

На правах рукописи

Торосян Маргарита Хачатуровна

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
ПРЕДИКТОРЫ РЕЦИДИВИРОВАНИЯ ЛЮМИНАЛЬНОГО
HER2-НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

14.01.12 – Онкология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Ульяновск 2020

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном
учреждении высшего образования
«Ульяновский государственный университет»

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, **Родионов Валерий Витальевич**

Официальные оппоненты:

Королева Ирина Альбертовна, доктор медицинских наук, Частное учреждение образовательная организация высшего образования «Медицинский университет «Реавиз», кафедра клинической медицины последипломного образования, профессор кафедры.

Хасанова Альфия Ирековна, кандидат медицинских наук, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет», кафедра хирургии, акушерства и гинекологии, доцент кафедры.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва.

Защита диссертации состоится «24» декабря 2020 года в 10:00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.071.06 на базе ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1), по адресу: 420012, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 36, КГМА – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Казанской государственной медицинской академии – филиала ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 420012, г. Казань, ул. Бутлерова, д. 36 и на сайте <https://kgma.info>.

Автореферат разослан «___» _____ 2020 года

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент

Юпатов Е.Ю.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации

Рак молочной железы (РМЖ) – одно из самых частых онкологических заболеваний среди женского населения во всем мире. В России наиболее частой злокачественной опухолью среди женского населения является РМЖ, который составляет 20,9% от всех злокачественных новообразований у женщин. Отметим, что наибольший удельный вес РМЖ имеет в возрастной группе 40-49 лет и составляет около 32% (Б.А. Апсаликова, З.А. Манамбаева, А.О. Оразбаева и др., 2016; М.А. Айтмагамбетова, 2018; В. В. Старинский, А.Д. Каприн, Г.В. Петрова, 2018 и др.).

Что касается Ульяновской области, в 2018 году заболеваемость РМЖ на 100 тысяч женского населения составила 47,91. Стоит отметить, что данные цифры неуклонно растут. За последние 9 лет заболеваемость в Приволжском Федеральном округе (ПФО) увеличилась на 19%, в Ульяновской области - на 24,9%.

Смертность от РМЖ в Ульяновской области в 2018 году составила 15,2 на 100 тысяч женского населения, что превышает аналогичные показатели в ПФО и РФ (13,26 и 14,02, соответственно).

Учитывая высокую заболеваемость и смертность от данной патологии, особую актуальность приобретает выявление РМЖ на ранних стадиях.

В Ульяновской области в 2018 году зафиксировано 67,1% случаев РМЖ, диагностированных на I-II стадии процесса. По сравнению с 2008 годом (60,6% случаев) данный показатель вырос почти на 10%. Аналогичная ситуация складывается в ПФО и РФ в целом. Доля больных с I и II стадиями заболевания в 2018 г. составила 71,5% и 69,7%, соответственно.

РМЖ, диагностированный на ранних стадиях, характеризуется относительно благоприятным прогнозом и высокими показателями безрецидивной и общей выживаемости: при I стадии показатель 5-летней выживаемости составляет 95-100%, при IV – 10-22% (В.Е. Гажонова, Н.Н. Виноградова, А.В. Зубарев, 2017; W.J. Gradishar, 2017 и др.).

Но не только ранняя диагностика, но и биология опухоли определяет прогноз заболевания (О.О. Гордеева, Л.Г. Жукова, И.В. Колядина, И.П. Ганьшина, 2019; D. Safarpour, F.A. Tavassoli, 2015; С.М. Perou, 2011 и др.). К сожалению, современная молекулярно-биологическая классификация РМЖ не может в полной мере удовлетворить клиницистов. Стоит отметить, что даже среди групп ожидаемо благоприятного прогноза в ряде случаев имеет место возникновение рецидива или прогрессирования онкологического заболевания в первые 5 лет с момента постановки диагноза РМЖ. Это отчасти можно объяснить морфологической гетерогенностью опухолей даже в рамках одного биологического подтипа (Р.Ф. Гарькавцева, М.Д. Нефедов, В.П. Летягин, А.А. Самгина, 1987; Т.С. Герашенко, М.В. Завьялова, Е.В. Денисова и др., 2017; J. Wang, J. Luo, K. Jin et al., 2020 и др.).

Существующие в настоящее время генетические панели, такие как Oncotype DX, L PAM 50, Mamma-Print, позволяют частично решить вопрос прогноза РМЖ и назначения адъювантной химиотерапии в случае люминальных опухолей (J.A. Lynch, V. Venne, B. Berse, 2015). Однако эти методы являются достаточно затратными, технически сложно выполнимыми и не получили широкого распространения в России.

Это, в свою очередь, диктует необходимость поиска новых морфологических и генетических критериев оценки прогноза и индивидуального подхода к выбору лечебной тактики у больных РМЖ.

Степень разработанности проблемы

К общепринятому варианту плохого прогноза среди гормонально зависимых HER2/неу-негативных опухолей относят люминальный В подтип, который, в свою очередь, диагностируют при высоких значениях индекса пролиферативной активности Ki-67 и/или высокой степени злокачественности опухоли (G3) и низких показателях экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов (В.Ф. Семиглазов, В.В. Палтуев, В.В. Семиглазов и др., 2015; G. Curigliano, H.J. Burstein, E.P. Winer et al., 2017). Данные характеристики опухоли (экспрессия ЭР и ПР, Ki-67) определяются рутинно методом ИГХ. Основная сложность интерпретации заключается в отсутствии единого порогового значения для индекса пролиферации (Ki-67), что требует создания отдельных стандартов для каждой лаборатории.

Многие исследователи указывают прогностическую ценность генетических методов исследования, в частности использование таких генетических панелей как 21 gene recurrence score, 70 gene signature, PAM50 ROR score, EpClin score и Breast Cancer Index (K.S. Albain, W.E. Barlow, S. Shack et al., 2010; H.A.Jr. Azim, S. Michiels, F. Zagouri et al., 2013; V.C. Chang, L.H. Souter, S. Kamel-Reid et al., 2017 и др.). Однако их применение имеет свои ограничения, а само исследование зачастую невозможно из-за высокой стоимости и отсутствия технических возможностей.

Стоит отметить современные научные разработки в области генетики, касающиеся изучения роли микро-РНК в патогенезе РМЖ. Имеется ряд исследований, доказывающих неоспоримое участие различных микро-РНК в возникновении и развитии патологии молочной железы (P. Chu, A.Liang, A.Jiang et al., 2018; H. Shen, E.S. Yang, M. Conry et al., 2019). В большинстве своем они основаны на определении уровня экспрессии микро-РНК в опухоли в сравнении со здоровой тканью. Однако никаких четких критериев интерпретации полученных результатов, а также возможности использования этих знаний в планировании лечебной тактики больных РМЖ в настоящее время не существует. Что требует дальнейшей разработки данного направления.

Стандартом адъювантного системного лечения больных люминальным HER2/неу-негативным РМЖ является назначение гормонотерапии с возможностью применения цитостатиков в случае неблагоприятного прогноза развития болезни (В.Ф. Семиглазов, Р.М. Палтуев, В.В. Семиглазов, Г.А. Дашян, Т.Ю. Семиглазова, П.В. Криворотько, К.С. Николаев, 2015; G. Curigliano, H.J. Burstein, E.P. Winer, M. Gnant, P. Dubsy, S. Loibl, M. Colleoni, M.M. Regan, M. Piccart-Gebhart, H.-J. Senn, V. Thürlimann, 2017). Системная химиотерапия является высокотоксичным лечением, имеющим ряд побочных эффектов, в том числе и опасных для жизни (Переводчикова Н. И., Стенина М. Б., 2009; J.Tsuchida, J. Rothman, K.A. McDonald et al., 2019). В настоящее время не существует строгих протоколов, позволяющих в ряде случаев однозначно решить вопрос о назначении адъювантной химиотерапии, что затрудняет работу врача-онколога и отражается на качестве и продолжительности жизни пациенток.

В связи с вышеизложенным поиск новых доступных критериев прогноза в рамках наиболее проблемного биологического подтипа РМЖ – люминального HER2/неу-негативного – имеет большое значение для практического здравоохранения и определяет цель диссертационного исследования.

