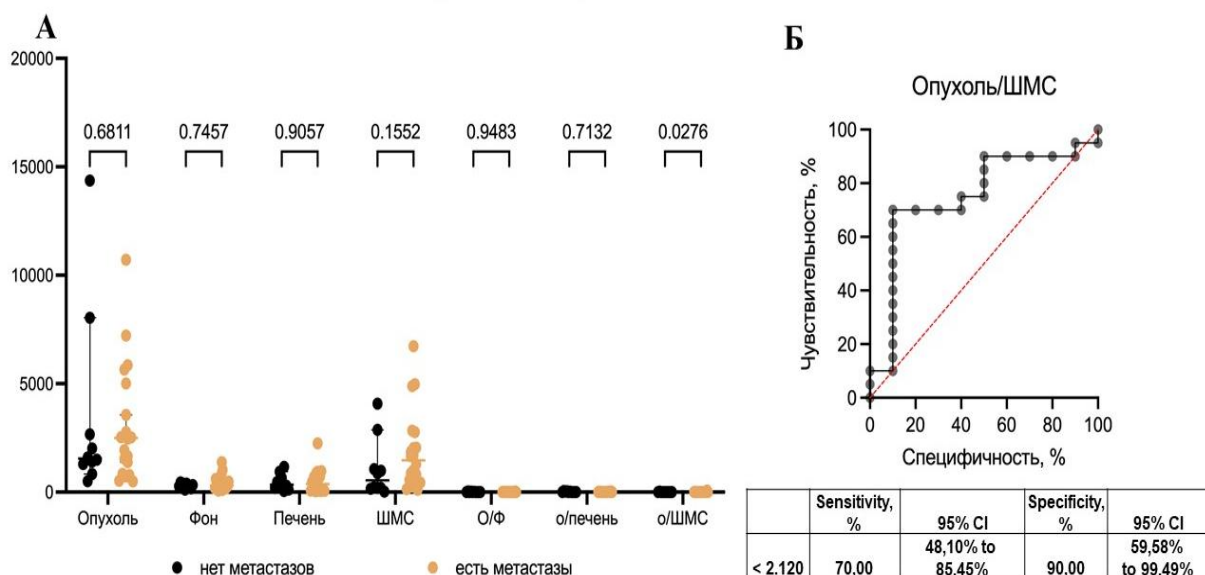


Рисунок 5 – Связь накопления $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ с развитием гематогенных метастазов в периоде наблюдения у больных раком молочной железы с различной экспрессией HER2 (А) и ROC кривая прогностической ценности соотношения опухоль/ШМС (Б)

Далее, была проанализирована безметастатическая и бессобытийная выживаемость в зависимости от параметров накопления $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ в опухоли и от клинко-морфологических параметров. Оценка показала, что ни HER2 статус по ИГХ, ни пороговое значение накопления $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ в опухоли не связаны с безметастатической и бессобытийной выживаемостью. В тоже время, анализ безметастатической выживаемости больных РМЖ в зависимости от обнаруженного прогностического порогового значения соотношения опухоль/ШМС равного 2,12 отн. ед. позволил выявить достоверную связь. Больные, имеющие соотношение накопления $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ в опухоли против ШМС $\geq 2,12$ отн. ед., демонстрировали безметастатическую выживаемость на конец наблюдения, равную 40,0%. В тоже время больные со значениями ниже порогового значения – 93,3% ($p = 0,0019$). Для более полного анализа показателей безметастатической выживаемости дополнительно был проведен Кокс-регрессионный анализ (таблица 2).

