

*На правах рукописи*

**МАМЕДОВ УЛЬВИ РАФАЭЛЬ ОГЛЫ**

**ИНСУЛИНОПОДОБНЫЕ ФАКТОРЫ РОСТА  
И МАРКЕРЫ ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ В ДИАГНОСТИКЕ  
И ПРОГНОЗЕ РАННЕГО РЕЦИДИВА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

14.01.12 – онкология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Москва – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор — доктор медицинских наук, профессор, член корреспондент РАН Стилиди Иван Сократович).

**Научный консультант:**

доктор медицинских наук, профессор

**Воротников Игорь Константинович**

**Официальные оппоненты:**

**Высоцкая Ирина Викторовна**, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры онкологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет).

**Иванов Андрей Михайлович**, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации.

**Зикирходжаев Азиз Дильшодович**, доктор медицинских наук, заведующий отделением онкологии и реконструктивно-пластической хирургии молочной железы и кожи Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена – филиала федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Ведущая организация:** федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «3» октября 2019 года в 14-00 часов на заседании диссертационного совета Д001.017.01 на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (115478 г. Москва, Каширское шоссе, д.23).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (115478, г. Москва Каширское шоссе, д.24) и на сайте [www.ronc.ru](http://www.ronc.ru).

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 года

Учёный секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

**Кадагидзе Заира Григорьевна**

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИИ**

### **Актуальность темы исследования и степень ее разработанности**

Рак молочной железы (РМЖ) – гетерогенная злокачественная опухоль, которая представляет собой несколько гистологических вариантов новообразований, различающихся генотипически, а также клиническим течением и прогнозом. РМЖ – это одна из доминантных причин смерти среди женщин в возрасте от 44 до 60 лет. Ежегодно в мире регистрируется 1,4 млн случаев РМЖ.

Проблема РМЖ в мире и России крайне актуальна. РМЖ – наиболее распространенная и агрессивная болезнь, с не всегда понятным биологическим метастатическим потенциалом, занимающая 1 место в структуре онкологической заболеваемости (20,7%) и смертности (17,1%) среди женского населения России. Заболеваемость РМЖ в России неуклонно растет.

Активно продолжается поиск мишеней целенаправленной терапии и маркеров для оценки прогноза раннего рецидива болезни. В ряде случаев, довольно сложно оценить метастатический потенциал и биологическую агрессивность начальных форм РМЖ, а следовательно, его прогноз и, соответственно, выбор наиболее эффективного лечения.

В настоящее время одной из важных задач клинической онкологии является идентификация роли различных белков и сигнальных путей, регулирующих злокачественный потенциал опухолевых клеток.

Среди большого числа молекулярно-биологических показателей, влияющих на клиническое течение злокачественных опухолей, особое место занимает система инсулиноподобных факторов роста (система-IGF), ключевыми представителями которой являются лиганды (IGF-I, IGF-II), рецепторы и 6 типов IGF-связывающих белков сыворотки крови (IGFBP). Помимо исследования роли компонентов системы-IGF в этиологии и патогенезе РМЖ, большое внимание уделяется изучению этих биологически активных молекул как потенциальных диагностических, прогностических маркеров, а также возможных мишеней для молекулярно-направленной (таргетной) терапии.

На повестке у современных врачей онкологов стоит прогнозирование риска раннего рецидива заболевания, с целью оптимизации целенаправленной лечебной тактики.

### **Цель исследования**

Улучшение прогнозирования раннего рецидива при РМЖ T1-2N0M0 стадий на основе определения клинической значимости системы инсулиноподобных факторов роста, и их связи с тканевыми и сывороточными молекулярно-биологическими маркерами опухолевой прогрессии.

### **Задачи исследования**

1. Провести клинический анализ комплексного исследования биологических маркеров системы инсулиноподобных факторов роста (IGF-I, IGF-II), их транспортных белков (IGFBP-1,

IGFBP-3) в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и определить их возможную роль в диагностике и раннем выявлении рецидива заболевания.

2. Изучить связь маркеров системы-IGF (IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-3) с ключевыми клиническими (стадия заболевания) и морфологическими (гистологический вариант рака, степень дифференцировки опухоли, биологические подтипы РМЖ) факторами прогноза.

3. Провести сравнительный анализ показателей активатора плазминогена урокиназного типа (uPA) в опухоли и неизменной ткани молочной железы у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, выявить связь uPA с маркерами системы-IGF в диагностике и прогнозе раннего рецидива заболевания.

4. Исследовать клиническую значимость содержания MMP-2 в сыворотке крови, опухоли и гистологически неизменной ткани молочной железы у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, выявить возможную связь фермента с биологическими маркерами системы-IGF в диагностике и оценке прогноза раннего рецидива заболевания.

5. Проанализировать клиническую значимость провоспалительного цитокина IL-6 и ингибитора апоптоза sFas в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, установить их связь с биологическими маркерами системы-IGF, ключевыми морфологическими, биологическими характеристиками опухоли и выявить их роль в диагностике и возможности прогнозирования раннего рецидива болезни.

6. На основании многофакторного анализа клинико-морфологических и биохимических данных, корреляционных взаимосвязей уровней исследованных сывороточных и тканевых биологических маркеров (IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-3, uPA, MMP-2, IL-6, sFas, PЭ, PП, Her2-нец, Ki-67) у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, выделить комплекс наиболее значимых маркеров для диагностики, характеристики высокоагрессивных биологических подтипов рака и возможного их использования в предсказании раннего рецидива заболевания, и как следствие, определения лечебной тактики.

7. Разработать алгоритм диагностики и прогнозирования ранних рецидивов на основе определения пороговых уровней тканевых и сывороточных маркеров, характеризующих агрессивный тип РМЖ T1-2N0M0 стадий.

#### **Методы и методология исследования**

В исследование включено 293 больные РМЖ с T1N0M0 и T2N0M0 стадиями. Все пациентки проходили обследование и лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в период с 2004 по 2014 гг. Рак молочной железы у всех больных установлен впервые и подтвержден данными морфологического исследования согласно «Международной гистологической классификации рака молочной железы по системе TNM» (AJCC-UICC, 7-е издание, 2010 г.).

Исследования биохимических маркеров у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в группе здоровых женщин (группа контроля) проведены в лаборатории клинической биохимии НИИ клинической онкологии им. академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (руководитель лаборатории доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН Кушлинский Николай Евгеньевич).

Концентрации IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-3, матриксной металлопротеиназы 2 типа (MMP-2), растворимого Fas-антигена (sFas), интерлейкина-6 (IL-6) определяли иммуноферментным методом в сыворотке крови всех больных до начала терапии (исходно).

Измерения проводили на автоматическом универсальном ридере для микроплашек «ELX800» фирмы «Bio-Tek Instruments, Inc.» (США). Обработку результатов измерений рассчитывали согласно формуле:  $Y = a + bX + cX^2$ , где X - концентрация анализируемого белка (в Ед. измерения конкретного фактора), а Y - оптическая плотность (с длиной волны в пределах от 450 до 650 нм) для соответствующего маркера в течение 20-30 мин после добавления стоп-реагента согласно рекомендациям производителя тест-систем, используемым в работе.

Выбор основных характеристик и статистических критериев при их сравнении осуществляли после изучения распределения признака и его сравнения с распределением Гаусса по критерию Колмогорова-Смирнова. Для числовых признаков с распределением, соответствующим распределению Гаусса, рассчитывали средние значения числовых признаков, стандартное отклонение. Достоверность различий p рассчитывали дисперсионным анализом. При количестве групп более двух p рассчитывали с учетом множественности сравнений (по критерию Scheffe).

При сравнении частот строили таблицы сопряженности признаков. Для расчета p использовали точный критерий Фишера (при небольших объемах групп) и непараметрический критерий  $\chi^2$ . Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Рассчитывали чувствительность и специфичность пороговых значений маркеров по 95% доверительному интервалу в группе контроля. Проводили корреляционный анализ Pearson с расчетом коэффициента корреляции и уровня его значимости.

При выборе статистических процедур, учитывались методологические требования Международного конгресса по гармонизации GGP «Статистические принципы для клинических исследований».

Все вычисления проводили на персональном компьютере с помощью математических пакетов «STATISTICA» и SPSS в отделе информационных технологий ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

### Научная новизна

Впервые у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий исследован широкий комплекс сывороточных молекулярно-биологических маркеров: системы инсулиноподобных факторов роста (IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-3), MMP-2, IL-6 и sFas в сравнении с соответствующими показателями у здоровых женщин, а также uPA, MMP-2 и уровни экспрессии PЭ, PП, Her2, Ki-67 в опухоли.

Впервые обнаружено достоверное снижение содержания IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 по сравнению со здоровыми женщинами группы контроля, при этом маркер не отражал стадию процесса, степень злокачественности и гистологическое строение опухоли и не обладал диагностической значимостью.

Впервые показано, что сывороточный IGF-II у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий достоверно выше, чем у здоровых женщин. При 95%ДИ показателя IGF-II равного 2,0 мкг/мл в контроле маркер обладал высокими показателями чувствительности (76,7%) и специфичности (94,1%) в диагностике заболевания. IGF-II как и IGF-I не отражал стадию, гистологическую структуру новообразования, но был снижен при G-I степени дифференцировки и при «люминальном А» раке, достоверно повышен у пациенток с Her2-neu+ опухолью.

Впервые убедительно доказано, что содержание сывороточного IGFBP-1 и IGFBP-3 у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий достоверно выше, чем у здоровых женщин. Обнаружено достоверно более высокое содержание IGFBP-1 у больных с Her2-neu+ опухолями, IGFBP-3 - при низкой (G-3) степени дифференцировки опухоли и оба маркера достоверно снижены при «люминальном А» РМЖ.

Впервые установлено достоверно более высокое содержание uPA в опухоли по сравнению с неизменной тканью молочной железы, при T2N0M0 стадии, чем при T1N0M0.

Впервые выявлено, что содержание сывороточного MMP-2 у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий не отличалось от такового показателя у здоровых женщин, было достоверно выше при T2N0M0 стадии по сравнению с T1N0M0, у пациенток с PЭ-, PП- и Her2-neu+ опухолями, и достоверно ниже при «люминальном А» подтипе РМЖ. Показано, что у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий сывороточный MMP-2  $\geq 240$  нг/мл обладал самостоятельной прогностической ценностью и показал высокую специфичность (91,6%) и чувствительность (90,9%) в предсказании риска развития раннего рецидива.

### Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость исследования состоит в том, что на большом репрезентативном клиническом материале дана оценка комплекса биологических маркеров, включая основные показатели системы-IGF – лиганды (IGF-I, IGF-II) и связывающие их белки сыворотки крови (IGFBP-1, IGFBP-3), маркеры инвазии (MMP-2, uPA), пролиферативной

активности (Ki-67), гормональной (PЭ, PП) и лекарственной чувствительности (Her-2) опухоли и их роли в диагностике и предсказании раннего (в первые 3 года от начала лечения) рецидива заболевания.

Впервые представлена возможность прогнозировать ранний рецидив заболевания у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с использованием комплекса лабораторных маркеров, которые отражают не только агрессивный биологический потенциал опухоли, но и неблагоприятно отражаются на показателях отдаленных результатов лечения, значимо снижая показатели 5-летней безрецидивной выживаемости.

Выделены пороговые уровни маркеров - как независимые факторы, определяющие время и частоту обнаружения раннего рецидива опухоли у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий: в сыворотке крови - IGF-I  $\geq 3,0$  мкг/мл; IGF-II  $\geq 3,0$  мкг/мл; MMP-2 – 60,0 нг/мл; IL-6 – 2,4 нг/мл; в ткани опухоли - uPA – 2,8 нг/мг белка; MMP-2 – 40 нг/мг белка.

Полученные лабораторные данные имеют непосредственное практическое значение, так как позволяют оптимизировать диагностический алгоритм и прогнозировать ранний рецидив заболевания у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, с целью выбора оптимальной лечебной тактики.

#### **Личный вклад**

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии во всех этапах выполнения научно-исследовательской работы – проведения анализа состояния проблемы по данным современной литературы, формулирования цели и задач исследования, методических подходов, сбора и анализа данных первичной медицинской документации, непосредственное участие во всех этапах лабораторного анализа.

Автор лично принимал участие в лечении и дальнейшем наблюдении за значительным числом больных, вошедших в анализ. Автор обобщил полученные данные, сформулировал и систематизировал выводы и оформил диссертационную работу. Личный вклад автора также состоит в непосредственном участии в подготовке публикаций по выполненной работе, апробации и внедрении в практику и образовательную деятельность полученных результатов исследования.

#### **Соответствие диссертации паспорту специальности**

Диссертация соответствует паспорту специальности 14.01.12 – онкология («медицинские науки») и областям исследования п.2 «Исследования по изучению этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии и др.)» и п.3 «Разработка и совершенствование программ скрининга и ранней диагностики».

### Положения, выносимые на защиту

1. Выделены различные группы больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, которые отличаются как по содержанию лигандов системы-IGF, так и их связывающих белков (IGFBP) в сыворотке крови. При этом сывороточные уровни IGF-I достоверно ниже, а IGF-II достоверно выше у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий по сравнению со здоровыми женщинами и имеют связь с биологическими подтипами и клинико-морфологическими характеристиками заболевания. Уровни IGF-I достоверно ниже у больных с РЭ- опухолями и выше при «люминальном А» РМЖ, тогда как сывороточные уровни IGF-II достоверно выше у пациенток T1-2N0M0 стадий с Her2-neu+ РМЖ.

2. Среди исследованных ключевых маркеров системы-IGF только IGF-II при 95%ДИ его уровня равного 2,0 мкг/мл в контроле обладает высокими показателями чувствительности (76,7%) и специфичности (94,1%) в диагностике РМЖ T1-2N0M0 стадий, но не обладает самостоятельной приемлемой прогностической ценностью в предсказании возможного риска развития раннего рецидива.

3. Содержание IGFBP-1 и IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий высокодостоверно выше, чем у здоровых женщин. Отмечено достоверное повышение IGFBP-1 у пациенток с Her2-neu+ опухолью, а IGFBP-3 - при низкодифференцированных новообразованиях. Оба маркера достоверно снижены в сыворотке крови пациенток при «люминальном А» РМЖ.

4. Установлено достоверное повышение содержания uPA в опухоли при T2N0M0 стадии РМЖ, по сравнению с T1N0M0, а также выше при обеих стадиях по сравнению с неизменной тканью молочной железы. При этом уровни маркера повышены в низкодифференцированных опухолях.

5. Согласно данным многофакторного анализа безрецидивная выживаемость больных РМЖ T1-2N0M0 стадий зависела от биологического подтипа опухоли и степени ее злокачественности.

6. Достоверно выше исходные концентрации IGF-I, IGF-II, IGFBP-3, MMP-2 и sFas в сыворотке крови, а содержание uPA и MMP-2 в опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, у которых возник рецидив заболевания в первые 3 года от начала лечения, что позволило выделить их пороговые значения как независимые факторы, определяющие время и частоту возникновения рецидива опухоли.

7. Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости высокодостоверно снижались при одновременном выявлении у пациенток неблагоприятных уровней трех и более исследованных маркеров в сыворотке крови.

### **Внедрение результатов исследования**

Большой клинический материал, сопоставимость анализируемых групп больных, идентичная стадия, период проводимого лечения, длительное время наблюдения, тщательный и всесторонний анализ клинических, морфологических подходов, лабораторный этап исследования, выполненный на высоком современном методическом уровне с использованием высокочувствительных иммуноферментных методов биохимического анализа, стандартизованной оценки данных, современные методы статистической обработки полученного лабораторного материала и клинических данных, свидетельствуют о достоверности полученных результатов.

Разработанные рекомендации апробированы и внедрены в клиническую практику отделения хирургического №5 (опухолей молочных желез) НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены: на Международной конференции «Молекулярная медицина и биобезопасность» (Москва, Россия, 2009 г.), на XVII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, Россия, 2010 г.), на конференции «Национальные дни лабораторной медицины России— 2010» (Москва, Россия, 2010 г.), на XVIII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, Россия, 2011 г.), на конгрессе «Национальные дни лабораторной медицины России» (Москва, Россия, 2011 г.), на XIX Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, Россия, 2012 г.), на XX Всероссийской научно-практической конференции «Достижения и перспективы развития лабораторной службы России» (Москва, Россия, 2015 г.), на XIX Форуме «Российский конгресс лабораторной медицины» (Москва, Россия, 2015 г.), на 21<sup>th</sup> International Charles Heidelberger Symposium (Moscow, Russia, 2016).

### **Апробация**

Апробация диссертации состоялась 18 декабря 2018 года на совместной научной конференции с участием отделений: хирургического №5 (опухолей молочных желез), хирургического №2 (диагностики опухолей), хирургического №12 (реконструктивной и пластической онкологии) отдела общей онкологии, химиотерапии и комбинированного лечения злокачественных опухолей, отдела патологической анатомии опухолей человека, централизованного клиничко-лабораторного отдела НИИ клинической онкологии им. академика РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова, лаборатории комбинированной терапии опухолей НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, кафедры онкологии лечебного факультета ФГБОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), кафедры онкологии ФДПО ФГАОУ ВО РНИМУ им. Пирогова Минздрава России.

## Публикации

По материалам диссертации опубликовано 30 научных работ, в том числе 15 в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России.

### Объём и структура диссертации

Диссертация изложена на 254 страницах машинописного текста, состоит из введения, 6 глав (обзора литературы, описания материалов и методов исследования и 3 глав собственных исследований), заключения, выводов, практических рекомендаций, списка условных сокращений, применяемых в тексте, и списка цитируемой литературы. Материал содержит 78 таблиц и 42 рисунка. Список литературы представлен 390 источниками (87 — отечественными; 303 — зарубежными).

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы

#### Характеристика больных раком молочной железы

В исследование включено 293 больные РМЖ с T1N0M0 и T2N0M0 стадиями. Все пациентки проходили обследование и лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в период с 2004 год по 2014 год.

Группу контроля составили 75 здоровых женщин в возрасте от 25 до 75 лет.

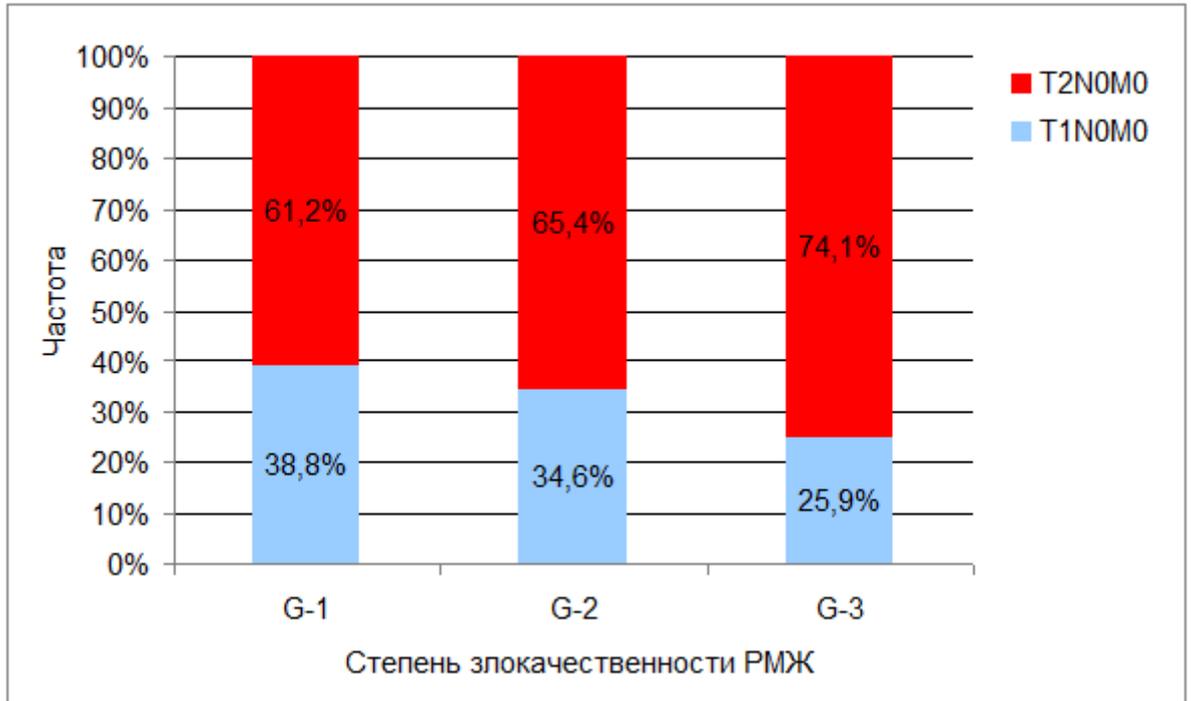
Возраст больных РМЖ T1-2N0M0 стадий колебался от 29 до 75 лет включительно, в среднем составили  $57,3 \pm 0,6$  лет. Частота выявления больных РМЖ T1-2N0M0 стадий была наибольшей в возрасте 45-50 лет ( $n=52$ , 17,7%). В возрастном интервале от 60 до 70 лет также наблюдали высокую частоту выявления РМЖ ( $n=91$ , 31,1%). У 93 (31,7%) пациенток установлена T1N0M0 стадия заболевания, у 200 (68,3%) — T2N0M0 стадия.

В таблице 1 представлено распределение больных РМЖ по стадии и гистологической структуре опухоли.

**Таблица 1** - Распределение больных РМЖ T1-2N0M0 стадий по гистологической структуре опухоли

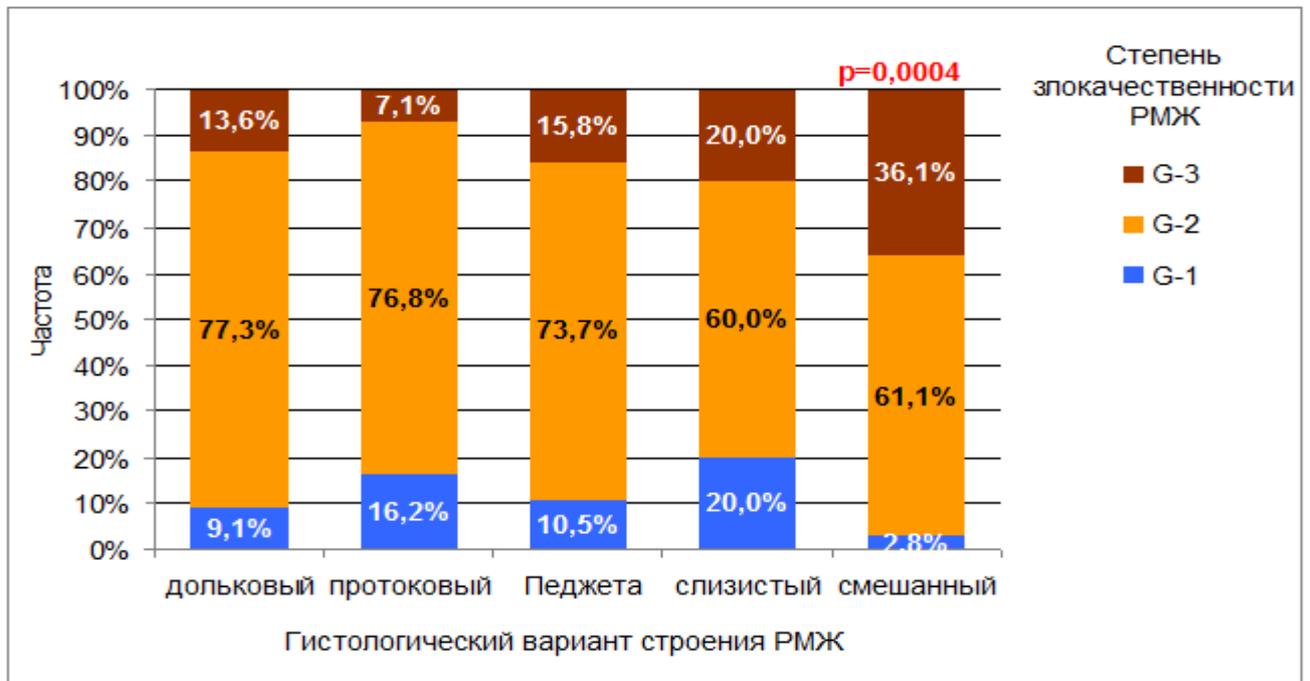
Гистологические варианты РМЖ	Стадия	
	T1N0M0 абс. число (%)	T2N0M0 абс. число (%)
Дольковый	12 (37,5)	20 (62,5)
Протоковый	42 (33,1)	85 (66,9)
Педжета (с узлообразованием)	10 (31,3)	22 (68,7)
Слизистый	1 (12,5)	7 (87,5)
Смешанный	28 (29,8)	66 (70,2)

В группе с G-1 количество больных с T2N0M0 стадией превышало количество больных с T1N0M0 стадией в 1,6 раза и составило 61,2%, при G-2 — в 1,9 раза (65,4%), а при G-3 — в 3 раза (74,1%) (рисунок 1).



**Рисунок 1** — Распределение больных РМЖ с учетом степени злокачественности опухоли и стадии заболевания

Установлено, что смешанный вариант РМЖ отличался от прочих низкой частотой выявления G-1 опухоли (2,8%) и высокой частотой выявления G-3 опухоли (36,1%) ( $p=0,0004$ , рисунок 2).



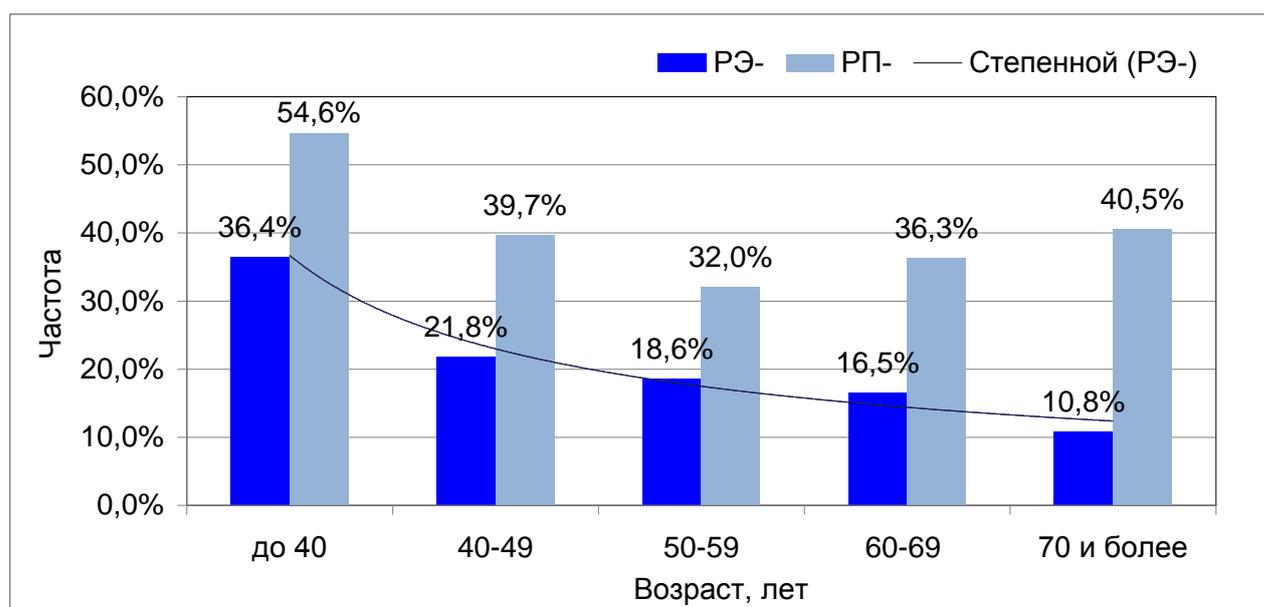
**Рисунок 2** — Распределение больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом степени злокачественности и гистологического строения опухоли.

В таблице 2 представлено распределение больных в зависимости от рецепторного статуса. В общей группе больных РМЖ большинство опухолей содержало РЭ (81,2%) и РП (62,5%).

**Таблица 2** - Распределение больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от рецепторного статуса опухоли

Группы	Рецепторный статус РМЖ				p
	РЭ+ абс. ч. (%)	РЭ- абс. ч. (%)	РП+ абс. ч. (%)	РП- абс. ч. (%)	
Общая группа больных РМЖ	238 (81,2)	55 (18,8)	183 (62,5)	110 (37,5)	
Стадия РМЖ					
T1N0M0	81 (87,0)	12 (12,9)	59 (63,4)	33 (36,5)	>0,05
T2N0M0	158 (79,0)	42 (21,0)	124 (62,0)	76 (38,0)	
Степень злокачественности РМЖ					
G-1	23 (74,2)	8 (25,8)	20 (64,5)	11 (35,5)	>0,05
G-2	167 (80,3)	41 (19,7)	132 (63,5)	76 (36,5)	
G-3	32 (59,3)	22 (40,7)	32 (59,3)	22 (40,7)	

Рецепторный статус по РЭ был достоверно связан с возрастом больных РМЖ. Так, если в группе больных моложе 40 лет частота рецептор отрицательных значений по РЭ составила 36,4%, то в группе старше 70 лет — только 10,8% (рисунок 3).



**Рисунок 3** — Распределение больных РМЖ T1-2N0M0 стадий по частоте выявления РЭ- и РП- в зависимости от возраста

Данные о частоте выявления Her2-neu в ткани опухоли представлены в таблице 3. Показано, что белок Her2-neu не экспрессировали 82,5% опухолей в общей группе больных РМЖ, 84,6% опухолей степени злокачественности G-2 и 77,1% - 87,5% опухолей различных

гистологических вариантов.