Цель исследования: определить клинико-морфологические и молекулярно-генетические предикторы рецидивирования первично-операбельного люминального HER2-негативного рака молочной железы.

Задачи исследования:

1. Изучить клинико-морфологические характеристики первичной опухоли, определяющие высокий риск рецидивирования у пациенток с первично-операбельным люминальным HER2-негативным раком молочной железы.
2. Изучить молекулярно-биологические характеристики первичной опухоли, определяющие высокий риск рецидивирования у пациенток с первично-операбельным люминальным HER2-негативным раком молочной железы.
3. Определить изменения экспрессии микро-РНК в случае возникновения рецидива заболевания у пациенток с первично-операбельным люминальным HER2-негативным раком молочной железы.
4. Установить взаимосвязь между морфологическими и молекулярно-генетическими характеристиками первичной опухоли и риском рецидива у пациенток с первично-операбельным люминальным HER2-негативным раком молочной железы.

Научная новизна результатов исследования

В работе проведен анализ уровней экспрессии микро-РНК в опухолевых образцах пациентов без учета уровня экспрессии микро-РНК в здоровой ткани на примере люминального HER2-негативного рака молочной железы. В результате исследования определено изменение уровней экспрессии miR-200a и miR-146b в случае прогрессирования первично-операбельного люминального HER2-негативного рака молочной железы. Установлена взаимосвязь ряда клинико-морфологических характеристик первичной опухоли и содержания в ней miR-20a с риском прогрессирования первично-операбельного люминального HER2-негативного рака молочной железы, на основании чего создана компьютерная программа «Прогноз рецидива первично-операбельного люминального рака молочной железы без гиперэкспрессии/амплификации HER2», позволяющая предсказать наличие или отсутствие рецидива заболевания.

Теоретическая и практическая значимость работы

В процессе проведения исследования изучена связь ряда морфологических параметров опухоли (макроскопические характеристики, степень злокачественности G, СБЗ, НПИ, Ki-67, уровень экспрессии гормональных рецепторов) с наступлением рецидива на примере люминального HER2-негативного рака молочной железы. Изучены изменения уровней экспрессии микро-РНК (miR-21, miR- 221, miR- 222, miR-155, miR- 205, miR-20a, miR- 125b, miR- 146b, и miR- 200a) в первичной опухоли в случае прогрессирования рака молочной железы в сравнении с безрецидивными формами рака.

На основе полученных данных разработана компьютерная программа в формате Excel «Прогноз рецидива первично-операбельного люминального рака молочной железы без гиперэкспрессии/амплификации HER2», позволяющая

прогнозировать течение заболевания в случае первично-операбельного люминального HER2-негативного рака молочной железы, а именно предсказывать наступление рецидива в первые 5 лет с момента постановки диагноза.

Внедрение данного метода в систему обследования женщин позволит максимально индивидуализировать лечебную тактику и в перспективе добиться улучшения показателей выживаемости, качества жизни больных раком молочной железы и снижения уровня смертности от данной онкопатологии.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Доказано, что пациентки с первично-операбельным люминальным HER2-негативным раком молочной железы имеют плохие показатели 5-летней безрецидивной выживаемости при соотношении уровней экспрессии miR21 / miR155 > 200 и miR21 / miR205 > 2000, значениях miR-20a от 200 до 400 в сочетании с другими морфологическими характеристиками опухоли, что обуславливает индивидуальный подход к выбору лечебной тактики.

2. Созданная компьютерная программа «Прогноз рецидива первично-операбельного люминального рака молочной железы без гиперэкспрессии/амплификации HER2», основанная на определении в первичной опухолевой ткани экспрессии miR-20a, miR-21, miR-155 и miR-205 в сочетании с Ki-67 и размером опухоли, позволяет четко стратифицировать риск рецидива заболевания и в перспективе максимально персонализировать адъювантную терапию.

Апробация результатов исследования

Проведение диссертационного исследования одобрено Комитетом по этике научных исследований (протокол № 1 от 22.01.2020 г.).

Апробация диссертации состоялась 11.03.2020 г. на расширенном заседании кафедр онкологии и лучевой диагностики, акушерства и гинекологии, госпитальной хирургии, анестезиологии, реаниматологии, урологии, травматологии и ортопедии, общей и оперативной хирургии с топографической анатомией и курсом стоматологии, морфологии, биологии и биоэкологии, физиологии и патофизиологии, последипломного образования и семейной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ульяновский государственный университет». Протокол № 7.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы современной науки и образования» (Ульяновск, 2014 г.), VIII российской научно-практической конференции с международным участием «Высшее сестринское образование в системе российского здравоохранения» (Ульяновск, 2015 г.), 51-й межрегиональной научно-практической медицинской конференции «Год здравоохранения: перспективы развития отрасли» (Ульяновск, 2016 г.), научно-практической конференции онкологов и врачей общей лечебной сети, посвященной 70-летию онкологической службы Оренбургской области «Актуальные вопросы клинической онкологии» (Оренбург, 2016 г.), 52-й межрегиональной научно-практической медицинской конференции «Современные аспекты здравоохранения: достижения и перспективы» (Ульяновск, 2017 г.).

Внедрение результатов исследования

Материалы исследования и вытекающие из них рекомендации по вопросам организации диагностических и лечебных мер в отношении женщин с люминальным HER2-негативным раком молочной железы внедрены в лечебно-диагностическую работу Государственного учреждения здравоохранения Областной клинической онкологической диспансера, г. Ульяновск (акт внедрения № 2007 от 23.03.2020 г.). Материалы диссертации используются в учебном процессе на кафедре онкологии и лучевой диагностики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ульяновский государственный университет» (акт внедрения № 74/01-04 от 25.03.2020 г.).

Научные публикации по теме диссертации. Опубликовано 14 работ, из них 3 – в научных рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 1 - в библиографической базе данных Scopus. Изданы 2 учебно-методических пособия для врачей и студентов с использованием материалов диссертации.

Личный вклад автора

Автором лично проведен анализ отечественной и зарубежной научной литературы, на основании чего были сформулированы цель и задачи исследования, определены методологические подходы и методы их решения. Автором был проведен ретроперспективный клинико-статистический анализ состояния 158 больных первично-операбельным люминальным HER2-негативным раком молочной железы, оценены результаты морфологического, иммуногистохимического и ПЦР исследования опухолей, полученных от женщин, входящих в исследование, разработана и внедрена цифровая программа прогноза рецидива РМЖ, основанная на результатах диссертационного исследования. Все материалы диссертационной работы проанализированы лично автором, который принимал непосредственное участие во всех этапах проведенного исследования. Текст диссертации написан лично автором.

Соответствие диссертации Паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту специальности 14.01.12 – Онкология (медицинские науки). Результаты диссертации соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам: 1. Осуществление профилактики возникновения злокачественных опухолей на основе изучения факторов внешней и внутренней среды организма; 2. Исследования по изучению этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии и др.) и 3. Разработка и совершенствование программ скрининга и ранней диагностики - паспорта специальности.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы описания материала и методов исследования, главы результатов собственных исследований, состоящей из четырех подглав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, указателя литературы. Работа изложена на 143 страницах машинописного текста, иллюстрирована 14 таблицами, 18 рисунками, 1 формулой. Библиографический указатель содержит 280 источников, из них 97 отечественных и 183 зарубежных.

Материалы и методы исследования

Методология данного исследования основана на принципах доказательной медицины и заключается в изучении и систематизации данных имеющейся литературы по вопросам патогенеза, прогнозирования и терапии рака молочной железы, на основании чего сформулированы цель и задачи диссертационной работы, разработан план исследования.

Предметом настоящего исследования стала проблема прогнозирования рецидива первично-операбельного люминального HER2-негативного РМЖ.

Объектом исследования - женщины с первично-операбельным люминальным HER2-негативным раком молочной железы.

Для решения поставленных задач использовался комплексный подход с применением анамнестических, клинических, гистологических, лабораторных методов исследования.