Таблица 2 – Однофакторный и многофакторный Кокс-регрессионный анализ клинко-морфологических параметров и параметров накопления $[^{99m}\text{Tc}]\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ у больных раком молочной железы

Параметр		Однофакторный анализ			Многофакторный анализ		
		HR	95%ДИ	p	HR	95%ДИ	p
порог опухоль/ШМС	< 2,12						
	$\geq 2,12$	12,82	2,39-236,9	0,015	11,49	1,03-355,9	0,035
ИГХ HER2	Отр.						
	Пол.	1,91	0,54-7,49	0,315			
НАХТ	нет						
	pCR	0,92	0,02-23,3	0,951	0,21	0,006-7,94	0,847
	non-pCR	8,95	1,62-166,8	0,039	1,32	0,11-49,02	0,371
Лимфогенные метастазы	нет						
	есть	2,73	0,69-9,61	0,121			

В ходе однофакторного анализа выживаемости было установлено, что превышение порогового значения соотношения накопления препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 в опухоли по отношению к ШМС ($\geq 2,12$ отн. ед.) ассоциировано со значительным увеличением риска неблагоприятного исхода. Так, при значении показателя $\geq 2,12$ отн. ед. риск возрастал в 12,8 раза по сравнению с группой с низким накоплением препарата (HR = 12,82 (95 % ДИ 2,39–236,9), $p = 0,015$).

В многофакторном анализе данный параметр сохранил статистическую значимость (HR = 11,49 (95 % ДИ 1,03 – 355,9), $p = 0,035$), что указывает на его независимую прогностическую ценность. Экспрессия HER2 по ИГХ не продемонстрировала статистически значимой связи с прогнозом: при HER2-положительном статусе HR составил 1,91 (95 % ДИ 0,54 – 7,49, $p = 0,315$).

Оценка влияния неоадьювантной химиотерапии показала, что достижение pCR не ассоциировалось с улучшением прогноза ни в однофакторном (HR = 0,92 (95 % ДИ 0,02 – 23,3), $p = 0,951$), ни в многофакторном анализе (HR = 0,21 (95 % ДИ 0,006 – 7,94), $p = 0,847$). В то же время отсутствие pCR (non-pCR) в однофакторной модели сопровождалось статистически значимым увеличением риска неблагоприятного исхода (HR = 8,95 (95 % ДИ 1,62 – 166,8), $p = 0,039$), однако в многофакторной модели данный параметр утрачивал достоверность (HR = 1,32 (95 % ДИ 0,11 – 49,02), $p = 0,371$).

Модель логистической регрессии для прогнозирования развития гематогенных метастазов у больных раком молочной железы при использовании радиофармацевтического препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3. С учетом полученных результатов была построена модель логистической регрессии по прогнозированию развития гематогенного метастазирования у больных раком молочной железы на основе соотношения накопления препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 в опухоли против ШМС. Модель демонстрирует высокую диагностическую эффективность: отношение шансов составило 0,80 (95 % ДИ 0,63-0,98), чувствительность и специфичность достигли 70 и 90% ($X^2 = 10,65$, $p = 0,0011$). Уравнение логистической регрессии имеет следующий вид: $Y = -5,684 + 3,045 \times X_1$, где X_1 – накопления препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 в опухоли по отношению к ШМС (соотношение опухоль/ШМС). Если соотношение опухоль/ШМС ниже порогового значения 2,12 отн. ед., $X_1 = 1$; если соотношение опухоль/ШМС $\geq$ порогового значения 2,12 отн. ед., $X_1 = 2$,

Значение вероятности развития гематогенных метастазов у больных раком молочной железы определяется по формуле $P = e^Y / (1 + e^Y)$, где P – значение вероятности развития признака; Y – значение уравнения регрессии; e – математическая константа, равная 2,72. При P более или равно 60% определяют высокую вероятность развития гематогенных метастазов у больных раком молочной железы при использовании препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3, а при P менее 60% – низкую.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенного исследования радиофармацевтический лекарственный препарат [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 в дозировке протеина 3000 мкг с проведением исследования через 4 часа после введения продемонстрировал возможность дифференцировки статуса HER2/неу у больных раком молочной железы с учетом параметра накопления в опухоли 1975 импульсов с показателями чувствительности и специфичности, равными 85,71 % и 81,25 % соответственно.

Впервые проведенное исследование показало связь накопления препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 с некоторыми клинико-морфологическими параметрами у больных РМЖ. Так, связь накопления [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 в опухоли с возрастом была выявлена только у больных HER2-позитивным РМЖ. Связь накопления препарата с размером опухоли обнаружена только в группе с HER2-негативным статусом, что косвенно указывает на высокую специфичность исследуемого препарата, а корреляция соотношения опухоль/ШМС со стадией заболевания отражает общую тенденцию более агрессивного поведения HER2-позитивного РМЖ.