**Таблица 3** – Характеристика больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом экспрессии белка Her2-neu в опухоли и некоторых клинических факторов

Группы	Экспрессия Her2-neu		p
	Her2-neu (-) абс. ч. (%)	Her2-neu (+) абс. ч. (%)	
Общая группа больных РМЖ	242 (82,5)	51 (17,4)	
Стадия РМЖ			
T1N0M0	77 (82,7)	16 (17,3)	>0,05
T2N0M0	165 (82,5)	35 (17,5)	
Степень злокачественности РМЖ			
G-1	25 (80,6)	6 (19,4)	>0,05
G-2	176 (84,6)	32 (15,4)	
G-3	41 (75,9)	13 (24,1)	
Гистологические варианты РМЖ			
Дольковый	28 (87,5)	4 (12,5)	>0,05
Протоковый	98 (77,1)	29 (22,9)	
Педжета (с узлообразованием)	27 (84,4)	5 (15,6)	
Слизистый	7 (87,5)	1 (12,5)	
Смешанный	82 (87,2)	12 (12,8)	
Возраст, годы M±m	57,3±0,7	57,0±1,5	

Слизистый вариант РМЖ отличался наибольшей частотой выявления подтипа «люминальный А» (50%) и низкой частотой прогностически неблагоприятного варианта «тройной негативный» (0%) (таблица 4). Рак Педжета характеризовался наибольшей частотой выявления подтипа «тройной негативный» (21,9%) (p=0,08 тенденция к различию).

**Таблица 4** — Характеристика больных РМЖ T1-2N0M0 стадий по биологическим подтипам опухоли с учетом клинических и морфологических факторов

Группы	Биологические подтипы РМЖ						p
	Luminal A абс. ч. (%)	Luminal B Her2-абс. ч. (%)	ЭР+, ПР-, Her2-абс. ч. (%)	Luminal B Her2 абс. ч. (%)	Triple negative абс. ч. (%)	HER2+ type абс. ч. (%)	
Общая группа больных РМЖ	97 (33,1)	59 (20,1)	55 (18,8)	28 (9,6)	31 (10,6)	23 (7,8)	
Стадия РМЖ							
T1N0M0	30 (32,2)	20 (21,5)	21 (22,8)	10 (10,9)	6 (6,5)	6 (6,5)	>0,05
T2N0M0	67 (33,5)	39 (19,5)	34 (17,0)	18 (9,0)	25 (12,5)	17 (8,5)	
Степень злокачественности РМЖ							
G-1	9 (29,0)	4 (12,9)	3 (9,7)	7 (22,5)	4 (12,9)	4 (12,9)	>0,05
G-2	72 (34,6)	419 (19,7)	35 (16,8)	20 (9,6)	27 (13,0)	13 (6,3)	
G-3	18 (33,3)	8 (14,8)	11 (20,4)	7 (13)	3 (5,6)	7 (13,0)	

Гистологические варианты РМЖ							
Дольковый	10 (31,2)	9 (28,1)	7 (21,9)	1 (3,1)	2 (6,3)	3 (9,4)	0,08
Протоковый	33 (25,9)	27 (21,2)	21 (16,5)	19 (15,0)	17 (13,4)	10 (8,0)	
Рак Педжета	10 (31,3)	3 (9,4)	7 (21,9)	4 (12,5)	7 (21,9)	1 (3,1)	
Слизистый	4 (50,0)	2 (25,0)	1 (12,5)	–	–	1 (12,5)	
Смешанный	42 (44,7)	17 (18,0)	18 (19,1)	4 (4,3)	5 (5,4)	8 (8,5)	
Возраст, годы M±m	56,5±1,0	57,7±1,5	59,2±1,4	60,1±1,8	55,7±2,0	53,1±2,2	>0,05

Всего гормонотерапию получили 76 (25,9%) больных. Химиотерапия проведена 91 (31,0%), из них у 36 — по схеме CMF и у 55 — антрациклинами. Лучевое лечение получили 166 (56,6%) (таблица 5).

**Таблица 5** - Характеристика вида и объема лечения, проведенного больным РМЖ T1-2N0M0 стадий

Вид проводимой терапии	Больные РМЖ	
	абс. число	%
Только хирургическое лечение	46	15,7
Хирургическое лечение + лучевая терапия	90	30,7
Хирургическое лечение + гормонотерапия	43	14,7
Хирургическое лечение + лучевая терапия + гормонотерапия	23	7,8
Хирургическое лечение + лучевая терапия + химиотерапия антрациклинами	36	12,3
Хирургическое лечение + лучевая терапия + химиотерапия по схеме CMF	17	5,8
Хирургическое лечение + химиотерапия по схеме CMF	19	6,5
Хирургическое лечение + химиотерапия антрациклинами	19	6,5

**Показатели IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и здоровых женщин**

Содержание IGF-I в сыворотке крови общей группы больных РМЖ T1-2N0M0 стадий было достоверно ниже ( $154 \pm 60,2$  нг/мл), чем в контроле ( $199 \pm 65,4$  нг/мл;  $p=0,00013$ ) (таблица 6).

**Таблица 6** - Содержание IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в группе контроля

Группы	Уровни IGF-I в сыворотке крови, нг/мл			P
	M±σ	Пределы	95ДИ	
Контроль <sup>1</sup>	199±65,4	55,4-281	82,7-275	1vs2 p=0,00013
Больные РМЖ <sup>2</sup>	154±60,2	34-298		

В таблице 7 представлены данные о содержании маркера IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ до лечения в группах пациенток с различной степенью злокачественности опухоли. Показатели IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий не

коррелировали со степенью злокачественности опухоли.

**Таблица 7** - Содержание IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от степени злокачественности опухоли

Уровень IGF-I, нг/мл	Степень злокачественности опухоли		
	G-1 N=31	G-2 N=208	G-3 N=54
M±σ	148±41,2	156±60,0	151±70,9

*Примечание:* p>0,05.

В таблице 8 представлены результаты исследования содержания IGF-I в группах больных РМЖ с учетом гистологического строения опухоли. При раке Педжета показатели IGF-I в сыворотке крови были наиболее низкими, тогда как при слизистом РМЖ, напротив, уровни маркера были ближе к группе контроля.

**Таблица 8** - Содержание IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от гистологического варианта строения опухоли

Уровень IGF-I, нг/мл	Гистологический вариант строения РМЖ				
	дольковый N=32	протоковый N=127	Педжета N=32	слизистый N=8	смешанный N=94
M±σ	168±76,2	153±59,2	144±70,7	184±61,8	149±64,1

*Примечание:* p>0,05.

Обнаружено достоверно низкое содержание IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с РЭ- опухолями по сравнению с таковым у пациенток с РЭ+ опухолями (таблица 9). Аналогичная закономерность выявлена нами и при изучении РП статуса опухоли.

**Таблица 9** - Содержание IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от статуса РЭ и РП в опухоли

Уровень IGF-I, нг/мл	Рецепторный статус опухоли			
	РЭ <sup>+1</sup> N=239	РЭ <sup>-2</sup> N=54	РП <sup>+3</sup> N=184	РП <sup>-4</sup> N=109
M±σ	165±61,2	104±52,1	171±58,3	125±63,7

*Примечание:* p=1vs2<0,0001; p3vs4<0,0001.

Выявлены достоверно меньшие значения IGF-I в группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с выявленной экспрессией в опухоли белка Her2-neu (таблица 10).

**Таблица 10** - Содержание IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от статуса Her2-neu в ткани опухоли

Уровень IGF-I, нг/мл	Экспрессия белка Her2-neu	
	Her2-neu <sup>-1</sup> N=242	Her2-neu <sup>+2</sup> N=51
M±σ	160±64,0	124±55,8

*Примечание:* p<sub>1vs2</sub>=0,0002.

Значимо более высокие уровни IGF-I ( $p < 0,001$ ) выявлены в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с «люминальным А» подтипом опухоли, по сравнению с показателями при других биологических подтипах опухолей. Уровни IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с «люминальным А» подтипом опухоли не отличались от таковых в контроле ( $180 \pm 56,2$  против  $199 \pm 65,4$  нг/мл, соответственно;  $p = 0,1$ ), но были достоверно ниже, чем в группах пациенток с прогностически неблагоприятными вариантами РМЖ («тройной негативный») ( $114 \pm 59,7$  нг/мл) и HER2+ тип ( $90,9 \pm 37,0$  нг/мл) ( $p < 0,0001$ ) (таблица 11).

**Таблица 11** - Содержание IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от биологического подтипа опухоли

Уровень IGF-I, нг/мл	Биологический подтип РМЖ					
	Luminal A <sup>1</sup> (ЭР+, ПР+, Her2-, Ki67<20%) N=97	Luminal B Her2- <sup>2</sup> (ЭР+, ПР+, Her2-, Ki67≥20%) N=59	ЭР+, РП-, Her2- <sup>3</sup> (Ki67 <20%) N=55	Luminal B Her2+ <sup>4</sup> (ЭР+, ПР+, Her2+, Ki67 любой) N=28	Triple negative <sup>5</sup> (ЭР-, ПР-, Her2-, Ki67 любой) N=31	HER2+ type <sup>6</sup> (ЭР-, ПР-, Her2+, Ki67 любой) N=23
M±σ	180±56,2	164±61,0	146±67,3	151±54,4	114±59,7	90,9±37,0

*Примечание:* p1vs2,3,4,5,6<0,001; p2,3,4vs5,6<0,05.

Подводя итоги исследования содержания IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий следует отметить следующие особенности:

- показатель IGF-I в сыворотке крови достоверно снижен у больных РМЖ по сравнению с группой контроля (здоровые женщины), однако не обладает приемлемыми диагностическими характеристиками в выявлении опухоли;
- маркер IGF-I не отражал стадию опухолевого процесса и гистологическое строение РМЖ у пациенток с T1-2N0M0 стадиями;
- содержание IGF-I было высоко достоверно ниже в сыворотке крови у пациенток с РЭ-статусом опухоли;
- сывороточный уровень маркера IGF-I был достоверно выше у больных с «люминальным А» биологическим подтипом РМЖ.

#### **Показатель IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в контроле**

Содержание IGF-II в сыворотке крови общей группы больных РМЖ T1-2N0M0 стадий было достоверно выше, чем в контроле (средние показатели маркера составили  $2,3 \pm 0,6$  и  $1,5 \pm 0,3$  мкг/мл, соответственно) (таблица 12).

**Таблица 12** - Содержание IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в группе контроля

Группы	Уровни IGF-II в сыворотке крови, мкг/мл			P
	M±σ	пределы	95ДИ	
Контроль <sup>1</sup>	1,5±0,3	0,7-2,6	1,0-2,0	1 vs2 p<0,0001
Больные РМЖ <sup>2</sup>	2,3±0,6	1,4-4,0	1,4-3,5	

Таким образом, значения IGF-II могут быть использованы в качестве серологического маркера в диагностике злокачественных опухолей молочной железы.

### **Связь содержания сывороточного IGF-II с основными клиническими факторами у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий**

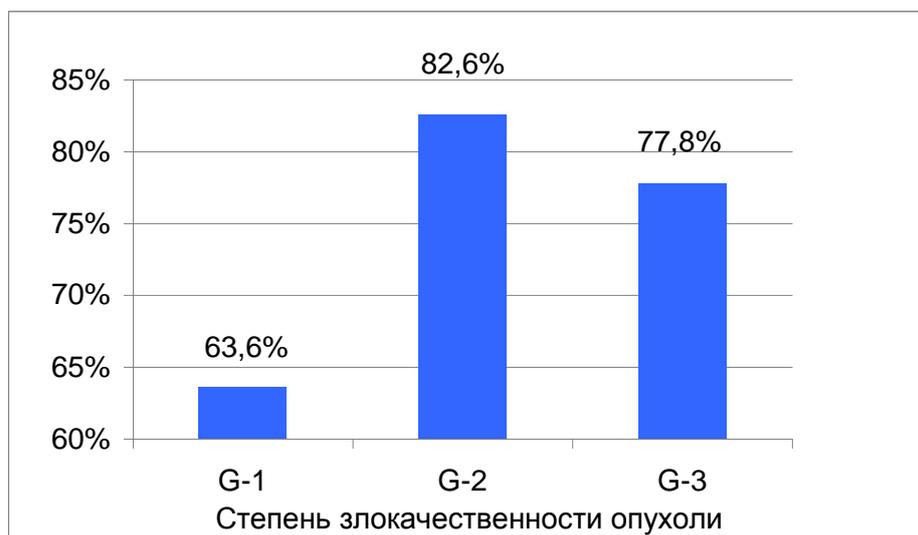
Не установлено корреляционной зависимости между возрастом пациенток РМЖ T1-2N0M0 стадий и содержанием IGF-II в сыворотке крови. В таблице 13 представлены данные о содержании сывороточного IGF-II в разных возрастных группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий. Наибольшее содержание маркера выявлено в группе пациенток в возрасте до 40 лет, а наименьшее – у больных РМЖ в возрасте старше 50 лет.

**Таблица 13** - Содержание IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от их возраста

Уровень IGF-II, мкг/мл	Возраст больных РМЖ, лет				
	до 40	40-49	50-59	60-69	70 и более
	N=10	N=73	N=73	N=86	N=37
M±σ	2,5±0,7	2,4±0,6	2,4±0,7	2,2±0,5	2,3±0,7

Примечание: p>0,05.

Частота превышения порогового значения IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ при G-1 составила 63,6%, тогда как в группе пациенток с G-2 и G-3 опухоли равнялась 82,6% и 77,8%, соответственно (рисунок 4).



**Рисунок 4** – Содержание IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ с различной степенью злокачественности

Уровни IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ не различались у больных T1N0M0 и T2N0M0 стадий опухолевого процесса (таблица 14).

**Таблица 14** - Содержание IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ в зависимости от стадии опухолевого процесса

Уровень IGF-II, мкг/мл	Стадия РМЖ	
	T1N0M0 N=87	T2N0M0 N=192
M±σ	2,3±0,6	2,3±0,6

*Примечание:* p>0,05.

Содержание маркера IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий до начала лечения с различной степенью злокачественности опухоли представлены в таблице 15.

**Таблица 15** - Содержание IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от степени злокачественности опухоли

Уровень IGF-II, мкг/мл	Степень злокачественности РМЖ		
	G-1 <sup>1</sup> N=31	G-2 <sup>2</sup> N=194	G-3 <sup>3</sup> N=54
M±σ	2,1±0,5	2,4±0,6	2,3±0,6

*Примечание:* p1vs2=0,03.

Обнаружены достоверно более высокие значения IGF-II в сыворотке крови у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с неблагоприятным статусом опухоли по Her2-neu+ (таблица 16).