Исследование проводилось на кафедре онкологии и лучевой диагностики ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», клиническая база – ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер» г. Ульяновска, исследования микро-РНК проводились в институте Молекулярной и клеточной биологии СО РАН (г. Новосибирск). Изучению подвергались биоптаты злокачественных опухолей молочных желез 158 пациенток, находившихся на лечении в ГУЗ Областной клинический онкологический диспансер (ОКОД) г. Ульяновска с 2008 по 2014 гг., завершение работы с обработкой полученных результатов осуществлялось в 2020 г. Так же проводился ретропроспективный анализ историй болезни и амбулаторных карт этих пациенток.

Необходимо отметить, что в наше исследование вошли пациентки только с люминальным А и В HER2-негативным РМЖ. Пороговым значением для суррогатного разделения данных подтипов РМЖ нами использовалась граница в 14% (классификация РМЖ на Санкт-Галленовской конференции 2011 г.).

Критерии включения в исследование: наличие добровольного информированного согласия на участие в исследовании; женщины старше 18 лет с верифицированным диагнозом РМЖ; стадии pT1-2N0-1M0; наличие экспрессии гормональных рецепторов в опухоли; постменопауза; проведение радикального хирургического лечения на 1 этапе; отсутствие другой онкологической патологии в анамнезе; соматический статус по шкале ECOG-ВОЗ - 1-2 балла.

Критерии исключения из исследования: местнораспространенный и генерализованный РМЖ; гиперэкспрессия или амплификация HER2/neu; триждынегативный подтип РМЖ; метастатическое поражение более 3-х подмышечных, над- и подключичных лимфоузлов; метастатическое поражение контрлатеральной молочной железы.

Все пациентки, соответствующие вышеперечисленным критериям (n=158), были распределены на 2 группы в зависимости от рецидива опухолевого процесса, развившегося в течение последующих 5 лет после проведения операции. Женщины с рецидивом опухоли (53 чел.) составили основную группу, пациентки с безрецидивным течением (105 чел.) – группу сравнения. В качестве рецидива РМЖ рассматривался как локальный рецидив, так и отдаленное метастазирование опухоли.

Всем пациенткам выполнялась билатеральная маммография, УЗИ молочных желез и регионарных зон, рентгенография органов грудной клетки в 2-х проекциях, УЗИ органов брюшной полости и малого таза, рентгенография позвоночника и костей таза.

Отсутствие отдаленных метастазов определялось на догоспитальном этапе согласно стандартному протоколу обследования больных раком молочной железы.

Функция яичников оценивалась согласно заключению гинеколога, полученному на догоспитальном этапе. Все пациентки находились в постменопаузе – естественной или хирургической.

Оценивая структуру метастазирования в группе с рецидивом заболевания (n=53) в первые 5 лет наблюдения, локо-регионарный рецидив наблюдали у 11 (20,8%) пациенток, метастазы в кости – у 28 (52,8%), висцеральные метастазы (печень, легкие, головной мозг, надпочечники) были зафиксированы у 12 (22,6%) женщин, сочетанное метастазирование (кости+висцеральный метастаз и кости+лимфатические узлы) – в 2 (1,06%) случаях наблюдения.

Операционный материал исследовался патоморфологами ГУЗ ОКОД. Биоптаты доставлялись в патанатомическую лабораторию ГУЗ ОКОД в нефиксированном виде и в максимально короткие сроки подвергались обработке.

Макроскопически оценивалась общая локализация опухоли и ее локализация по квадрантам молочной железы (в случае выполнения РМЭ), границы опухолевого узла, длина узла (максимальный размер в мм), ширина узла (максимальный размер в мм).

Далее по стандартным методикам производилось изготовление микропрепаратов, которые исследовали методом обзорной микроскопии на световом микроскопе Leica DME (Германия).

При обзорной микроскопии определяли гистологический вариант рака (инфильтративный дольковый, инфильтративный протоковый, инфильтративный смешанный, особые формы), степень злокачественности (G), ядерный полиморфизм клеток (нерезкий, умеренный, выраженный), митотическую активность раковых клеток по наличию типичных и атипичных митозов (слабая 0-11, умеренная 12-23, выраженная – более 24 митозов с грациями), клеточный состав (светлые и темные клетки), структуру инфильтративного компонента, наличие инвазии в кровеносных сосудах стромы, наличие опухолевых эмболов в лимфатических сосудах и их количество в строме опухоли). Оценивали Суммарный балл злокачественности (СБЗ) и Ноттингемский прогностический индекс (НПИ), выраженные в баллах.

СБЗ рассчитывался с учетом следующих параметров: степень дифференцировки первичной опухоли (1-3 балла), клеточный полиморфизм (1-3 балла), митотическая активность (1-3 балла), характер инвазивного роста (1-5 баллов), опухолевые эмболы в сосудах стромы (0-3 балла) и клеточная реакция в строме опухоли (0-3 балла). Сумма баллов указанных параметров и составляла СБЗ. Благоприятный прогноз предполагали при СБЗ менее или равно 13 б., умеренный – при СБЗ в пределах 14-15 б. и неблагоприятный прогноз - при СБЗ более или равно 16 б.

НПИ рассчитывали по формуле: $НПИ = G + L + (S \cdot 0,2)$, в которой G - степень злокачественности, L - количество поражённых метастазами

лимфоузлов, S - максимальный размер опухолевого узла с точностью до миллиметра. НПИ <3,4 предполагает хороший прогноз заболевания, НПИ в диапазоне 3,4 — 5,4 — средний прогноз и НПИ > 5,4 — плохой прогноз.

Помимо стандартного патоморфологического исследования все опухолевые образцы подвергались иммуногистохимическому исследованию (ИГХ), с помощью которого определялись наличие и уровень экспрессии рецепторов эстрогена (ЭР) и прогестерона (ПР) в первичной опухоли, значение индекса пролиферации Ki-67 и экспрессия HER-2/neu (метод D.C.Allred). При спорном (++) результате ИГХ анализа на HER-2/neu проводилось определение амплификации гена HER2 методом *in situ* гибридизации (FISH/CISH). В процессе проведения анализа использовался стандартный протокол компании Дако.

Далее у части пациенток из основной (n=21) и контрольной (n=20) групп было проведено ПЦР-исследование в режиме реального времени микро-РНК (miR-21, miR-221, miR-222, miR-155, miR-205, miR-20a, miR-125b, miR-146b, и miR-200a) в образцах первичной опухоли с целью изучения их взаимосвязи с риском прогрессирования РМЖ и морфологическими характеристиками опухоли. Выборка биоптатов для исследования miR производилась случайным образом.

Определение микро-РНК в подготовленных образцах производилось методом ПЦР в реальном времени с целью определения уровня экспрессии микро-РНК в опухолевой ткани. Анализ микро-РНК производили с использованием набора реагентов для выделения нуклеиновых кислот «Реал Бест экстракция» и готовых реакционных смесей для реакции обратной транскрипции «Реал Бест Мастер микс ОТ» (ЗАО «Вектор-Бест, Россия). ПЦР осуществляли на приборе CFX 96 (Bio-Rad, США).

Что касается терапии, у пациенток, вошедших в наше исследование, применялся комплексный подход к лечению РМЖ. Всем женщинам на первом этапе выполнялось хирургическое вмешательство в объеме радикальной мастэктомии (РМЭ) по Маддену либо органосохраняющая операция - радикальная резекция молочной железы.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программного обеспечения “Statistica 7” (StatSoft Inc., США) и MedCalc (версия 15.2). Нормальность распределения количественных данных в малых выборках определялась с помощью критерия Шапиро-Уилка. В остальных случаях нормальность распределения определялась с помощью критерия «хи-квадрат». В случае нормального распределения количественных параметров для них вычислялись значения средней арифметической (M-Mean) и среднеквадратического отклонения ($\sigma = \text{Std. Dev.}$). Статистическая значимость оценивалась t-критерием Стьюдента. В случае распределения количественных данных, отличном от нормального, и для качественных выборок рассчитывалась медиана, первый и третий квартили (Me [Q1;Q3]). Статистическая значимость различий оценивалась с помощью критерия Краскела-Уоллиса. Полученные результаты считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$. Для оценки взаимосвязей различных параметров использовали корреляционный анализ, метод построения логистической регрессии и ROC-анализа. В качестве коэффициента корреляции между переменными, принадлежащими к порядковой шкале, применяли коэффициент Спирмена. Для переменных, принадлежащих к

интервальной шкале – коэффициент корреляции Пирсона. Диаграммы были построены при помощи программы Excel.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Характер морфологического типа опухолей молочной железы у пациенток с наличием и отсутствием рецидива заболевания

Что касается качественных и количественных морфологических характеристик опухолей, распределение гистологических форм РМЖ в группах не имело статистически значимых различий ($p = 0,1$ для инфильтрирующего долькового рака (ИДР), $p = 0,18$ для инфильтрирующего протокового рака (ИПР), $p = 0,13$ для инфильтрирующего смешанного рака (ИСП) и $p = 0,34$ для атипичного РМЖ). В то же время внутри каждой группы наибольшая доля приходилась на ИПР, частота которого в основной группе составила 22 случая (42%), а в группе сравнения - 36 (34,3%), что согласуется с данными литературы о распространенности этой формы патологического процесса (И.Г. Гатауллин, С.В. Петров, Я.Ф. Шамсутдинова, 2008; Т.С. Герашенко, М.В. Завьялова, Е.В. Денисова и др., 2017).