В настоящем исследовании было продемонстрировано, что соотношение накопления препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 в опухоли против ШМС является клинически значимым прогностическим показателем, обладающим высокой чувствительностью (70 %) и специфичностью (90 %). Выбранное пороговое значение $\geq 2,12$ отн. ед. позволило выделить группу пациентов с существенно более высоким риском неблагоприятного исхода. Сохранение статистической значимости данного параметра в многофакторном анализе подтверждает его независимую прогностическую роль и указывает на то, что функциональные характеристики накопления препарата могут превосходить традиционные морфологические маркеры. Отсутствие достоверной связи между ИГХ-статусом HER2 и прогнозом подчеркивает потенциальные ограничения иммуногистохимической оценки как единственного критерия стратификации риска. В этом контексте визуализация и количественная оценка накопления препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 отражают не только уровень экспрессии рецептора, но и его биологическую доступность *in vivo*, что может объяснять выявленное расхождение между ИГХ-данными и результатами радионуклидного анализа.

Несмотря на то, что отсутствие полного патоморфологического ответа на НАХТ ассоциировалось с ухудшением прогноза в однофакторном анализе, данный показатель не продемонстрировал независимой прогностической значимости. Это может свидетельствовать о том, что эффективность НАХТ опосредована другими биологическими факторами, в том числе особенностями накопления таргетного радиофармацевтического препарата. Метастатическое поражение лимфатических узлов, традиционно рассматриваемое как неблагоприятный фактор, в представленном исследовании не достигли статистической значимости, что, вероятно, связано с ограниченным размером выборки.

Полученные результаты указывают на перспективность таргетной радионуклидной детекции с использованием препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 и диктуют необходимость расширения объема исследования с увеличением количества пациентов с метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов и отдаленными метастазами различных локализаций). Помимо этого, существенным результатом настоящего исследования является определение соотношения накопления препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 в опухоли и ШМС с пороговым значением 2,12 отн. ед. в качестве независимого прогностического маркера и инструмента персонализированной оценки безметастатической выживаемости у больных РМЖ. При этом, при дальнейшем рассмотрении помимо теоретических знаний, в рамках тераностического подхода данные группы пациентов могут получить потенциально более высокую эффективность от назначения таргетной радионуклидной терапии.

ВЫВОДЫ

1. Более высокая аккумуляция радиофармацевтического лекарственного препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 в опухолях молочной железы с гиперэкспрессией HER2/neu отмечается при использовании протеина в дозировке 3000 мкг с проведением исследования через 4 часа после введения ($p < 0,05$, Mann-Whitney test).
2. Наиболее информативным критерием для дифференцировки статуса HER2/neu в первичной опухоли больных раком молочной железы при использовании радиофармацевтического лекарственного препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 является параметр накопления в опухоли при пороговом значении 1975 импульсов с показателями чувствительности и специфичности 85,71 % и 81,25 %.
3. Уровень накопления радиофармацевтического лекарственного препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 связан с возрастом пациентов, размером первичной опухоли, стадией заболевания, а также молекулярно-биологическим подтипом у больных раком молочной железы ($p < 0,05$, Mann-Whitney U test).
4. Накопление радиофармацевтического лекарственного препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 на данном этапе исследования не коррелирует с эффективностью предоперационного системного лечения у больных раком молочной железы.
5. Пороговое значение соотношения опухоль/ШМС $\geq 2,12$ отн. ед. с чувствительностью и специфичностью 70 % и 90 % прогнозирует высокий риск развития гематогенных метастазов у больных раком молочной железы при использовании радиофармацевтического лекарственного препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Показатель накопления в опухоли с пороговым значением 1975 импульсов (чувствительность 85,71 % и специфичность 81,25 %) является наиболее информативными параметром для дифференцировки статуса HER2/neu у больных раком молочной железы при применении радиофармацевтического лекарственного препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3 в дозировке протеина 3000 мкг с выполнением исследования через 4 часа после введения.
2. Пороговое значение соотношения опухоль/ШМС $\geq 2,12$ отн. ед. с чувствительностью и специфичностью 70 % и 90 % прогнозирует высокий риск развития гематогенных метастазов у больных раком молочной железы при использовании радиофармацевтического лекарственного препарата [^{99m}Tc]Tc-(HE) $_3$ -G3.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АКБ	– альтернативный каркасный белок
ИГХ	– иммуногистохимический
КТ	– компьютерная томография
МБк	– мегабеккерель
НАХТ	– неоадьювантная химиотерапия
ОГК	– органы грудной клетки
ОФЭКТ	– однофотонная эмиссионная компьютерная томография
ПЭТ	– позитронно-эмиссионная томография
РМЖ	– рак молочной железы