**Таблица 16** - Содержание IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от статуса Her-2neu в ткани опухоли

Уровень IGF-II, мкг/мл	Экспрессия белка Her2-neu	
	Her2-neu <sup>-1</sup> N=231	Her2-neu <sup>+2</sup> N=48
M±σ	2,1±0,5	2,6±0,7

**Примечание:** p1vs2=0,003.

Наиболее низкие значения IGF-II обнаружены в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с биологическим подтипом опухоли «люминальный А» (таблица 17).

**Таблица 17** - Содержание IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от биологического подтипа опухоли

Уровень IGF-II, мкг/мл	Биологический подтип РМЖ					
	Luminal A <sup>1</sup> (ЭР+, ПР+, Her2-, Ki67<20%) N=91	Luminal B Her2 <sup>-2</sup> (ЭР+, ПР+, Her2-, Ki67≥ 20%) N=56	ЭР+, ПР-, Her2 <sup>-3</sup> (Ki67 <20%) N=53	Luminal B Her2 <sup>+4</sup> (ЭР+, ПР+, Her2+, Ki67 любой) N=27	Triple negative <sup>5</sup> (ЭР-, ПР-, Her2-, Ki67 любой) N=31	HER2 <sup>+</sup> type <sup>6</sup> (ЭР-, ПР-, Her2+, Ki67 любой) N=21
M±σ	2,2±0,6	2,4±0,6	2,2±0,6	2,7±0,7	2,5±0,4	2,4±0,6

**Примечание:** p1,2,3-4<0,001.

Частота превышения порогового значения IGF-II в группе контроля была наибольшей при прогностически неблагоприятном подтипе РМЖ - «тройной негативный» и минимальной при подтипе «люминальный А» и подтипе «ЭР+, ПР-, Her2-, Ki67 <20%».

Подводя итоги исследования содержания IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий необходимо отметить следующие особенности:

- показатель маркера IGF-II достоверно повышался у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий по сравнению с группой контроля - здоровыми женщинами, показал хорошие диагностические возможности. Чувствительность маркера по порогу 2,0 мкг/мл составила 76,7% при его специфичности - в 94,1%;
- чувствительность сывороточного маркера IGF-II была наибольшей у больных РМЖ в возрасте до 50 лет (90%-86%), и заметно снижалась у больных старше 50 лет (<75%);
- уровни сывороточного маркера IGF-II не отражали стадию опухолевого процесса и гистологическое строение опухоли у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий;
- чувствительность порогового уровня маркера IGF-II >2,0 мкг/мл была недостаточной у больных РМЖ с 1 степенью (G-1) злокачественности опухоли (<75%), но была достоверно выше при 2 степени (G-2) злокачественности опухоли (82,6%);

- чувствительность порогового уровня маркера IGF-II была недостаточной в группе больных РМЖ с РЭ+ опухолями (<75%) и высокой с РЭ- опухолями (92,2%);
- уровни IGF-II достоверно выше в сыворотке крови пациенток с Her2-neu+ статусом опухоли (85,4%);
- уровень маркера был минимален у больных с биологическим подтипом РМЖ «люминальный А» (<75%); в группе пациенток с подтипом опухоли «тройной негативный рак» все значения сывороточного уровня маркера IGF-II превышали его содержание в контрольной группе (100%) и были высокими при вариантах «люминальный В, Her2-neu+» (88,9%), «Her2-neu+» (81%).

Таким образом, сывороточный маркер IGF-II обладал приемлемыми диагностическими характеристиками, а также отражал основные клинические характеристики у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий. Чувствительность маркера в распознавании РМЖ T1-2N0M0 стадий существенно повышалась при неблагоприятных клинических факторах и биологических характеристиках опухоли. У больных РМЖ T1-T2N0M0 стадий с прогностически благоприятными факторами, чувствительность сывороточного IGF-II-составляла 64%-75%. Поэтому, маркер не может применяться в качестве самостоятельного диагностического теста при подозрении на РМЖ, однако возможно его использование совместно с другими биохимическими маркерами, а высокие его уровни указывают на связь с прогностически неблагоприятным вариантом клинического течения болезни.

#### **Показатель IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в контроле**

Показатель IGFBP-1 определили в сыворотке крови 288 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий до начала лечения. Содержание IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий было достоверно выше, чем в контроле. (таблица 18).

**Таблица 18** - Содержание IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в контроле

Группы	Содержание IGFBP-1 в сыворотке крови, нг/мл			P
	M±σ	пределы колебания	95ДИ	
Контроль <sup>1</sup>	13,7±17,1	0-82,3	0-48	1 vs2 p<0,0001
Общая группа больных РМЖ <sup>2</sup>	49,4±32,7	0-99	0-90	

#### **Связь содержания сывороточного IGFBP-1 с основными клиническими характеристиками РМЖ**

Корреляционной зависимости между показателями возраста больных РМЖ T1-2N0M0

стадий и содержанием IGFBP-1 в сыворотке крови не было установлено.

В таблице 19 представлены данные о содержании IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ в зависимости от стадии. У больных РМЖ с T2N0M0 стадии уровень сывороточного IGFBP-1 превышал показатель IGFBP-1 у больных с T1N0M0 стадией ( $50,3 \pm 32,7$  нг/мл и  $47,5 \pm 32,8$  нг/мл, соответственно).

**Таблица 19** – Содержание IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ в зависимости от стадии опухолевого процесса

Уровень IGFBP-1, нг/мл	Стадия РМЖ	
	T1N0M0 N=90	T2N0M0 N=198
M±σ	47,5±32,8	50,3±32,7

*Примечание:*  $p > 0,05$ .

Показано, что при раке Педжета и протоковом инфильтративном РМЖ содержание маркера IGFBP-1 было достоверно более высоким, по сравнению с другими гистологическими вариантами РМЖ (таблица 20).

**Таблица 20** - Содержание IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от гистологического строения опухоли

Уровень IGFBP-1, нг/мл	Гистологический вариант строения РМЖ				
	дольковый <sup>1</sup> N=32	протоковый <sup>2</sup> N=127	Педжета <sup>3</sup> N=32	слизистый <sup>4</sup> N=6	смешанный <sup>5</sup> N=91
M±σ	39,7±28,0	60,0±32,4	67,9±28,1	21,2±30,6	34,8±27,0

*Примечание:*  $p_{1vs2,3} < 0,001$ ;  $p_{2vs4,5,6} < 0,01$ ;  $p_{3vs4,5,6} < 0,001$ .

Не выявлено различий содержания IGFBP-1 при изучении рецепторного статуса опухоли. Обнаружены достоверно меньшие значения IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий при отсутствии экспрессии белка Her2-neu в опухоли (таблица 21).

**Таблица 21** - Содержание IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от статуса Her-2neu в ткани опухоли

Уровень IGFBP-1, нг/мл	Экспрессия белка Her2-neu	
	Her2-neu <sup>-1</sup> N=237	Her2-neu <sup>+2</sup> N=51
M±σ	47,5±33,3	58,5±28,2

*Примечание:*  $p_{1vs2} = 0,028$ .

Наиболее низкие значения IGFBP-1 выявлены в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с «люминальным А» и ЭР+ ПР-Her2Ki67 <20% подтипом опухоли (таблица 22).

**Таблица 22** - Содержание IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ Т1-2N0M0 стадий в зависимости от биологического подтипа опухоли

Уровень IGFBP-1, нг/мл	Биологический подтип РМЖ					
	Luminal A <sup>1</sup> (ЭР+, ПР+, Her2-, Ki67 <20%) N=94	Luminal B Her2- <sup>2</sup> (ЭР+, ПР+, Her2-, Ki67 ≥20%) N=58	ЭР+, ПР-, Her2- <sup>3</sup> (Ki67 <20%) N=54	Luminal B Her2+ <sup>4</sup> (ЭР+, ПР+, Her2+, Ki67 любой) N=28	Triple negative <sup>5</sup> (ЭР-, ПР-, Her2-, Ki67 любой) N=31	HER2+ type <sup>6</sup> (ЭР-, ПР-, Her2+, Ki67 любой) N=23
M±σ	44,0±33,7	52,5±33,1	44,6±31,5	63,7±25,9	53,5±36,2	52,3±30,1

*Примечание:* p1vs4=0,005; p3vs4=0,01.

Подводя итоги раздела по исследованию содержанию IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ Т1-2N0M0 стадий нами выявлены следующие закономерности:

- показатель IGFBP-1 достоверно выше в сыворотке крови больных РМЖ Т1-2N0M0 стадий по сравнению с здоровыми женщинами группы контроля. Предложено 2 диагностических пороговых значения маркера, 20,0 нг/мл (чувствительность - 76,4%, специфичность - 76,5%) и 48,0 нг/мл (чувствительность - 55,6%, специфичность - 94,1%);
- маркер IGFBP-1 не коррелировал со стадией РМЖ;
- маркер IGFBP-1 был достоверно выше только у больных раком Педжета;
- маркер IGFBP-1 не коррелировал с рецепторным (РЭ и РП) статусом опухоли;
- уровни IGFBP-1 были достоверно ниже в сыворотке крови больных РМЖ с отсутствием экспрессии рецепторного белка Her2-neu в первичной опухоли;
- маркер IGFBP-1 был наименьшим у больных с «люминальным А» биологическим подтипом РМЖ;
- чувствительность порогового значения IGFBP-1 не достигала приемлемого уровня в 75,0% у больных РМЖ при Т1N0M0 стадии, у пациенток в возрасте старше 70 лет, при слизистом, дольковом и смешанном вариантах строения опухоли, при «люминальный А» подтипе опухоли.

### **Показатель IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ Т1-2N0M0 стадий и в контроле**

Показатель IGFBP-3 определяли в сыворотке крови 291 больной РМЖ Т1-2N0M0 стадий до начала лечения. Уровень маркера IGFBP-3 был достоверно выше у больных РМЖ (6,3±1,8 мкг/мл) по сравнению с контрольной группой (4,3±1,5 мкг/мл) (таблица 23).

**Таблица 23** - Содержание IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в группе контроля

Группы	Уровень IGFBP-3 в сыворотке крови, мкг/мл			P
	M±σ	пределы колебания	95%ДИ	
Контроль <sup>1</sup>	4,3±1,5	2,0-7,3	2,3-6,9	1vs2 p<0,0001
Больные РМЖ <sup>2</sup>	6,3±1,8	3,0-9,9		

**Связь содержания сывороточного IGFBP-3 с основными клиническими факторами РМЖ T1-2N0M0 стадий**

Нами не установлено корреляционной зависимости между возрастом больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и содержанием IGFBP-3 в сыворотке крови (таблица 24).

**Таблица 24** - Содержание IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от их возраста

Уровень IGFBP-3, мкг/мл	Возраст больных РМЖ, лет				
	до 40 N=10	40-49 N=78	50-59 N=75	60-69 N=91	70 и более N=37
M±σ	5,6±1,6	6,2±1,8	6,2±1,8	6,6±1,7	6,0±1,8

*Примечание:* p>0,05.

Содержание IGFBP-3 в сыворотке крови не различалось у больных с разными стадиями РМЖ (таблица 25).

**Таблица 25** - Содержание IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ в зависимости от стадии опухолевого процесса

Уровень IGFBP-3, мкг/мл	Стадия РМЖ	
	T1N0M0 N=91	T2N0M0 N=200
M±σ	6,2±1,8	6,3±1,8

*Примечание:* p>0,05.

В таблице 26 представлены данные по содержанию IGFBP-3 в сыворотке крови общей группы больных РМЖ до лечения в зависимости от степени злокачественности опухоли. Значения IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий были достоверно выше при G-3 опухолях по сравнению с G-1 опухолями.

**Таблица 26** - Содержание IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от степени злокачественности опухоли

Уровень IGFBP-3, мкг/мл	Степень злокачественности РМЖ		
	G-1 <sup>1</sup> N=31	G-2 <sup>2</sup> N=206	G-3 <sup>3</sup> N=54
M±σ	5,8±1,7	6,3±1,7	6,8±2,0

*Примечание:* p1vs3=0,03.

Уровни маркера IGFBP-3 в группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий не коррелировали с гистологическим вариантом строения опухоли и её рецепторным статусом. Не обнаружено достоверных различий в содержании сывороточного IGFBP 3 у больных РМЖ с РЭ+ и РЭ-опухольями. В то же время, частота выявления повышенных пороговых уровней сывороточного IGFBP-3 относительно контроля была достоверно выше ( $p=0,001$ ) у больных РМЖ с РЭ-опухольями и с РП-опухольями (60,4%, 52,8% и 37,1%, соответственно).

Сывороточные уровни IGFBP-3 не были связаны с экспрессией Her2-neu в первичной опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий. Следует отметить незначимое увеличение частоты повышенных значений маркера в группе пациенток с выявленной экспрессией Her2-neu в опухоли (48% против 40% без такового).

Наиболее низкие значения IGFBP-3 обнаружены в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с «люминальным А» подтипом опухоли ( $6,1\pm 1,8$  мкг/мл), наибольшие – при «тройном негативном» РМЖ ( $6,8\pm 1,6$  мкг/мл).

Частота превышения порогового уровня сывороточного IGFBP-3, равного 6,9 мкг/мл, была наиболее высокой у больных РМЖ при «тройном негативном» (64,5%) и «Her2-neu+» (54,6%) РМЖ ( $p<0,05$ ). Тогда как при подтипах РМЖ «люминальный А» и «люминальный В Her2-neu-» частота превышения данного маркера была равна 35,4% и 29,3%, соответственно.

Подводя итоги исследования исходного уровня IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий нами выявлены следующие закономерности:

- показатель IGFBP-3 достоверно повышен у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий по сравнению с контролем. Предложено диагностическое пороговое значения маркера: 6,9 мкг/мл (чувствительность - 41,2%, специфичность - 97,1%);
- уровень маркера IGFBP-3 не коррелировал со стадией РМЖ, с гистологическим вариантом опухоли, с рецепторным статусом (РЭ, РП, Her2-neu) опухоли и биологическим подтипом новообразования;
- чувствительность порогового значения IGFBP-3 не достигала приемлемого уровня (75%) у больных РМЖ с T1N0M0 стадией в возрасте старше 70 лет, при слизистом, дольковом и смешанном вариантах гистологического строения опухоли, при подтипе «люминальный А» рак.
- Таким образом, сывороточный маркер IGFBP-3, исследованный у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий хоть и отражает определенные клинико-морфологические и биологические характеристики опухоли, но не может быть использован в диагностике этого заболевания.

#### **Взаимосвязь маркеров IGF-I, IGF-II, IGFBP-1 и IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в контроле**

В группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий не установлено значимых корреляционных зависимостей между всеми параметрами маркеров IGF-I, IGF-II, IGFBP-1 и IGFBP-3 в

сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в контроле. В группе контроля выявлены слабые корреляционные зависимости между содержанием IGF-I и IGFBP-3 ( $r=0,5$ ;  $p=0,002$ ), а также между IGF-II и IGFBP-1 ( $r=0,37$ ;  $p=0,037$ ).