Мы не смогли получить статистически значимых различий в группах по размерам первичной опухоли. Средняя длина опухолевого узла в основной группе составила 22,7 (6,03) мм, в группе сравнения - 20,5 (6,2) мм ($p = 0,43$). Средняя ширина первичной опухоли в группе с рецидивом заболевания составила 18,3 (5,7) мм, в безрецидивной группе - 16,7 (5,8) мм ($p = 0,45$).

В зависимости от степени злокачественности все случаи РМЖ, вошедшие в исследование, мы разделили на группы низкой (G1), средней (G2) и высокой (G3) степени злокачественности.

В обеих группах присутствовали образцы опухолей разной степени злокачественности. Интересно отметить, что большая часть опухолей основной и контрольной групп обладала средней степенью злокачественности (G2). Количество таких образцов составило 38 (72%) в группе с рецидивом заболевания и 69 (65,7%) в группе безрецидивного течения. Доля опухолей G1 была несколько выше в группе сравнения, чем в основной группе и составила 28 случаев (26,7%) против 7 (13%). Опухоли G3 имели место в 8 (15%) случаях основной группы и в 8 (7,6%) случаях из группы сравнения. Несмотря на то, что распределение образцов в зависимости от степени злокачественности различалось внутри групп, статистически значимой разницы между группами получено не было ($p = 0,22$ для G 1, $p = 0,24$ для G 2 и $p = 0,19$ для G 3).

Проанализировав значения прогностических индексов опухолей молочных желез у женщин, вошедших в исследование, мы получили следующие результаты: средний СБЗ в основной и контрольной группах составил 19,1 (2,5) и 13,3 (2,3) балла, соответственно. В зависимости от показателя данного прогностического индекса всех наших пациенток мы разделили на 3 группы прогноза: низкого риска (СБЗ<14 баллов), среднего (СБЗ=14-15 баллам) и высокого (СБЗ>15 баллов) риска рецидива. При этом статистически значимых различий по уровню СБЗ между группами сравнения выявлено не было ($p = 0,07$ для СБЗ <14 б., $p = 0,08$ для СБЗ = 14-15 б. и $p = 0,11$ для СБЗ >15 б.). Стоит отметить, что у большинства пациенток группы с рецидивом заболевания уровень СБЗ характеризовал онкологический

процесс как заболевание с умеренным риском метастазирования. Таких пациенток было 21 из 53 (40%). В группе сравнения примерно половина опухолей имела уровень СБЗ менее 14 баллов, что предполагает хороший прогноз в плане риска рецидива болезни. Таких пациенток было 53 из 105 (50,5%). Опухоли со средним значением СБЗ встречались в 30 случаях контрольной группы (28,6%). Образцы РМЖ с плохим прогнозом по СБЗ наблюдались в 19 (36%) и 22 (20,9%) случаях основной и контрольной групп, соответственно.

При исследовании НПИ в образцах опухолей аналогично показателю СБЗ женщины были разделены на 3 прогностические группы. Большая часть опухолей обеих групп характеризовалась умеренным риском рецидива согласно НПИ. В основной группе таких образцов было 41 (77%), в контрольной – 71 (67,6%), что подтверждает необходимость поиска дополнительных критериев более четкого прогноза РМЖ. Распределение больных с опухолями низкого и высокого риска рецидива по НПИ так же не имело статистически значимых различий между группами сравнения ($p = 0,24$ и $p = 0,25$ для группы с низким и высоким риском рецидива, соответственно) и составило 11 (21%) случаев в основной группе и 28 (26,7%) случаев в группе сравнения для НПИ $< 3,4$ (группа хорошего прогноза). В группу плохого прогноза (НПИ $> 5,4$) вошла 1 (2%) женщина из группы с рецидивом заболевания и 6 (5,7%) пациенток контрольной группы.

Распределение больных по статусу регионарных подмышечных лимфоузлов было примерно одинаковым в обеих группах пациенток. 35 (66%) женщин основной и 72 (68,6%) – группы сравнения не имели метастазов в регионарные лимфоузлы ($p = 0,17$). У остальных пациенток были диагностированы от 1 до 3 подмышечных лимфоузлов на стороне поражения. Их количество составило 18 (34%) пациенток в группе с рецидивом заболевания и 33 (31,4%) пациентки из группы сравнения ($p = 0,19$).

Далее, используя корреляционный анализ, мы проследили взаимосвязи описанных выше качественных и количественных морфологических характеристик опухоли РМЖ и рецидивирования заболевания и отразили их графически с помощью скатерограмм. Были выявлены положительные корреляционные связи методом расчета коэффициента корреляции Спирмена между наличием рецидива РМЖ и уровнем СБЗ ($R = 0,254$) при $p < 0,001$, рецидивом и уровнем НПИ ($R = 0,227$) при $p < 0,001$, рецидивом и размером опухолевого узла ($R = 0,134$) при $p < 0,001$.

Кроме того, была обнаружена прямая статистически значимая зависимость между уровнем СБЗ и степенью злокачественности опухоли (G) (коэффициент корреляции Спирмена $R = 0,381$), где $p < 0,001$.

Помимо этого, имели место прямые корреляции между статусом подмышечных лимфоузлов и уровнем НПИ ($R = 0,368$) при $p = 0,01$, уровнем НПИ и степенью злокачественности опухоли ($R = 0,369$) при $p = 0,02$, уровнем НПИ и стадией заболевания ($R = 0,412$) при $p < 0,001$. Для этих параметров рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена.

Иммуногистохимическая характеристика опухолей молочной железы у пациенток с наличием и отсутствием рецидива заболевания (Ki-67, эстрогеновые рецепторы, прогестероновые рецепторы)

Проанализировав гормональную экспрессию в биоптатах опухолей, мы обнаружили, что чуть менее половины всех опухолей в каждой из групп обладали высокой или средней гормональной чувствительностью и по ЭР, и по ПР – 24 случая (45%) в группе с рецидивом заболевания и 45 случаев (42,8%) в группе сравнения. Так же было выявлено, что низкая экспрессия ПР (как потенциального фактора плохого прогноза) в основной группе была зарегистрирована у 6 пациенток (17%), а в безрецидивной группе сравнения – у 7 женщин (6,7%).

Далее нами исследовалась экспрессия Ki-67 как наиболее ценного и широко применяемого критерия плохого прогноза РМЖ и назначения адъювантной ПХТ при люминальном варианте заболевания.

Средний Ki-67 в основной группе составил 13,8 (5,2)%, в группе сравнения (без рецидива) – 10,8 (5,6)% ($p = 0,36$). Т.е. статистически значимых различий в группах по максимальному индексу пролиферативной активности выявлено не было.

Далее, используя корреляционный анализ, мы проследили взаимосвязи между описанными выше ИГХ-параметрами опухоли и рецидивом заболевания, а также с некоторыми морфологическими характеристиками опухоли.

Была получена прямая корреляционная связь между уровнем экспрессии ЭР и ПР ($R = 0,213$) при $p < 0,001$, что подтверждает данные об их взаимном участии в патогенезе РМЖ.