РП	– рецепторы прогестерона
РФЛП	– радиофармацевтический лекарственный препарат
РЭ	– рецепторы эстрогенов
ШМС	– широчайшая мышца спины
ADAPT6	– (ABD – Derived Affinity Proteins) альбуминсвязывающий домен протеина стрептококка G
DARPin	– (Designed Ankyrin Repeat Proteins) естественные анкириновые повторы
EGF	– (Epidermal Growth Factor) эпидермальный фактор роста
EGFR	– (Epidermal Growth Factor Receptor) рецептор эпидермального фактора роста
FISH	– (Fluorescence in situ hybridization) флуоресцентная гибридизация in situ
HER2/neu	– (human epidermal growth factor receptor 2) рецепторы эпидермального фактора роста 2-го типа

СПИСОК РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Брагина, О. Д. Оценка острой токсичности препарата $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-(HE)3-DARPin G3}$ у больных раком молочной железы [текст] / О. Д. Брагина, **М. Е. Бородина**, В. И. Чернов, С. М. Деев, М. А. Вострикова, А. А. Романова // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2024. – Т. 69, №3. – С. 72-76.
2. Bragina, O. D. Evaluation of HER2/neu expression in metastatic axillary lymph node tissue of breast cancer patients using $^{99m}\text{Tc}[\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ [текст] / O. D. Bragina, L. A. Tashireva, D. M. Loos., S. V. Vtorushin, A. A. Shulga, E. N. Konovalova., **М. Е. Borodina**, V. I. Chernov, V. M. Tolmachev, S. M. Deyev // Acta Naturae. – 2024. – № 2. – Р. 22-29.
3. Брагина, О. Д. Радионуклидная визуализация экспрессии HER2/neu в метастатических аксиллярных лимфатических узлах у больных раком молочной железы: сравнение эффективности препаратов $^{99m}\text{Tc}[\text{Tc}-(\text{ADAPT6}$ и $^{99m}\text{Tc}[\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$ [текст] / О. Д. Брагина, Л. А. Таширева, Е. Ю. Гарбуков, М. А. Вострикова, **М. Е. Бородина**, В. И. Чернов, С. М. Деев // Бюллетень Сибирской Медицины. – 2025.– Т. 24, № 1. – С. 14-21.
4. Бородина, М. Е. Радионуклидная визуализация экспрессии HER2/neu у больных раком молочной железы с использованием радиофармпрепарат на основе меченного технецием- 99m каркасного протеина DARPING3: результаты I фазы клинических испытаний / М. Е. Бородина, О. Д. Брагина, А. А. Феденко, В. И. Чернов, С. М. Деев // Материалы VII международного форума онкологии и радиотерапии «Ради жизни – FOR LIFE», Москва, 16 – 20 сентября 2024 года. Москва, 2024 – С. 100-101.
5. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2024622428. База данных больных HER2-позитивным раком молочной железы с метастазами в лимфатические узлы с предоперационным радионуклидным обследованием с препаратом $^{99m}\text{Tc}[\text{Tc}-(\text{HE})_3\text{-G3}$: заявл. 24.05.2024, опубл. 03.06.2024 / Брагина О.Д., Чернов В.И., Зельчан Р.В., Медведева А. А., **Бородина М.Е.**, Романова А.А.

*Работа поддержана грантом Министерства науки и высшего образования РФ
(соглашение № 075-15-2024-536)*