С помощью дискриминантного анализа показано, что диагностический тест с использованием 4-х маркеров IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-3 можно использовать в дополнение к существующим клинико-лабораторным методам выявления РМЖ, и по уровням маркеров еще до начала лечения возможно определить наличие неблагоприятных клинических и биологических факторов РМЖ T1-2N0M0 стадий. Таким образом, для дополнительной диагностики РМЖ T1-2N0M0 стадий можно использовать сочетание следующих сывороточных маркеров: IGF-II по пороговому уровню 2,0 мкг/мл и IGFBP-1 - по пороговому уровню 48,0 нг/мл, а также сочетание IGF-II (пороговый уровень 2,0 мкг/мл) и IGFBP-3 (пороговый уровень 6,9 мкг/мл).

В таблице 27 представлены показатели специфичности и чувствительности каждого маркера в отдельности, решающего правила по исследованным нами 4-м маркерам системы-IGF и их сочетаний. Наилучшими диагностическими характеристиками в распознавании у женщин РМЖ T1-2N0M0 стадий обладал сывороточный маркер IGF-II (общая точность 86,4%). При добавлении к нему других маркеров системы-IGF (IGFBP-1 и IGFBP-3) или 3-х других маркеров этой системы диагностические их характеристики существенно улучшались. Дополнительно оценили диагностическую чувствительность теста IGF-II/IGFBP-1 в наиболее трудных для распознавания группах больных со слизистым вариантом РМЖ и биологическим подтипом «люминальный А» рак, которая составила 75% и 72%, соответственно.

**Таблица 27** - Диагностические характеристики сывороточных маркеров системы-IGF при распознавании РМЖ T1-2N0M0 стадий

Тест	Чувствительность, %	Специфичность, %	Общая точность, %
IGF-I <83 нг/мл	18,1	94,1	26,0
IGF-II <2,0 мкг/мл	76,7	94,1	78,6
IGFBP-1 >48,0 нг/мл	55,9	94,1	59,9
IGFBP-3 >6,9 мкг/мл	41,2	97,1	47,1
Решающее правило по 4-м маркерам	84,7	88,2	85,1
IGF-II <2,0 мкг/мл & IGFBP-1 <48,0 нг/мл	86,2	88,2	86,4
IGF-II <2,0 мкг/мл & IGFBP-3 >6,9 мкг/мл	82,7	96,9	83,7

Таким образом, наилучшие результаты в распознавании у женщин РМЖ T1-2N0M0 стадий показали сывороточные маркеры IGF-II <2,0 мкг/мл и IGFBP-1 <48,0 нг/мл.

### Показатель MMP-2 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в контроле

Исходные уровни MMP-2 измерены в сыворотке крови 293 больных РМЖ. Значения MMP-2 колебались в пределах от 140 до 395 нг/мл и в среднем составили  $245 \pm 4,0$  нг/мл. В сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий исходные концентрации MMP-2 значимо не отличались от уровня маркера у здоровых женщин (группа контроля). В сыворотке крови больных РМЖ с T2N0M0 стадией показатели маркера были значимо выше, чем у больных РМЖ с T1N0M0 стадией ( $258 \pm 5,1$  нг/мл против  $216 \pm 5,3$  нг/мл), (таблица 28).

**Таблица 28** - Сравнительный анализ содержания MMP-2 в сыворотке крови больных РМЖ T1N0M0, T2N0M0 стадий и группе контроля

Группы	N	Содержание MMP-2 в сыворотке крови, нг/мл		
		пределы	медиана, квартили	M±m
Контроль <sup>0</sup>	35	161-375	221 (172-265)	$224 \pm 7,6$
Общая группа больных РМЖ <sup>1</sup>	293	140-395	236 (188-289)	$245 \pm 4,0$
Стадия T1N0M0 <sup>2</sup>	93	140-300	195 (176-267)	$216 \pm 5,3$
T2N0M0 <sup>3</sup>	200	140-395	248 (200-300)	$258 \pm 5,1$

**Примечание:**  $p_{2vs3}=0,0001$ ;  $p_{0vs1}>0,05$ .

При изучении содержания MMP-2 в сыворотке крови больных с различным гистологическим типом опухоли наибольшее содержание MMP-2 выявлено в сыворотке крови больных с протоковым инфильтративным РМЖ ( $258,0 \pm 6,2$  нг/мл) и значимо меньшее при смешанном варианте строения опухоли ( $227,0 \pm 6,6$  нг/мл). Наиболее часто высокие показатели MMP-2 выявляли при протоковом инфильтративном раке (22,8%) и у больных раком Педжета (21,9%), (таблица 29).

**Таблица 29** - Содержание MMP-2 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от гистологического строения опухоли

Вариант РМЖ	N	Содержание MMP-2 в сыворотке крови, нг/мл		
		медиана, квартили	M±m	>300
Дольковый	32	243 (188-290)	$247 \pm 13,3$	15,6%
Протоковый	127	256 (195-298)	$258 \pm 6,2^*$	22,8%
Педжета	32	248 (186-294)	$250 \pm 12,3$	21,9%
Слизистый	8	210 (170-275)	$224 \pm 21,2$	12,5%
Смешанный	94	210 (178-275)	$227 \pm 6,6^{**}$	12,9%
P			<b>0,02</b>	0,4

**Примечание:**  $*_{vs}**_p=0,02$ .

При изучении исходного содержания MMP-2 в сыворотке крови больных с разным рецепторным статусом опухоли показано, что в сыворотке крови больных с

рецепторотрицательным статусом первичной опухоли уровень ММР-2 был статистически значимо выше, чем в сыворотке крови больных с РЭ+ и РП+ опухолями (таблица 30).

**Таблица 30** - Содержание ММР-2 в сыворотке крови больных РМЖ Т1-2N0M0 стадий в зависимости от рецепторного статуса опухоли

РЭ и РП статус	N	Содержание ММР-2 в сыворотке крови, нг/мл		
		медиана, квартили	M±m	>300
РЭ+	239	234 (180-278)	239±4,4	14,7%
РЭ-	54	277 (210-320)	274±9,4	35,2%
P			<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>
РП+	184	231 (179-278)	237±6,1	14,2%
РП-	109	267 (199-300)	259±6,6	25,7%
P			<b>&lt;0,01</b>	<b>&lt;0,01</b>

При анализе исходных уровней ММР-2 в сыворотке крови больных при различных биологических подтипах опухоли выявлено наименьшее содержание маркера при благоприятном «люминальный А» подтипе РМЖ (214±5,4 нг/мл, p<0,0001) по сравнению с другими биологическими подтипами опухолей (таблица 31).

**Таблица 31** - Содержание ММР-2 в сыворотке крови больных РМЖ Т1-2N0M0 стадий в зависимости от подтипа опухоли

Биологические подтипы РМЖ <sup>^</sup>	N	Содержание ММР-2 в сыворотке крови, нг/мл		
		медиана, квартили	M±m	>300
Люминальный А <sup>1</sup> (ЭР+, ПР+, Her2-, Ki67<20%)	98	200 (172-246)	214±5,4	5,2%
Люминальный В Her2-neu <sup>-2</sup> (ЭР+, ПР+, Her2-, Ki67≥20%)	58	253 (195-328)	260±10,3	27,6%
ЭР+, ПР-, Her2 <sup>-3</sup> Ki67<20%	55	239 (190-289)	244±8,8	16,4%
Люминальный В Her2-neu <sup>+4</sup> (ЭР+, ПР+, Her2+, Ki67 любой)	28	267 (243-292)	266±12,4	17,9%
Тройной негативный <sup>5</sup> (ЭР-, ПР-, Her2-, Ki67 любой)	31	278 (210-335)	276±12,1	35,5%
Her2-neu <sup>+6</sup> ЭР-, ПР-, Her2+, Ki67 любой	23	276 (210-320)	273±15,1	34,8%
P			1vs2,3,4,5,6 <b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,001</b>

#### Содержание ММР-2 в ткани опухоли больных РМЖ Т1N0M0 и Т2N0M0 стадий

Уровни ММР-2 оценивались в ткани опухоли 293 больных. Значения маркера колебались от 4,0 нг/мг до 112 нг/мг белка и в среднем составили 54,3±2,1 нг/мг белка. В неизменной

ткани молочной железы содержание MMP-2 было значимо ниже и составило  $47,8 \pm 1,4$  нг/мг белка (таблица 32). Уровни маркера в опухоли были выше у больных с T2N0M0 стадией по сравнению с T1N0M0 стадией ( $60,7 \pm 2,6$  против  $40,5 \pm 2,8$  нг/мг белка,  $p=0,0001$ ).

**Таблица 32** - Содержание MMP-2 в ткани опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в неизменной ткани молочной железы

Группы	N	Содержание MMP-2 в ткани, нг/мг белка		
		пределы	медиана, квартили	M±m
Неизменная ткань <sup>0</sup>	25	2-78	47,8 (24-69)	47,8±1,4
Больные РМЖ <sup>1</sup>	293	4-112	57 (21-88)	54,3±2,1
Стадия				
T1N0M0 <sup>2</sup>	93	140-300	46 (16-67)	40,5±2,8
T2N0M0 <sup>3</sup>	200	140-395	73 (24-97)	60,7±2,6

*Примечание:*  $p_{2vs3}=0,0001$ ;  $p_{0vs1}<0,0001$ ;  $p_{0vs3}<0,0001$ .

Наименьшее содержание MMP-2 было обнаружено в опухоли больных при смешанном гистологическом варианте РМЖ ( $42,7 \pm 3,6$  нг/мг белка), тогда как при протоковом варианте РМЖ уровень MMP-2 был достоверно выше ( $61,6 \pm 3,1$  нг/мг)  $p<0,005$  (таблица 33).

**Таблица 33** - Содержание MMP-2 в ткани опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от гистологического строения опухоли

Гистологические варианты РМЖ	N	Содержание MMP-2 в ткани опухоли, нг/мг белка		
		Медиана, квартили	M±m	>77
Дольковый <sup>1</sup>	32	58 (20,5-78,5)	54,7±6,2	37,5%
Протоковый <sup>2</sup>	127	69 (23-94)	61,6±3,1	39,4%
Рак Педжета <sup>3</sup>	32	67 (26,5-89)	57,8±6,1	34,4%
Слизистый <sup>4</sup>	8	79 (21,5-94,5)	62,6±13,5	50,0%
Смешанный <sup>5</sup>	94	26 (15-74)	42,7±3,6	22,6%
P		2vs5 $p<0,005$		0,09

Частота превышения значений MMP-2 в ткани опухоли по сравнению с неизменной тканью молочной железы при подтипе РМЖ «люминальный А» составила 17,5%, и была многократно большей при неблагоприятных подтипах: «тройном негативном» РМЖ (54,9%) и «Her2-поз+» (60,9%) (таблица 34).

**Таблица 34** - Содержание MMP-2 в ткани опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от биологического подтипа опухоли

Биологические подтипы РМЖ	N	Содержание MMP-2 в ткани опухоли, нг/мг белка		
		медиана, квартили	M±m	>300
Люминальный A <sup>1</sup> (ЭР+, ПР+, Her2-, Ki67<20%)	98	25,0 (14-67)	36,6±3,2	17,5%
Люминальный B Her2-neu <sup>-2</sup> (ЭР+, ПР+, Her2-, Ki67≥20%)	58	71,5 (23-95)	62,5±4,5	43,1%
ЭР+, ПР-, Her2 <sup>-3</sup> Ki67<20%	55	56,0 (22-77)	50,7±4,4	23,6%
Люминальный B Her2-neu <sup>+4</sup> (ЭР+, ПР+, Her2+, Ki67 любой)	28	71,5 (51-97)	68,7±6,1	42,9%
Тройной негативный <sup>5</sup> (ЭР-, ПР-, Her2-, Ki67 любой)	31	79,0 (31-105)	72,5±6,5	54,8%
Her2-neu <sup>+6</sup> ЭР-, ПР-, Her2+, Ki67 любой	23	87,0 (65-99)	76,7±6,6	60,9%
P		1vs2,3,4,5,6 p<0,0001		

Таким образом, изученный нами показатель MMP-2 в первичной опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий обладает прогностической значимостью.

### Содержание uPA в ткани опухоли больных РМЖ

Содержание uPA исследовали в ткани опухоли 248 больных. Уровень uPA в образцах тканей первичных опухолей молочной железы колебался в широких пределах от 0 до 8,9 нг/мг белка. Среднее содержание uPA в ткани опухоли составило  $1,6 \pm 0,1$  нг/мг белка (медиана - 1,0 нг/мг белка), а максимальное значение составило 8,9 нг/мг белка (таблица 35). Обнаружено повышение содержания uPA в ткани опухоли больных РМЖ с T2N0M0 стадией по сравнению с группой больных РМЖ с T1N0M0 стадией опухолевого процесса ( $1,8 \pm 0,1$  и  $1,2 \pm 0,2$  нг/мг белка соответственно).

Различия в показателях uPA в образцах ткани РМЖ между больными с T1N0M0 и T2N0M0 стадиями достоверны ( $p=0,035$ ); в образцах ткани РМЖ и образцах неизменной ткани молочной железы (группа контроля)  $p<0,001$ .

**Таблица 35** - Содержание uPA в ткани опухоли больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий и в группе контроля

Обследованные группы	Количество обследованных	Содержание uPA в ткани опухоли, нг/мг белка		
		M±m	медиана	пределы колебания
Больные РМЖ (общая группа)	248	1,6±0,1	1,0	0-8,9
Стадия T1N0M0	78	1,2±0,2	0,6	0-8,9
T2N0M0	170	1,8±0,1	1,2	0-8,6
Контроль	55	0,8±0,1	0,5	0-1,5

Группу из 248 больных РМЖ разделили на 2 подгруппы с учетом содержания uPA в ткани первичной опухоли относительно медианы этого маркера ( $\geq 1,0$  нг/мг белка и  $< 1,0$  нг/мг белка). Частота выявления значений uPA – 1,0 нг/мг белка в ткани опухоли молочной железы незначимо ( $p=0,15$ ) повышалась с 43,6% в группе больных РМЖ с T1N0M0 стадией до 53,5% - в группе больных РМЖ с T2N0M0 стадией.

При оценке корреляционной зависимости между возрастом больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и содержанием uPA в ткани опухоли не было выявлено различий как в общей группе пациенток, так и у больных РМЖ с T1N0M0 и T2N0M0 стадиями болезни.

Частота выявленных значений uPA – 1,0 нг/мг белка в опухоли больных РМЖ при T2N0M0 стадии в соответствующих возрастных группах пациенток составила: в группе больных в возрасте до 50 лет - 43,8% (21 из 48); в группе больных от 50 до 59 лет - 46,7% (21 из 45); в группе больных в возрасте от 60 лет и старше - 63,6% (49 из 77) ( $p=0,05$ ).