Кроме того, была обнаружена обратная корреляционная связь между уровнем экспрессии ЭР и показателем СБЗ ($R = -0,233$) при $p < 0,001$. Т.е. чем выше чувствительность опухоли к эстрогену, тем она менее злокачественна на основании СБЗ.

Так же имела место статистически значимая прямая зависимость между уровнем Ki-67 и наступлением рецидива ($R = 0,435$) при $p = 0,04$, между уровнем Ki-67 и показателем НПИ ($R = 0,638$) при $p < 0,001$, между уровнем Ki-67 и степенью злокачественности опухоли ($R = 0,319$) при $p = 0,04$.

Интересно отметить выявленную прямую корреляционную связь между уровнем Ki-67 и размером опухоли ($R = 0,369$) при $p = 0,01$, а также между уровнем Ki-67 и стадией РМЖ ($R = 0,549$) при $p < 0,001$.

Анализ уровней экспрессии микро-РНК в опухолях молочной железы у пациенток с наличием и отсутствием рецидива заболевания

Анализируя экспрессию miR-21, miR-155, miR-205, miR-125b miR-221, miR-20a, miR-146b и miR-200a в каждой из групп сравнения, мы обнаружили, что значимые различия в группах были получены для miR-21, miR-205, miR-146b и miR-200a.

При этом медиана экспрессии miR-21 в основной группе была почти в 3 раза больше, чем в группе контроля (146,68 [99,6;303,8] против 51,9 [17,75;149,75]) при $p = 0,03$ (рис. 1).

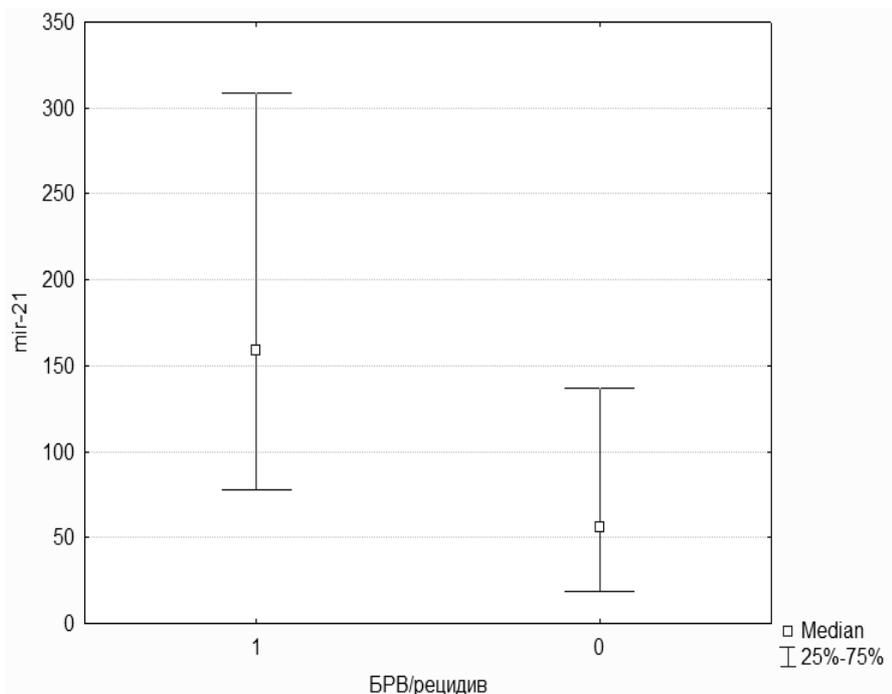


Рисунок 1 – соотношение медиан экспрессии miR-21 в основной (БРВ/рецидив 1) и контрольной (БРВ/рецидив 0) группах.

Медиана экспрессии miR-205 основной группы была почти в 27 раз выше аналогичного показателя группы сравнения (23,2 [8,32;316,65] против 0,875 [0,04;26,57]) ($p = 0,01$), что может указывать на онкостимулирующую роль данной микро-РНК в патогенезе РМЖ (рис.2).

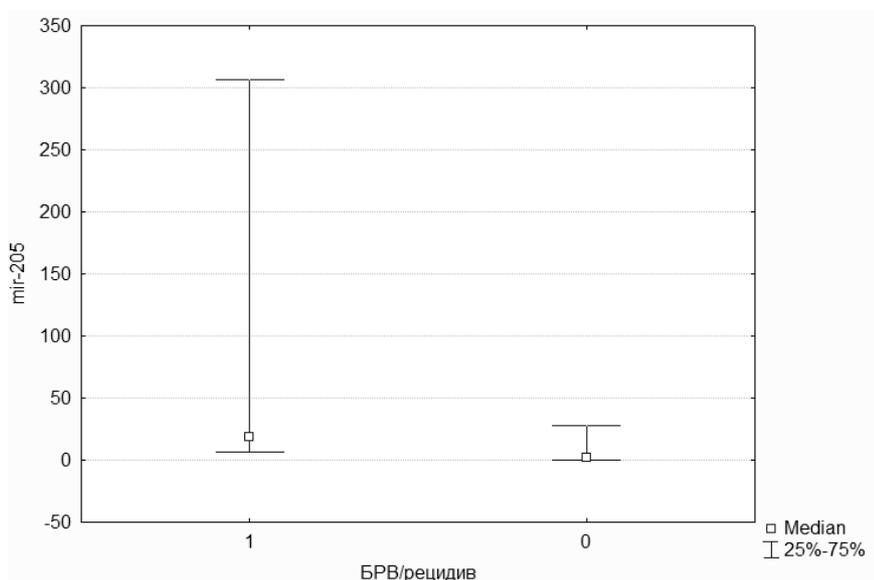


Рисунок 2 – соотношение медиан экспрессии miR-205 в основной (БРВ/рецидив 1) и контрольной (БРВ/рецидив 0) группах.

Статистически значимые различия так же были зафиксированы для miR-146b (рис.3) и miR-200a (рис.4). Экспрессия этих микро-РНК в основной группе с рецидивом была выше, чем в группе сравнения ($p < 0,05$). Медиана экспрессии

miR-146b в основной группе составила 0,15 [0,07;1,7] против 0,07 [0,03;0,13] группы сравнения ($p = 0,04$). Медиана экспрессии miR-200a в основной группе составила 0,15 [0,08;0,24] против 0,02 [0,00;0,01] контрольной группы ($p < 0,001$).

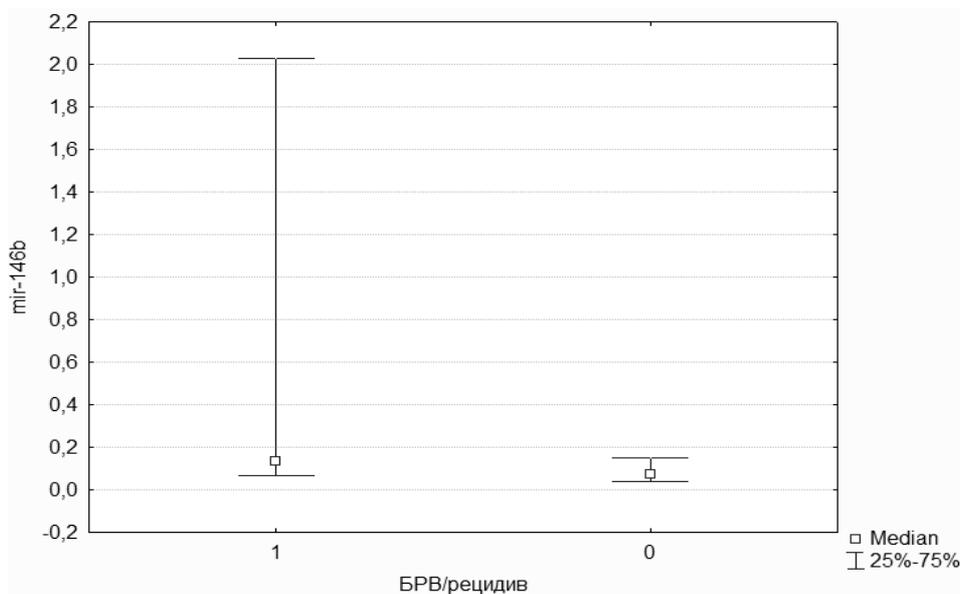


Рисунок 3 – соотношение медиан экспрессии miR-146b в основной (БРВ/рецидив 1) и контрольной (БРВ/рецидив 0) группах.

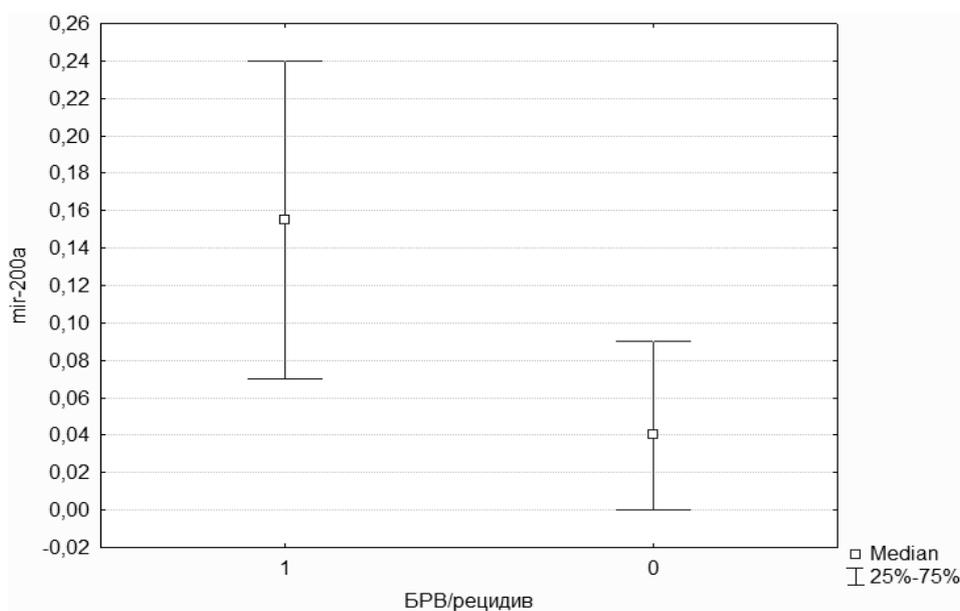


Рисунок 4 – соотношение медиан экспрессии miR-200a в основной (БРВ/рецидив 1) и контрольной (БРВ/рецидив 0) группах.

Сравнительный анализ экспрессии оставшихся микро-РНК (miR-221, miR-222, miR-155, miR-20a и miR-125b) не показал статистически значимых различий между группами с рецидивом заболевания и без него ($p = 0,21$ для miR-221, $p = 0,23$ для miR-222, $p = 0,72$ для miR-155, $p = 0,6$ для miR-20a и $p = 0,09$ для miR-125b).

Далее методом корреляционного анализа мы проследили взаимосвязи уровней экспрессии вышеуказанных микро-РНК с рецидивом РМЖ. Были

получены следующие результаты: выявлена прямая корреляционная связь средней силы между miR-21 и наступлением рецидива ($R = 0,34$ при $p = 0,02$), между miR-146b и наступлением рецидива ($R = 0,324$ при $p = 0,03$), между miR-200a и наступлением рецидива ($R = 0,522$ при $p < 0,001$). Т.е. при увеличении экспрессии данных микро-РНК в ткани опухоли возрастает частота наступления рецидива.

Прогностическая модель рецидива первично-операбельного люминального HER2-негативного рака молочной железы

Используя метод построения логистической регрессии и ROC-анализа, нами была построена предсказывающая модель для определения рецидива заболевания для люминальных Her2/neu-негативных форм РМЖ. Стоит отметить, что многофакторный анализ выявил значимую роль miR-20a, анализ экспрессии которой не показал статистически значимых различий в группах сравнения. Так же была определена роль соотношений уровней экспрессии miR-21 / miR-155 и miR-21 / miR-205 в возникновении рецидива РМЖ в сочетании с другими факторами.

Предсказывающая модель была построена на примере 31 пациентки из тех, кому исследовали микро-РНК, и проверена на 10 пациентках.

В логистическую регрессию вошли следующие параметры: уровень экспрессии Ki-67 (%), I и IIВ стадии РМЖ, отношение уровней экспрессии miR-21 / miR-155 (значения > 2000), уровень экспрессии miR-20a (значения от 200 до 400), отношение уровней экспрессии miR-21 / miR-205 (значения > 200), максимальный размер опухоли в мм. При этом наиболее значимыми показателями в построении прогноза являются уровень Ki-67 и miR-20a.

Полученные результаты наглядно продемонстрированы на Рисунке 5, где площадь AUC = 0,9.

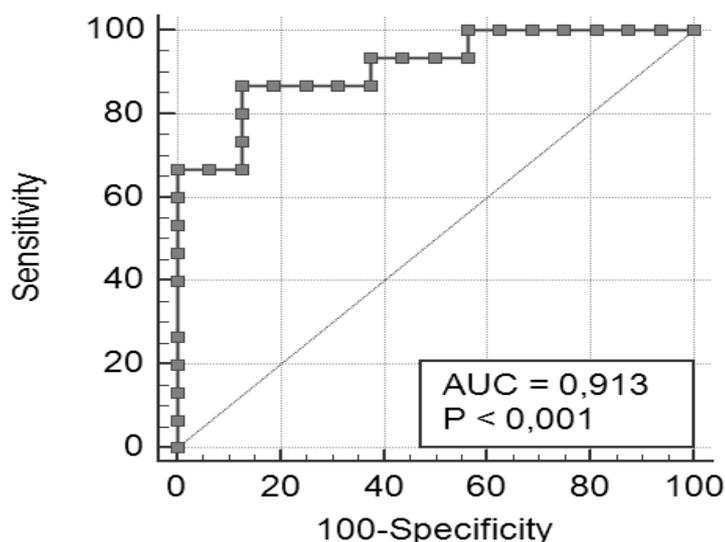


Рисунок 5 – ROC-кривая прогнозирования рецидива РМЖ

Данная модель предсказывает рецидив заболевания с точностью 87,1%. Из 16 пациенток без рецидива данный исход РМЖ был верно предсказан в 14 случаях. У 2-х пациенток ошибочно был предсказан плохой прогноз (специфичность метода составила 87,5%). При этом, исследуя случаи РМЖ с рецидивом заболевания в

первые 5 лет наблюдения, в 2-х случаях такой исход не был предсказан, а в 13 случаях определялся высокий риск рецидива (чувствительность метода составила 86,7%).

Кроме того, учитывая, что в данной модели учтена проводимая адъювантная ПХТ, которая назначается с целью профилактики прогрессирования заболевания, можно предположить нечувствительность данных форм РМЖ к используемым схемам ПХТ (стандартные режимы CAF, FAC, AC). Данная гипотеза требует дальнейшей разработки и может служить предметом отдельного исследования.

Параметры логистической регрессии определялись в программе MedCalc (версия 15.2) по формуле:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-t}} \quad (1)$$

$$t = 0.5 * ki_{67} + 1.002 * стадия I - 3.55 * стадия IIВ - 1.9 * \frac{mir21}{mir155} (2 \text{ группа}) - \\ - 1.04 * \frac{mir21}{mir155} (3 \text{ группа}) + 4.29 * \frac{mir20a}{mir205} (2 \text{ группа}) - \\ - 0.42 * \frac{mir21}{mir205} (2 \text{ группа}) + 0.29 * \text{ширина узла} - 10.56,$$

где ki_{67} – индекс пролиферативной активности опухоли в %;

стадия I – стадия РМЖ I (TNM);

стадия IIВ – стадия РМЖ IIВ (TNM);

$\frac{mir21}{mir155}$ (2 группа) – соотношение уровней экспрессии miR-21 / miR-155 от 2000 до 4000;

$\frac{mir21}{mir155}$ (3 группа) – соотношение уровней экспрессии miR-21 / miR-155 более 4000;

$\frac{mir20a}{mir205}$ (2 группа) – уровень экспрессии miR-20a более 10;

$\frac{mir21}{mir205}$ (2 группа) – соотношение уровней экспрессии miR-21 / miR-205 более 200;

ширина узла – ширина первичной опухоли РМЖ в мм.