При изучении содержания uPA в опухоли больных РМЖ с учетом ее гистологического строения выявлено, что у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с дольковым инфильтративным вариантом строения опухоли содержание uPA в ткани первичного новообразования было значимо выше, чем у больных с другими морфологическими вариантами строения рака. Выявленная нами зависимость была характерна для больных как с T1N0M0, так и с T2N0M0 стадиями заболевания. (таблица 36).

**Таблица 36** - Содержание uPA в опухоли больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий с учетом ее гистологического строения

Гистологический вариант строения РМЖ	T1N0M0 стадия		T2N0M0 стадия		Всего	
	N	uPA, нг/мг белка M±m (медиана)	N	uPA, нг/мг белка M±m (медиана)	N	uPA, нг/мг белка M±m (медиана)
Дольковый рак <sup>1</sup>	8	2,3±0,5 (2,8)	19	2,5±0,5 (2,2)	27	2,3±0,4 (2,3)

Протоковый рак <sup>2</sup>	35	1,1±0,2 (0,2)	72	1,7±0,2 (1,0)	107	1,5±0,2 (0,8)
Педжета <sup>3</sup>	9	1,2±0,6 (0,3)	21	2,2±0,5 (1,0)	30	1,9±0,3 (0,9)
Слизистый рак <sup>4</sup>	1	0,3*	7	0,9±0,4 (0,5)	8	0,7±0,3 (0,3)
Смешанный рак <sup>5</sup>	23	1,2±0,3 (0,8)	53	1,7±0,3 (1,1)	76	1,5±0,2(0,9)

**Примечание:** общая группа: 1vs2 p=0,024; 1vs4 p=0,018; 1vs5 p=0,042; T2N0M0 стадия: 1vs2 p=0,08; 1vs4 p=0,057; 1vs5 p=0,08; \*абс. значение.

С увеличением степени злокачественности опухоли отмечено повышение содержания uPA в ткани новообразования. Значимо отличалась только группа больных с G-3 (2,4±0,3 нг/мг белка) независимо от стадии опухолевого процесса (p=0,0001) (таблица 37).

**Таблица 37** - Содержание uPA в ткани опухоли больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий с учетом степени ее злокачественности

Степень злокачественности РМЖ	T1N0M0 стадия		T2N0M0 стадия		Всего	
	N	uPA, нг/мг белка M±m (медиана)	N	uPA, нг/мг белка M±m (медиана)	N	uPA, нг/мг белка M±m (медиана)
G-1	9	1,9±0,4 (2,4)	19	1,1±0,5 (0,1)	28	1,4±0,3 (1,6)
G-2	53	1,2±0,3 (0,4)	118	1,8±0,5 (1,6)	171	1,6±0,2 (1,0)
G-3	16	2,3±0,5 (3,0)	33	2,2±0,4 (2,6)	49	2,3±0,3 (2,6)

**Примечание:** общая группа: 1vs3p=0,08 и 2vs3p=0,04; T1N0M0 стадия: 2vs3p=0,088; T2N0M0 стадия: 1vs3p=0,057.

Не обнаружено значимых различий в содержании uPA в опухоли в группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от рецепторного статуса новообразования, статуса белка Her2-neu, а также молекулярно-биологического подтипа опухоли.

Подводя итоги анализа содержания uPA в ткани опухоли больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий следует отметить, что содержание маркера uPA:

- значимо выше в ткани первичной опухоли по сравнению с неизменной тканью молочной железы;
- значимо выше в ткани опухоли больных РМЖ при T2N0M0 стадии заболевания по сравнению с T1N0M0 стадией;
- значимо повышено в ткани РМЖ с третьей степенью злокачественности (G3);
- значимо выше в дольковом инфильтративном РМЖ.

#### Содержание IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в контроле

Концентрация IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ колебалась в широких пределах: от 0 до 14 нг/мл, составив в среднем 1,95±0,14 нг/мл (медиана - 1,3 нг/мл).

При сопоставлении показателей IL-6 в сыворотке крови больных с показателями IL-6 в

группе контроля обнаружены статистически значимые различия (таблица 38). В контрольной группе (здоровые женщины) содержание IL-6 в сыворотке крови в среднем составило 1,01–0,12 нг/мл (медиана - 0,9 нг/мл), уровни цитокина колебались в пределах от 0,01 до 1,98 нг/мл. Выявлены статистически значимые различия ( $p=0,02$ ) между уровнями IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий ( $1,47\pm 0,14$  нг/мл и  $2,17\pm 0,19$  нг/мл, соответственно).

**Таблица 38** - Содержание IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ T1N0M0, T2N0M0 стадий и в контроле

Группы сравнения	Число наблюдений	Частота значений IL-6 $\geq$ 1,8 нг/мл	IL-6, нг/мл M $\pm$ m (медиана)	IL-6, нг/мл пределы колебания
Контроль	55	3 (5,5%)	1,01 $\pm$ 0,12 (0,9)*	0,01-1,98
Стадия T1-2N0M0 (всего)	248	53 (21,4%)	1,95 $\pm$ 0,14 (1,3)**	0-14
T1N0M0	78	24 (30,8%)	1,47 $\pm$ 0,14 (1,15)	0-6,4
T2N0M0	170	73 (42,9%)	2,17 $\pm$ 0,19 (1,4)	0-14

**Примечание:** \*vs\*\* $p=0,0001$ ; T1N0M0-T2N0M0 стадии:  $p=0,02$ ; T1N0M0 стадия-контроль:  $p=0,001$ ; T2N0M0 стадия-контроль:  $p=0,0001$ .

Не выявлено корреляционной зависимости между содержанием IL-6 в сыворотке крови и возрастом больных, а также стадией заболевания ( $p>0,05$ ).

Анализ содержания IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ с учетом гистологического варианта строения опухоли без учета стадии заболевания выявил значимо большие значения маркера у пациенток с дольковым РМЖ по сравнению с протоковым инфильтративным раком (соответственно 2,6–0,4 и 1,6–0,1 нг/мл) (таблица 39).

**Таблица 39** - Содержание IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий с учетом гистологического строения опухоли

Гистологический Вариант строения РМЖ	T1N0M0 стадия		T2N0M0 стадия		Всего	
	N	IL-6, нг/мл M $\pm$ m (медиана)	N	IL-6, нг/мл M $\pm$ m (медиана)	N	IL-6, нг/мл M $\pm$ m (медиана)
Дольковый <sup>1</sup>	8	2,3 $\pm$ 0,6 (2,1)	19	2,7 $\pm$ 0,6 (1,8)	27	2,6 $\pm$ 0,4* (2,0)
Протоковый <sup>2</sup>	35	1,3 $\pm$ 0,2 (1,0)	72	1,8 $\pm$ 0,2 (1,4)	107	1,6 $\pm$ 0,1* (1,3)
Педжета <sup>3</sup>	9	1,3 $\pm$ 0,4 (1,2)	21	3,0 $\pm$ 0,9 (1,3)	30	2,5 $\pm$ 0,6 (1,3)
Слизистый <sup>4</sup>	1	2,0*	7	1,7 $\pm$ 0,3 (2,1)	8	1,7 $\pm$ 0,3 (2,1)
Смешанный <sup>5</sup>	23	1,5 $\pm$ 0,3 (1,0)	53	2,2 $\pm$ 0,4 (1,2)	76	2,0 $\pm$ 0,3 (1,2)

**Примечание:** общая группа 1vs2  $p=0,035$ ; T2N0M0 стадия: 2vs3  $p=0,04$ .

Обнаружено повышение содержания IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий при увеличении степени злокачественности опухоли в общей группе больных и в группе

пациенток с T2N0M0 стадией заболевания (таблица 40). У больных РМЖ T2N0M0 стадии с G-3 - диагностическая ценность исходных (до лечения) показателей IL-6 в сыворотке крови возрастала до 63%.

**Таблица 40** - Содержание IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий с учетом степени злокачественности опухоли

Степень злокачественности РМЖ	T1N0M0 стадия		T2N0M0 стадия		Всего	
	N	IL-6, нг/мл M±m (медиана)	N	IL-6, нг/мл M±m (медиана)	N	IL-6, нг/мл M±m (медиана)
G-1 <sup>1</sup>	9	1,55±0,3 (1,65)	19	1,51±0,4 (0,9)	28	1,52±0,28 (1,1)
G-2 <sup>2</sup>	53	1,49±0,2 (1,2)	118	1,80±0,2 (1,3)	171	1,70±0,14 (1,2)
G-3 <sup>3</sup>	16	1,52±0,3 (1,3)	33	2,88±0,5 (2,3)	49	2,54±0,4 (2,1)

**Примечание:** общая группа: 1vs3 p=0,034; 2vs3 p=0,011; T2N0M0 стадия: 1vs3 p=0,02; 2vs3 p=0,005.

#### Концентрация sFas в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в контроле

Для анализа концентрации sFas были разбиты на 3 интервала: 1) от 0 до 0,29 нг/мл; 2) от 0,3 до 1,9 нг/мл; 3) от 2,0 нг/мл и более.

Среднее содержание sFas в сыворотке крови 143 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, у которых этот маркер был выявлен, составило 1,7±0,2 нг/мл (медиана - 1,1 нг/мл). Среднее содержание sFas в сыворотке крови здоровых женщин группы контроля составило 0,73±0,1 нг/мл (медиана 0,7 нг/мл), что было статистически значимо ниже, чем содержание этого показателя у больных РМЖ как при T1N0M0, так при T2N0M0 стадии заболевания (p=0,001) (таблица 41).

**Таблица 41** - Концентрация sFas в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в группе контроля

Группы	Число наблюдений	Частота выявления sFas абс. (отн.%)	sFas, нг/мл M±m (медиана)	sFas, нг/мл колебания
Контроль	55	26 (48,1%)	0,73±0,1 (0,7)*	0,3-3,6
Стадия T1-2N0M0 (общая группа)	248	143 (57,6%)	1,7±0,2 (1,1)**	0,4-17,0
T1N0M0	76	41 (53,9%)	1,58±0,17 (1,1)	0,6-5,0
T2N0M0	172	102 (59,3%)	1,72±0,21 (1,1)	0,4-17,0

**Примечание:** T1-2N0M0 стадии РМЖ (общая группа) vs контроль p=0,0001; T1N0M0-T2N0M0 стадии: p=0,48; T1N0M0-контроль: p=0,001; T2N0M0-контроль: p=0,0015.

Данные о концентрации sFas в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий

разного гистологического строения первичной опухоли представлены в таблице 42. Минимальные уровни sFas определялись у больных РМЖ T1N0M0 стадий при протоковом и слизистом раке.

**Таблица 42** - Концентрация sFas в сыворотке крови больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий с учетом гистологического строения опухоли

Гистологический вариант строения РМЖ	T1N0M0 стадия		T2N0M0 стадия		Всего	
	N	sFas, нг/мл M±m (медиана)	N	sFas, нг/мл M±m (медиана)	N	sFas, нг/мл M±m (медиана)
Дольковый <sup>1</sup>	8	1,3±0,5 (1,0)	19	1,5±0,6 (0,8)	27	1,4±0,4 (0,8)
Протоковый <sup>2</sup>	35	0,6±0,1 (0)	72	0,7±0,1 (0,6)	107	0,6±0,1 (0,6)
Педжета <sup>3</sup>	9	1,2±0,4 (0,8)	21	1,0±0,3 (0,6)	30	1,0±0,2 (0,8)
Слизистый <sup>4</sup>	1	0	7	0,6±0,2 (0,7)	8	0,5±0,2 (0,4)
Смешанный <sup>5</sup>	23	1,1±0,3 (0,9)	53	1,4±0,3 (0,7)	76	1,3±0,3 (0,8)

**Примечание:** 1vs2 p=0,03; 2vs5 p=0,04; T2N0M0 стадия: 2vs5 p=0,04.

Выявлено статистически значимое повышение содержания sFas в сыворотке крови больных РМЖ при увеличении степени злокачественности опухоли: при T1N0M0 стадии - до 2,49±0,6 нг/мл и при T2N0M0 стадии - до 2,6±0,6 нг/мл при G-3 (таблица 43).

**Таблица 43** - Концентрация sFas у больных РМЖ с разной степенью злокачественности опухоли и стадией заболевания

Степень злокачественности РМЖ	T1N0M0 стадия		T2N0M0 стадия		Всего	
	N	sFas, нг/мл M±m (медиана)	N	sFas, нг/мл M±m (медиана)	N	sFas, нг/мл M±m (медиана)
G-1	9	0,73±0,1(0,7)	19	1,4±0,5 (0,7)	28	1,15±0,3 (0,7)*
G-2	53	1,44±0,2 (1,1)**	118	1,2±0,1 (1,0)**	171	1,3±0,1 (1,0)**
G-3	16	2,49±0,6 (2,1)***	33	2,6±0,6 (1,5)***	49	2,6±0,5 (1,5)***

**Примечание:** общая группа: \*vs\*\*\*p=0,02; \*\*vs\*\*\*p=0,0002; T2N0M0 стадия: \*\*vs\*\*\*p=0,0001.

Таким образом, sFas как по частоте выявления, так и по концентрации в сыворотке крови, отражает степень злокачественности РМЖ.

Не обнаружили связи между содержанием sFas в сыворотке крови больных РМЖ и возрастом пациенток, рецепторным статусом (РЭ, РП) опухоли, отсутствием или наличием экспрессии Her2-neu в опухоли, биологическим подтипом опухоли (p>0,5). Не обнаружено корреляционной зависимости между уровнями sFas в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий со всеми исследованными маркерами системы-IGF в сыворотке крови (r=0).

Подводя итоги изучению содержания sFas в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, из рассмотренных нами клинических признаков заболевания, только степень злокачественности опухоли была значимо связана с исходной концентрацией sFas в сыворотке

крови этих пациенток.

### Отдаленные результаты и влияние биохимических маркеров на прогноз раннего рецидива заболевания

В общей группе из 293 больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий за 10-летний срок наблюдения выявлено 80 (27,3%) рецидивов заболевания в виде местных/отдаленных метастазов. В таблице 44 представлены данные по безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от клинических, морфологических и молекулярно-биологических факторов.