На основании полученных данных нами была создана программа в формате Excel «Прогноз рецидива люминального рака молочной железы без гиперэкспрессии/амплификации HER2», позволяющая прогнозировать течение заболевания в случае первично-операбельного люминального HER2/негативного РМЖ, а именно предсказывать наступление рецидива в первые 5 лет с момента постановки диагноза.

Для определения риска рецидива РМЖ с помощью данной прогностической модели необходимо в соответствующие ячейки ввести ряд данных пациентки, а именно максимальный уровень Ki-67 в первичной опухоли, стадию РМЖ, размер первичной опухоли в мм, уровень экспрессии miR-21, уровень экспрессии miR-205, уровень экспрессии miR-155, уровень экспрессии miR-20a. При заполнении всех необходимых данных и наведении курсора на ячейку «Предсказать прогноз», в ней автоматически отразится результат – 0 или 1. 0 означает отсутствие рецидива в первые 5 лет наблюдения, 1 – наступление прогрессирования.

Как было описано выше, специфичность и чувствительность метода около 90%. Данная методика может применяться в практической онкологии при условии определения вышеуказанных микро-РНК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании выполненных исследований установлено, что распределение гистологических форм РМЖ в группах сравнения не имело статистически значимых различий ($p = 0,1$ для инфильтрирующего долькового рака (ИДР), $p = 0,18$ для инфильтрирующего протокового рака (ИПР), $p = 0,13$ для инфильтрирующего смешанного рака (ИСП) и $p = 0,34$ для атипичного РМЖ). Статистически значимой разницы по степени злокачественности опухоли между показателями групп сравнения также выявлено не было ($p = 0,22$ для G 1, $p = 0,24$ для G 2 и $p = 0,19$ для G 3). Полученные данные подтверждают информацию о морфологической гетерогенности РМЖ и сложности прогнозирования заболевания, опираясь лишь на степень злокачественности опухоли.

Выявлено отсутствие статистически значимых различий в группах по размерам первичной опухоли. Средняя длина опухолевого узла в основной группе составила 22,7 (6,03) мм, в группе сравнения - 20,5 (6,2) мм ($p = 0,43$). Средняя ширина первичной опухоли в группе с рецидивом заболевания составила 18,3 (5,7) мм, в безрецидивной группе - 16,7 (5,8) мм ($p = 0,45$). Также не было установлено значимых различий между расположением опухоли в правой или левой молочной железе ($p = 0,05$).

Выявлено примерно одинаковое распределение больных по статусу регионарных подмышечных лимфоузлов в обеих группах пациенток. 35 (66%) женщин основной и 72 (68,6%) женщины группы сравнения не имели метастазов РМЖ в регионарных лимфоузлах на стороне поражения ($p = 0,17$). У остальных пациенток были поражены от 1 до 3 подмышечных лимфоузлов на стороне опухоли. Их количество составило 18 (34%) пациенток в группе с рецидивом заболевания и 33 (31,4%) пациентки безрецидивной группы сравнения ($p = 0,19$).

Установлено отсутствие статистически значимых различий по уровню СБЗ между группами сравнения ($p = 0,07$ для СБЗ <14 б., $p = 0,08$ для СБЗ = 14-15 б. и $p = 0,11$ для СБЗ >15 б.). А также по уровню НПИ. Большая часть опухолей обеих групп характеризовалась умеренным риском рецидива согласно НПИ. В основной группе таких образцов было 41 (77%), в контрольной – 71 (67,6%), что подтверждает необходимость поиска дополнительных критериев более четкого прогноза РМЖ. Распределение больных с опухолями низкого и высокого риска рецидива по НПИ также не имело статистически значимых различий между исследуемыми группами ($p = 0,24$ и $p = 0,25$ для группы с низким и высоким риском рецидива, соответственно).

Выявлено, что чуть менее половины всех опухолей в каждой из групп обладали высокой или средней гормональной чувствительностью и по ЭР, и по ПР – 24 случая (45%) в группе с рецидивом заболевания и 45 случаев (42,8%) в группе сравнения. При этом средний Ki-67 в основной группе составил 13,8 (5,2)%, в группе сравнения (без рецидива) – 10,8 (5,6)% ($p = 0,36$).

Выявлены значимые корреляционные взаимосвязи между Ki-67 и наступлением рецидива ($R = 0,435$) при $p = 0,004$ и между Ki-67 и НПИ ($R = 0,638$) при $p < 0,001$ (коэффициент корреляции Пирсона).

Были получены статистически значимые различия в группах для miR-21, miR-205, miR-146b и miR-200a. При этом медиана экспрессии miR-21 в основной группе была почти в 3 раза больше, чем в группе контроля (146,68 [99,16;303,8] против 51,9 [17,75;149,75]) при $p = 0,03$, что согласуется с имеющимися в литературе данными об онкостимулирующем действии данной микро-РНК.

Медиана экспрессии miR-205 основной группы была почти в 27 раз выше аналогичного показателя группы сравнения (23,2 [8,32;316,65] против 0,875 [0,04;26,57]) ($p = 0,01$), что может указывать на ее онкостимулирующее влияние. Однако ряд авторов в своих исследованиях приводят аргументы за онкосупрессивную функцию miR-205, ее угнетающее действие на рост опухоли и ангиогенез [123]. Столь противоречивые данные указывают на неоспоримую роль miR-205 в онкогенезе, а также предполагают возможность как онкогенной, так и онкосупрессивной реализации данной микро-РНК в зависимости от типа опухоли и гена-мишени.

Статистически значимые различия так же были зафиксированы для miR-146b и miR-200a. Экспрессия этих микро-РНК в основной группе с рецидивом была выше, чем в группе сравнения, что может свидетельствовать об их онкогенном потенциале в патогенезе РМЖ. Медиана экспрессии miR-146b в основной группе составила 0,15 [0,07;1,7] против 0,07 [0,03;0,13] группы сравнения ($p = 0,04$). Медиана экспрессии miR-200a в основной группе составила 0,15 [0,08;0,24] против 0,02 [0,00;0,01] контрольной группы ($p < 0,001$).

Выявлены прямые корреляционные связи средней силы между miR-21 и наступлением рецидива ($R = 0,34$) при $p = 0,02$, между miR-146b и наступлением рецидива ($R = 0,324$) при $p = 0,03$, между miR-200a и наступлением рецидива ($R = 0,522$) при $p < 0,001$. Т.е. при увеличении экспрессии данных микро-РНК в ткани опухоли возрастает частота наступления рецидива.

Разработана предсказывающая модель для определения рецидива заболевания для люминальных Her2/neu-негативных форм РМЖ.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что статистически значимых различий по гистологическому варианту, степени злокачественности первичной опухоли, статусу регионарных подмышечных лимфоузлов, уровню Суммарного балла злокачественности и Ноттингемского прогностического индекса между группой женщин с рецидивом заболевания и безрецидивной группой сравнения не было.

2. Установлено, что высокий и средний уровень гормональной экспрессии первичной опухоли не исключает вероятность рецидива рака молочной железы в первые 5 лет наблюдения при уровне Ki-67 более 14% с учетом проведенного комплексного лечения.

3. Выявлено, что уровень экспрессии miR-21, miR-205, miR-146b и miR-200a был статистически значимо выше в группе с рецидивом заболевания в сравнении с контрольной безрецидивной группой.

4. Установлено, что выявленные корреляционные связи между соотношением уровней экспрессии потенциально-онкогенных и онкосупрессорных miR-21 / miR-155 и miR-21 / miR-205, а также уровнем экспрессии miR-20a в сочетании с другими факторами (Ki-67, стадия заболевания, размер первичной опухоли) могут служить маркерами рецидива первично-операбельного люминального HER2-негативного РМЖ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для определения риска рецидива/прогрессирования рака молочной железы у пациенток с первично-операбельными люминальными HER2-негативными опухолями необходимо использовать молекулярные методы исследования опухоли (определение микро-РНК методом ПЦР в реальном времени) в сочетании со стандартным патоморфологическим исследованием.

2. Для оценки риска рецидива/прогрессирования рака молочной железы у пациенток с первично-операбельными люминальными HER2-негативными опухолями необходимо учитывать как абсолютные значения уровня экспрессии miR-20a от 200 до 400, так и соотношения уровней экспрессии потенциально онкогенных и онкосупрессорных miR-21 / miR-155 > 2000 и miR-21 / miR-205 > 200 в опухолевой ткани.

3. Включение в алгоритм обследования пациенток с первично-операбельным люминальным HER2-негативным раком молочной железы компьютерной программы «Прогноз рецидива люминального рака молочной железы без гиперэкспрессии/амплификации HER2» позволит разделить пациенток на группы благоприятного и неблагоприятного прогноза для индивидуального подбора лечебной тактики.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Торосян, М.Х. Возможности персонификации адъювантной лекарственной терапии больных с первично-операбельным раком молочной железы / М.Х. Торосян // VIII российская научно-практическая конференция с международным участием: матер.конф. – Ульяновск, 2014. – С.114; 1/1 с.

2. Торосян, М.Х. Перспективы применения адъювантной терапии у женщин с ранней стадией рака молочной железы / М.Х. Торосян, В.В. Родионов., В.В. Кометова // VIII российская научно-практическая конференция с международным участием «Высшее сестринское образование в системе российского здравоохранения»: матер.конф. – Ульяновск, 2014 – С.115; 1/0,3 с.

3. **Родионов, В.В. Персонификация лекарственной терапии больных РМЖ на основе интегрального морфологического индекса (СБЗ) и иммуногистохимических параметров опухоли / В.В. Родионов, М.Х. Торосян, В.В. Кометова, С.Р. Идрисов, А.Ю. Богдасаров // Современные проблемы науки и образования [Электронный ресурс]. – 2014. - № 6. – Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=17023>. 7/1,4. ИФ-0,183.**

4. Торосян, М.Х. Адъювантная лекарственная терапия первично-операбельного рака молочной железы / М.Х. Торосян // Российская конференция с

международным участием «Высшее сестринское образование в системе российского здравоохранения»: матер.конф. - Ульяновск, 2015. – С.66; 1/1 с.

5. Торосян, М.Х. Возможности использования адьювантной терапии рака молочной железы у женщин / М.Х. Торосян, В.В. Родионов, В.В. Кометова // Российская конференция с международным участием «Высшее сестринское образование в системе российского здравоохранения»: матер.конф. - Ульяновск, 2015. — С.68; 1/0,3 с.

6. Кометова, В.В. Пороговое значение индекса пролиферации ki-67 в планировании адьювантного лечения рака молочной железы для популяции Ульяновской области / В.В. Кометова, В.В. Родионов, М.Х. Торосян, И.Б. Чигирева, М.Г. Шарафутдинов // 51-я межрегиональная научно-практическая медицинская конференция «Год здравоохранения: Перспективы развития отрасли»: матер.конф. - Ульяновск, 2016. – С.221-223; 3/0,6 с.

7. **Веряскина, Ю.А. Экспрессия микро-РНК в молекулярно-генетических подтипах рака молочной железы / Ю.А. Веряскина, С.Е. Титов, В.В. Родионов, Т.П. Генинг, Т.В. Абакумова, В.В. Кометова, М.Х. Торосян, И.Ф. Жимулев, Н.Н. Колесников // Современные проблемы науки и образования [Электронный ресурс]. – 2015. - № 5. – Режим доступа: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=21656>. 7/0,8 с. ИФ-0,183.**

8. Торосян, М.Х. Иммуногистохимические критерии для персонификации адьювантной терапии больных раком молочной железы / М.Х. Торосян, В.В. Кометова, Е.В. Козырева // Актуальные вопросы клинической онкологии: матер.конф. - Оренбург, 2016. – С.175-178; 4/1,3 с.

9. Торосян, М.Х. Обоснование адьювантной терапии рака молочной железы у женщин Ульяновской области / М.Х. Торосян // Современные аспекты здравоохранения: достижения и перспективы: матер.конф. - Ульяновск, 2017. – С. 262-263; 2/2 с.

10. Торосян, М.Х. Лекарственная терапия больных раком молочной железы в соответствии с иммуногистохимическими параметрами опухоли / М.Х. Торосян, В.В. Родионов, В.В. Кометова // Современные аспекты здравоохранения: достижения и перспективы: матер.конф. - Ульяновск, 2017. – С. 238-240; 3/1 с.

11. Шарафутдинов, М.Г. Паллиативная медицинская помощь онкологическим больным: учебно-методическое пособие для врачей и студентов / М.Г. Шарафутдинов, С.В. Панченко, И.Б. Чигирева, И.Н. Елистратова, М.Х. Торосян. – Ульяновск : УлГУ, 2017. – 48 с. 48/9,6 с.

12. Родионов, В.В. Злокачественные новообразования молочной железы. Профилактика, диагностика, лечение, реабилитация: учебно-методическое пособие для врачей и студентов / В.В. Родионов, И.С. Панченко, М.Г. Шарафутдинов, М.В. Родионова, В.В. Кометова, С.В. Панченко, В.С. Морозов, М.Х. Торосян. – Ульяновск : УлГУ, 2018. – 67 с. 67/8,4 с.

13. **Торосян, М.Х. Значение изменения микро-РНК в прогнозе рецидива рака молочной железы / М.Х. Торосян, В.В. Родионов, Ю.А. Веряскина, В.В. Кометова, М.Г. Шарафутдинов // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2018. - № 1. – С. 71-80; 9/1,8 с. ИФ – 0,248.**

14. **Kolesnikov, N.N. Expression of micrnas in molecular genetic breast cancer subtypes / N.N. Kolesnikov, Yu.A. Veryaskina, S.E. Titov, V.V. Rodionov, T.P.**

Gening, T.V. Abakumova, V.V. Kometova, M.Kh. Torosyan, I.F. Zhimulev // (doi: 10.1016/j.ctarc.2016.08.006) Cancer Treat Res Commun 20: 100026, 2019; 11/1,2 с.

Колесников, Н.Н. Экспрессия микро-РНК в молекулярно-генетических подтипах РМЖ / Н.Н. Колесников, Ю.А. Верякина, С.Е. Титов, В.В. Родионов, Т.П. Генинг, Т.В. Абакумова, В.В. Кометова, М.Х. Торосян, И.Ф. Жимулев // (doi: 10.1016/j.ctarc.2016.08.006) Cancer Treat Res Commun 20: 100026, 2019; 11/1,2 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БРВ – безрецидивная выживаемость;

ГТ – гормональная терапия;

ИГХ – иммуногистохимический;

КТ – компьютерная томография;

ЛТ – лучевая терапия;

Микро-РНК (miRNA/miR) – микро рибонуклеиновая кислота;

мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота;

НПИ (NPI) – Ноттингемский прогностический индекс;

ОВ – общая выживаемость;

ПР (PR) – рецептор прогестерона;

ПХТ – полихимиотерапия;

ПЦР – полимеразная цепная реакция;

РМЖ – рак молочной железы;

РМЭ – радикальная мастэктомия;

СБЗ (SBZ) – Суммарный балл злокачественности;

УЗИ – ультразвуковое исследование;

ХТ – химиотерапия;

ЭР (ER) – рецептор эстрогенов;

АС – доксорубицин+циклофосфамид;

ASCO/CAP – Американское общество клинических онкологов /Колледж американских патологов;

BRCA – белок восприимчивости к раку молочной железы;

EPclin score – Endo Predict test score;

ФАС/CAF –фторурацил+доксорубицин+циклофосфамид;

G – степень злокачественности опухоли;

HER2/neu - рецептор эпидермального фактора роста человека 2-го типа;

LN – lymph node;

PEPI – предоперационный эндокринный прогностический индекс;

PGR – ген прогестероновых рецепторов;

RUSSCO – Российское общество клинической онкологии;

TNM - tumor, nodus, metastasis;

TopII α – топоизомераза 2 альфа;

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов.

Торосян Маргарита Хачатуровна

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
ПРЕДИКТОРЫ РЕЦИДИВИРОВАНИЯ ЛЮМИНАЛЬНОГО HER2-
НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

14.01.12 – Онкология

АВТОРЕФЕРАТ
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Подписано в печать