**Таблица 44** - Безрецидивная выживаемость больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом клинических, морфологических и биологических характеристик

Фактор	Градация	N	Безрецидивная выживаемость, %			P
			2-летняя	5-летняя	10-летняя	
Возраст, лет	30-39	11	66,7±13,6	33,3±18	33,3±18	0,009
	40-49	78	88,0±3,9	63,2±7,2	34,6±10,9	
	50-59	76	81,7±4,6	61,8±6,6	48,0±8,1	
	60-69	91	93,8±2,7	73,0±8,0	53,5±11,3	
	70 и более	37	96,6±3,4	25,8±21,4	25,8±21,4	
Стадия	T1N0M0	93	89,4±3,5	64,9±7,1	52,4±6,9	0,51
	T2N0M0	200	87,6±2,4	62,5±4,9	33,1±10,7	
Степень злокачественности	G-1	31	90,0±6,8	90,0±6,8	67,5±20,1	0,001
	G-2	208	88,3±2,8	66,9±5,5	51,4±7,4	
	G-3	54	87,2±5,3	48,4±11,9	12,1±10,3	
Гистологический вариант	дольковый	32	82,3±7,0	78,7±7,8	55,1±13,3	0,02
	протоковый	127	88,2±3,1	71,3±6,1	36,7±12,5	
	Педжета	32	78,5±7,2	33,3±10,9	22,1±11,6	
	смешанный	94	90,9±3,7	66,2±6,7	53,9±8,8	
Her2-neu статус	-	242	91,1±1,9	71,5±4,2	47,6±6,8	0,0001
	+	51	73,9±6,6	20,7±8,4	20,7±8,4	
РЭ статус	+	239	91,8±1,9	70,5±4,4	47,1±7,1	0,0001
	-	54	71,7±6,4	26,6±8,8	19,9±8,8	
РП статус	+	184	91,7±2,1	71,5±4,5	48,0±7,5	0,0005
	-	109	82,0±3,9	43,1±9,3	27,0±10,9	
Биологический подтип РМЖ	люминальный А	97	98,9±1,1	85,0±4,7	64,5±7,9	0,0001
	люминальный В Her2-neu-	59	86,5±4,8	59,7±10,1	22,4±17,5	
	ЭР+, ПР-, Her2-	55	92,2±3,8	48,4±18,5	24,2±19,4	
	Люминальный В Her2-neu+	28	75,7±8,7	36,1±14,2	36,1±14,2	
	тройной негативный	31	72,1±8,5	49,1±12,4	32,8±15,8	
	Her2-neu +	23	71,3±10,0	7,9±7,5	-	

Проведенный нами многофакторный анализ (Proportional hazard (Cox) regression) рассмотренных клинических, морфологических и биологических факторов показал, что биологический подтип опухоли ( $p=0,005$ ) и степень ее злокачественности ( $p=0,03$ ) можно считать независимыми факторами прогноза при оценке возможного рецидива опухолевого процесса у больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий.

**Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом уровня исследованных биохимических маркеров и вида проводимого лечения**

В группе из 46 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, получивших только хирургическое лечение, показатель 10-летней безрецидивной выживаемости составил  $62,0 \pm 10,4\%$ . При анализе связи безрецидивной выживаемости пациенток этой группы больных с учетом уровня сывороточных маркеров системы IGF, нами обнаружены значимые различия в показателях 3-летней безрецидивной выживаемости в группах больных с «низкими» и «высокими» уровнями IGF-I относительно его порогового показателя равного 100 нг/мл в 32%. У больных с неблагоприятными исходными значениями сывороточного IGF-II относительно его порогового уровня равного 2,0 нг/мл и более, обнаружены, различия в показателях безрецидивной выживаемости в 40% наблюдений которые проявились только после 5 лет от начала лечения пациенток (таблица 45).

**Таблица 45** - Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, получивших только хирургическое лечение, с учетом исходных уровней IGF-I и IGF-II в сыворотке крови

Обследованные группы	Медиана срока жизни, мес	Показатели безрецидивной выживаемости, %			
		2-летняя	3-летняя	5-летняя	10-летняя
<b>IGF-I, нг/мл (<math>p=0,03</math>)</b>					
<100	–	78,2±9,7	64,0±12,1	56,0±12,9	56,0±12,9
≥100	–	96,3±3,6	96,3±3,6	66,2±15,4	66,2±15,4
<b>IGF-II, мкг/мл (<math>p=0,1</math>)</b>					
<2,0	–	100	100	100	–
≥2,0	–	86,1±6,5	81,3±7,7	60,0±12,2	60,0±12,2

В группе больных с биологическим подтипом «люминальный А» рак показатели 10-летней безрецидивной выживаемости были на уровне  $83,3 \pm 15,2\%$  при высоком исходном значении сывороточного маркера IGF-I и 100% - при низкой исходной концентрации IGF-II в сыворотке крови.

Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости в группе больных с низкими исходными значениями ММР-2 в сыворотке крови  $<240$  нг/мл равнялась  $72,3 \pm 11,2\%$ . В группе больных с высокими уровнями этого маркера ( $\geq 240$  нг/мл), показатель 3-летней безрецидивной выживаемости был низким, и составил  $48,0 \pm 18,3\%$ , а медиана длительности безрецидивного периода также была значимо снижена и равнялась всего 31,9 месяцев ( $p=0,02$ ).

5-летняя безрецидивная выживаемость больных, получивших только хирургическое лечение, в зависимости от одновременно «низких» и «высоких» тканевых уровней uPA и сывороточных уровней IL-6 составила  $74,4 \pm 9,4\%$  и  $0\%$ .

В группе из 23 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, получивших комплексное лечение (операция + лучевая терапия + гормонотерапия), достигнуты наилучшие отдаленные результаты. Так, 3-летняя безрецидивная выживаемость составила  $90,5 \pm 6,4\%$ , а 10-летняя –  $80,8 \pm 11,1\%$ . Неблагоприятные тканевые уровни uPA, сывороточные уровни IL-6, неблагоприятные исходные уровни сывороточного ММР-2 незначимо были связаны с ухудшением результатов лечения.

У больных этой группы связи безрецидивной выживаемости с исходными значениями IGF-I в сыворотке крови нами не установлено ( $p=0,8$ ). В то же время, в группе пациенток с неблагоприятными исходными концентрациями IGF-II от 2,3 нг/мл и более, показатели безрецидивной выживаемости были высокими: показатель 10-летней выживаемости составил  $77,8 \pm 15,2\%$ .

Группа из 90 больных с проведенным лучевым и хирургическим лечением характеризовалась медианой срока жизни без рецидива 79,3 месяца, показателями 5-летней выживаемости -  $56,5 \pm 7,4\%$  и 10-летней -  $48,7 \pm 8,2\%$ . Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости с данным видом лечения и с количеством одновременно «неблагоприятных» маркеров менее 3-х и более 3-х составили  $74,8 \pm 9,9\%$  и  $6,5 \pm 6,2\%$  соответственно ( $p<0,0001$ ).

Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости у больных, у которых были изучены уровни тканевого uPA и сывороточного IL-6 при одновременно: 1) «низких», 2) рассогласованных и 3) «высоких» уровнях вышеуказанных маркеров, составили  $68,8 \pm 8,9\%$ ;  $44,1 \pm 16,8\%$ ;  $14,3 \pm 13,3\%$ .

Показатели безрецидивной выживаемости значимо различались у пациенток с исходно «низкими» и «высокими» уровнями IGF-I (на 40-45% после 3-х лет наблюдения). Значимые различия выявлены также и в группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с различными исходными значениями IGF-II в сыворотке крови (таблица 46).

**Таблица 46** - Показатели безрецидивной выживаемости в группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, получивших хирургическое и лучевое лечение, с учетом исходных уровней IGF-I, IGF-II в сыворотке крови

Группа	Медиана срока жизни, мес	Показатели безрецидивной выживаемости, %			
		2-летняя	3-летняя	5-летняя	10-летняя
<b>IGF-I, нг/мл (p&lt;0,0001)</b>					
<100	30,7	70,5±8,9	45,8±10,6	22,2±11,6	22,2±11,6
≥100	–	93,2±3,3	91,2±3,8	71,6±8,5	61,0±10,0
<b>IGF-II, мкг/мл (p=0,07)</b>					
<2,0	–	91,3±5,9	91,3±5,9	81,2±10,9	81,2±10,9
≥2,0	55,4	83,8±4,7	71,9±6,0	51,8±8,4	38,3±9,1

При анализе исходных уровней MMP-2 в сыворотке крови - менее и более 240 нг/мл показано, что при «высоких» значениях маркера MMP-2 рецидивы болезни отмечены у половины больных, а показатель 3-летней безрецидивной выживаемости составил 46,8±9,5% (p=0,0001). Медиана длительности безрецидивного периода у этих пациенток равнялась 30,7 мес. В то же время, при «низких» значениях маркера MMP-2 показатель 10-летней безрецидивной выживаемости был равен 60,0±10,7%.

Представленные нами данные исследования свидетельствуют о том, что комбинированное лечение (лучевая терапия и хирургическое лечение) более успешно, больные имеют благоприятный прогноз раннего рецидива опухолевого процесса, но при условии выявления у пациенток этой группы благоприятных значений сывороточных маркеров системы IGF (IGF-I, IGF-II) и MMP-2.

В группе больных, которым проводили комбинированное лечение: хирургическое и химиотерапия по схеме CMF, показатель 5-летней безрецидивной выживаемости составил 49,1±19,2%. Различия в показателях 5-летней безрецидивной выживаемости между больными с «высоким» и «низким» исходным содержанием IGF-I, IGF-II составили около 5%. Различия в 3-летней безрецидивной выживаемости больных отмечены нами при «низких» и «высоких» значениях MMP-2, эти различия составили около 40% (100% и 60±21,9% соответственно).

Проведен анализ безрецидивной выживаемости в группе из 19 больных получивших комбинированное лечение (хирургическое и химиотерапия антрациклинами). Медиана длительности безрецидивного периода жизни у данной группы пациенток равнялась 45,2 месяца, а показатель 5-летней безрецидивной выживаемости составил 65,1±13,6%.

Различия в показателях 5-летней безрецидивной выживаемости у пациенток с различными сочетаниями тканевых уровней uPA и сывороточных значений IL-6 не превышали

15%. Различия в 5-летней безрецидивной выживаемости у больных при «низких» и «высоких» исходных сывороточных значениях MMP-2, составили около 35%.

Изучена безрецидивная выживаемость 43 больных, которым проведено хирургическое лечение и гормонотерапия. Показатель 5-летней безрецидивной выживаемости составил  $52,7 \pm 22,6\%$ . 5-летняя безрецидивная выживаемость в группе больных с одновременно неблагоприятными уровнями менее 3-х маркеров и более 3-х маркеров составила  $47,6 \pm 33,8\%$  и 0% соответственно ( $p=0,01$ ).

В группе больных с «низкими» значениями тканевого маркера uPA и сывороточного IL-6 5-летняя безрецидивная выживаемость составила  $63,8 \pm 26,2\%$ , с рассогласованными уровнями этих маркеров –  $50,0 \pm 35,4\%$ , с «высокими» значениями – 0%. Не выявлено различий в безрецидивной выживаемости больных при «низких» и «высоких» исходных значениях MMP-2 в сыворотке крови при 3-летнем сроке наблюдения.

Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, получивших хирургическое и гормональное лечение, с разными исходными концентрациями IGF-I и IGF-II в сыворотке крови представлены в таблице 47. Большую значимость в прогнозе рецидива при комбинированном лечении (хирургическое лечение и гормонотерапия) показали исходные уровни IGF-II в сыворотке крови. Так, показатель 5-летней безрецидивной выживаемости составил 100% при благоприятных «низких» значениях маркера ( $<2,0$  мкг/мл), но снижался на 64% при неблагоприятных «высоких» его уровнях ( $\geq 2,0$  мкг/мл) и составил  $36,2 \pm 26,4\%$ .

**Таблица 47** - Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, получивших хирургическое и гормональное лечение, с учетом исходных уровней IGF-I и IGF-II в сыворотке крови

Группы	Медиана срока жизни, мес	Показатели безрецидивной выживаемости, %			
		2-летняя	3-летняя	5-летняя	10-летняя
<b>IGF-I, нг/мл (<math>p=0,04</math>)</b>					
<100	–	$83,6 \pm 10,8$	$66,9 \pm 17,3$	$56,0 \pm 12,9$	–
$\geq 100$	–	100	100	$57,1 \pm 24,9$	–
<b>IGF-II, мкг/мл (<math>p=0,01</math>)</b>					
<2,0	–	100	100	100	–
$\geq 2,0$	43,9	$92,0 \pm 5,4$	$82,8 \pm 10,0$	$36,2 \pm 26,4$	–

17 больным было проведено комплексное лечение (хирургическое, химиотерапия CMF, лучевое лечение). Медиана длительности безрецидивного периода составила 76,9 месяцев, показатель 2-летней безрецидивной выживаемости составил  $87,5 \pm 8,3\%$ , а показатель 5-летней безрецидивной выживаемости равнялся  $72,2 \pm 12,0\%$  (таблица 48).

**Таблица 48** - Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, получивших комплексное лечение (операция, химиотерапия по схеме CMF, лучевое лечение) с учетом исходных сывороточных уровней IGF-I, IGF-II

Группа	Медиана срока жизни, мес	Показатели безрецидивной выживаемости, %			
		2-летняя	3-летняя	5-летняя	10-летняя
<b>IGF-I, нг/мл (p=0,3)</b>					
<100	–	85,7±13,2	85,7±13,2	51,4±20,4	–
≥100	85,0	88,9±10,5	88,9±10,5	88,9±10,5	–
<b>IGF-II, мкг/мл (p=0,14)</b>					
<2,0	–	85,7±13,2	85,7±13,2	85,7±13,2	–
≥2,0	36,6	75,0±15,3	75,0±15,3	49,6±22,8	–

Анализ уровней исследованных маркеров выявил, что при «низких» значениях тканевого uPA и сывороточного IL-6 показатель 5-летней безрецидивной выживаемости составил 100%, при прочих – 53,3±24,8%. 5-летняя безрецидивная выживаемость при неблагоприятных исходных уровнях IGF-I и IGF-II в сыворотке крови были незначимо ниже на 35%.

36 больным было проведено комплексное лечение: хирургическое, химиотерапия антрациклинами, лучевая терапия. Медиана длительности безрецидивного периода составила 77,2 месяцев, показатели 2-летней, 5-летней и 10-летней безрецидивной выживаемости составили соответственно 85,4±6,0%, 65,3±10,0% и 15,3±12,4%.

Наилучшие показатели безрецидивной выживаемости отмечены в группе больных, получивших хирургическое, лучевое и гормональное лечение. Показатель 10-летней безрецидивной выживаемости при данном объеме терапии составил 79,2±12,0%. При благоприятных «низких» исходных значениях IGF-II в сыворотке крови показатель 10-летней безрецидивной выживаемости больных РМЖ этой группы достигал 100%. При неблагоприятных «высоких» уровнях тканевого uPA и сывороточного IL-6, нами отмечена наихудшая безрецидивная выживаемость.

Удовлетворительные 5-летние результаты лечения отмечены в группе больных, которым выполнили только хирургическое вмешательство при благоприятных «низких» уровнях тканевого uPA и сывороточного IL-6 (74,4±9,4%), а при благоприятных «низких» исходных значениях IGF-II в сыворотке крови, показатель 5-летней безрецидивной выживаемости этих больных достигал 100%.

Таким образом, полученные нами данные показали, что для достижения наилучших результатов, выбор вида проводимой терапии у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий целесообразнее проводить после определения биологического подтипа опухоли и измерения исходных (до лечения) уровней тканевых маркеров (uPA, MMP-2) в ткани опухоли, (IL-6, MMP-

2, IGF-I, IGF-II) - в сыворотке крови. Исходные сывороточные уровни IGF-I преимущественно указывали на ранний рецидив опухолевого процесса, а уровни IGF-II в большей степени прогнозировали 5- и 10-летнюю безрецидивную выживаемость

Дальнейшее изучение биохимических маркеров позволит не только уточнять прогноз заболевания, но и оптимизировать объем и вид лечебных мероприятий у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий.

### ВЫВОДЫ

1. РМЖ T1-2N0M0 стадий представляет собой гетерогенное заболевание с биологическими особенностями, диагностируется у 38,7% женщин в возрасте от 45 до 55 лет в T1N0M0 стадии и у 32,5% в возрасте от 60 до 70 лет во T2N0M0 стадии, с преобладанием умеренно и низкодифференцированных опухолей (81,6%) с протоковым инфильтративным гистологическим строением (43,8%).

2. Содержание IGF-I у больных РМЖ значимо ниже, чем у здоровых женщин ( $154 \pm 60,2$  нг/мл и  $199 \pm 65,4$  нг/мл, соответственно  $p=0,00013$ ), а содержание IGF-II – значимо выше ( $2,3 \pm 0,6$  мкг/мл и  $1,5 \pm 0,3$  мкг/мл, соответственно,  $p < 0,0001$ ). Кроме того, уровень IGF-I значимо выше ( $180 \pm 56,2$  нг/мл), а IGF-II – значимо ниже ( $2,2 \pm 0,6$  мкг/мл) при прогностически благоприятном «люминальном А» раке, чем при других биологических типах РМЖ ( $p < 0,05$ ). Взаимосвязи уровней данных маркеров со стадией заболевания, степенью дифференцировки и гистологическим строением опухоли не обнаружено.

3. Уровни IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ высокочаще повышены по сравнению с контролем ( $49,4 \pm 32,7$  против  $13,7 \pm 17,1$  нг/мл соответственно,  $p < 0,0001$ ), как и IGFBP-3 ( $6,3 \pm 1,8$  против  $4,3 \pm 1,5$  мкг/мл соответственно,  $p < 0,0001$ ), не связаны со стадией заболевания, гистологическим строением и рецепторным статусом опухоли по РЭ и РП, оба маркера значимо ниже при «люминальном А» раке (IGFBP-1  $44,0 \pm 33,7$  нг/мл,  $p=0,005$  и IGFBP-3  $6,1 \pm 1,8$  мкг/мл,  $p < 0,05$ ), чем при других биологических типах РМЖ, при этом высокое содержание IGFBP-1 выявлено у пациенток с Her2-neu-положительными опухолями, а IGFBP-3 - при низкой степени их дифференцировки.

4. При 95%ДИ показателя IGF-II равном 2,0 мкг/мл в контроле маркер обладает высокими показателями чувствительности (76,7%) и специфичности (94,1%) в диагностике РМЖ в отличие от IGF-I, IGFBP-1 и IGFBP-3, которые не могут быть использованы в качестве диагностического теста при выявлении РМЖ T1-2N0M0 стадий.

5. Содержание MMP-2 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий не отличается от показателей контрольной группы ( $224 \pm 7,6$  нг/мл). Уровень маркера зависит от распространенности опухолевого процесса и значимо выше при T2N0M0 ( $258 \pm 5,1$  нг/мл), чем при T1N0M0 стадии ( $216 \pm 5,3$  нг/мл,  $p < 0,0001$ ). Кроме того, уровень MMP-2 повышен в

сыворотке крови больных HER2-положительным ( $273 \pm 15,1$  нг/мл) и снижен при «люминальным А» биологическом типе РМЖ ( $214 \pm 5,4$  нг/мл). Значение сывороточного MMP-2  $\geq 240$  нг/мл показало высокую специфичность (91,6%) и чувствительность (90,9%) маркера в предсказании раннего рецидива у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий.

6. Содержание MMP-2 в опухолях больных РМЖ ( $54,3 \pm 2,1$  нг/мг белка) значимо выше, чем в неизменной ткани молочной железы ( $47,8 \pm 1,4$  нг/мг белка,  $p=0,0001$ ), при T2N0M0 ( $60,7 \pm 2,6$  нг/мг белка), чем при T1N0M0 стадии ( $40,5 \pm 2,8$  нг/мг белка,  $p < 0,0001$ ). Наиболее высокое содержание MMP-2 обнаружено в ткани протокового рака ( $61,6 \pm 3,1$  нг/мг белка) и в HER2-положительных опухолях ( $76,7 \pm 6,6$  нг/мг белка), тогда как в ткани «люминального А» РМЖ уровень данного маркера значимо снижен ( $36,6 \pm 3,2$  нг/мг белка,  $p=0,0001$ ). Уровни MMP-2 в опухоли и сыворотке крови связаны тесной корреляционной зависимостью.

7. Содержание uPA значимо выше в опухолях больных РМЖ T1-2N0M0 стадий ( $1,6 \square 0,1$  нг/мг белка) по сравнению с неизменной тканью молочной железы ( $0,8-0,1$  нг/мг белка,  $p=0,0001$ ), не зависит от биологического типа рака, значимо выше при T2N0M0 стадии ( $1,8-0,2$  нг/мг белка), чем при T1N0M0 ( $1,8-0,1$  нг/мг белка,  $p=0,035$ ), зависит от степени злокачественности опухоли и максимально при низкой степени дифференцировки опухоли ( $2,3-0,1$  нг/мг белка). Наиболее низкая медиана маркера выявлена в «люминальном А» раке ( $1,1$  нг/мг белка), а наибольшая - в HER2-положительном и «тройном негативном» РМЖ ( $2,3$  нг/мг белка).

8. Содержание IL-6 значимо выше в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий ( $2,0 \square 0,1$  нг/мл) по сравнению с неизменной тканью молочной железы ( $1,0-0,1$  нг/мл,  $p=0,0001$ ), и значимо повышалась при T2N0M0 по сравнению с T1N0M0 ( $2,2-0,2$  и  $1,5-0,1$  нг/мл,  $p=0,02$ ), была значимо большей при G-3 ( $2,5-0,4$  нг/мл), не зависела от подтипа опухоли.

9. Содержание sFas значимо выше в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий ( $1,7-0,2$  нг/мл) по сравнению с неизменной тканью молочной железы ( $0,7-0,1$  нг/мл,  $p=0,0001$ ), была значимо большей при G-3 ( $2,6-0,5$  нг/мл), не зависела от подтипа опухоли.

10. Исходные концентрации IGF-I и IGF-II, IGFBP-3, MMP-2 и sFas в сыворотке крови, а также содержание uPA и MMP-2 в ткани опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, у которых возник рецидив заболевания в первые 3 года после начала лечения, значимо выше, чем у пациенток, не имевших рецидива в эти сроки наблюдения.

11. Определены пороговые уровни исследованных маркеров как независимые неблагоприятные факторы прогноза, влияющие на время и частоту выявления раннего рецидива опухоли у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий: в сыворотке крови - уровни IGF-I  $\geq 3,0$  мкг/мл; IGF-II  $\geq 3,0$  мкг/мл; MMP-2  $\geq 60$  нг/мл; IL-6  $\geq 2,4$  нг/мл; sFas  $\geq 2,0$  нг/мл; в ткани опухоли прогностически значимыми неблагоприятными факторами являются уровни uPA  $\geq 2,8$  нг/мл

белка и MMP-2  $\geq$  40 нг/мг белка.

12. Исследование маркеров пролиферативной и инвазивной активности в сыворотке крови и опухолях больных РМЖ T1-2N0M0 стадий наряду со стадией и биологическим подтипом опухоли может быть использовано для предсказания возможности наступления раннего рецидива заболевания и уточнения тактики лечения. Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости высокозначимо снижались при одновременном выявлении у пациенток трех и более маркеров с неблагоприятными их уровнями в сыворотке крови (с  $88,9 \pm 10,5\%$  до  $12,2 \pm 6,4\%$ ).

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. На основании определения пороговых уровней биологических тканевых (uPA, MMP-2) и сывороточных (IGF-II, MMP-2, IL-6, sFas) маркеров РМЖ T1-2N0M0 стадий, повышение которых характеризует агрессивный биологический потенциал опухоли, (склонность к раннему рецидивированию заболевания в первые 3 года от начала лечения), позволяют использовать их в предсказании (прогнозе) опухолевой прогрессии РМЖ.

2. Впервые представлена возможность прогнозировать ранний рецидив заболевания у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с использованием комплекса лабораторных маркеров, которые отражают не только агрессивный биологический потенциал опухоли, но и неблагоприятно отражаются на показателях отдаленных результатов лечения, значимо снижая показатели 5-летней безрецидивной выживаемости.

3. Выделение пороговых уровней маркеров - как независимых факторов, определяющих время и частоту обнаружения раннего рецидива опухоли у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, позволяет рекомендовать их к широкому использованию в повседневной практике.

4. Полученные в исследовании лабораторные данные позволяют оптимизировать диагностический алгоритм и прогнозировать ранний рецидив заболевания у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий.

5. Полученные в исследовании данные о роли компонентов сигнальной системы-IGF при РМЖ являются предпосылкой к возможности использования целенаправленных («таргетных») ингибиторов для подавления ее активности.

6. Предсказание возможности раннего рецидива заболевания на основе исследования маркеров пролиферативной и инвазивной активности в опухоли и сыворотке крови, позволяет назначать более агрессивное лечение у больных с неблагоприятными значениями этих маркеров.

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Аббасова, С.Г. Онкологические заболевания и растворимый Fas / С.Г. Аббасова, М.М. Высоцкий, Л.К. Овчинникова, М.Н. Обушева, М.А. Дигаева, **У.Р. Мамедов**, Т.А. Бритвин, К.А. Бахоева, З.К. Карабекова, И.Н. Казанцева, И.Б. Манухин, М.И. Давыдов. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2009. – Т. 148. – №10. – С. 442-446.
2. Овчинникова, Л.К. Фактор роста эндотелия сосудов в сыворотке крови больных раком молочной железы / Л.К. Овчинникова, Т.Т. Березов, О.М. Кузнецова, **У.Р. Мамедов**, З.К. Карабекова, И.К. Воротников, М.В. Грицкевич, А.А. Тулеуова, И.В. Терешкина, Е.К. Дворова // Российский биотерапевтический журнал. – 2010. – Т. 9. – №1. – С. 95-99.
3. Аббасова, С.Г. Растворимый Fas в сыворотке крови онкологических больных / С.Г. Аббасова, М.Н. Обушева, Л.К. Овчинникова, М.А. Дигаева, Д.Н. Кушлинский, Т.А. Бритвин, **У.Р. Мамедов**, О.В. Кузнецова, А.Е. Катунина, К.А. Бахоева, М.В. Грицкевич, В.М. Липкин, Т.Т. Березов, М.И. Давыдов // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2010. – №6. – С. 22-27.
4. Овчинникова, Л.К. Содержание активатора плазминогена урокиназного типа в цитозоле опухолей молочной железы / Л.К. Овчинникова, И.К. Воротников, О.В. Кузнецова, **У.Р. Мамедов**, А.М., А.М. Катунина, З.К. Карабекова, М.В. Грицкевич, А.А. Тулеуова, Т.Т. Березов // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. – 2010. – №6. – С. 28-31.
5. Аббасова, С.Г. Онкологические заболевания и растворимый Fas / Аббасова С.Г., Обушева М.Н., Овчинникова Л.К., Дигаева М.А., **У.Р. Мамедов**, Кушлинский Н.Е., Бритвин Т.А., Казанцева И.Н., Бахоева К.А., Высоцкий М.М., Липкин В.М., Давыдов М.И. // Эндоскопическая хирургия. – 2010. — №1. – С. 32-37.
6. Костылева, О.В. Система инсулиноподобных факторов роста и рак молочной железы / О.В. Костылева, А.В. Масляев, **У.Р. Мамедов**, О.В. Кузнецова, А.А. Тулеуова, И.В. Терешкина, Т.Т. Березов // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2011. – №10. – С. 13-20.
7. Костылева, О.И. Инсулиноподобные факторы роста и их рецепторы при раке молочной железы / О.И. Костылева, **У.Р. Мамедов**, Е.С. Герштейн, А.В. Масляев // Технологии живых систем. – 2011. – Т. 8. – №7. – С. 3-10.
8. Назаренко, А.Ю. Активаторы и ингибиторы ангиогенеза при опухолях / А.Ю. Назаренко, О.М. Кузнецова, **У.Р. Мамедов**, Е.Ю. Руссо, Т.Т. Березов // Технологии живых систем. – 2012. – Т. 9. – № 3. – С. 49-56.
9. Костылева, О.И. Рак молочной железы и инсулиноподобные факторы роста / О.И. Костылева, А.В. Масляев, Ю.В. Крюк, А.А. Тулеуова, **У.Р. Мамедов**, О.М. Кузнецова, И.В.

Терешкина // Российский биотерапевтический журнал. – 2012. – Т. 11. – №1. – С. 79-84.

10. Овчинникова, Л.К. Растворимый Fas и прогноз рака молочной железы / Л.К. Овчинникова, С.Г. Аббасова, О.М. Кузнецова, **У.Р. Мамедов**, З.К. Карабекова, А.А. Тулеулова, И.К. Воротников // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2012. – №10. – С. 12-15.

11. Костылева, О.И. Клиническое значение исследования фактора роста эндотелия сосудов и активатора плазминогена урокиназного типа при раке молочной железы / О.И. Костылева, Л.К. Овчинникова, В.Д. Ермилова, **У.Р. Мамедов**, И.В. Терешкина, М.В. Грицкевич, О.В. Кузнецова, И.К. Воротников // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2014. – №8. – С. 38-46.

12. Тимофеев, Ю.С. Система инсулиноподобных факторов роста. Ч.1. Биосинтез, сигнальные пути регуляции в норме и при злокачественной трансформации / Ю.С. Тимофеев, С.В. Муштенко, А.В. Масляев, **У.Р. Мамедов**, И.К. Воротников, Е.С. Герштейн // Технологии живых систем. – 2015. – Т. 12. – №2. – С.36-55.

13. Тимофеев, Ю.С. Система инсулиноподобных факторов роста. Ч. 2. Рак молочной железы. Система-IGF в прогрессии заболевания. Таргетная терапия / Ю.С. Тимофеев, О.В. Костылева, А.В. Масляев, **У.Р. Мамедов**, И.К. Воротников, Е.С. Герштейн // Технологии живых систем. – 2015. – Т. 12. – №3. – С. 36-55.

14. **Мамедов, У.Р.** Инсулиноподобные факторы роста I и II типа у больных ранним раком молочной железы / У.Р. Мамедов, О.И. Костылева, В.Д. Ермилова, А.В. Масляев, И.К. Воротников // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2016. – Т. 19. – №11. – С. 44-49.

15. **Мамедов, У.Р.** Клиническая роль IGFBP-3 в сыворотке крови больных раком молочной железы T1-2N0M0 стадий / У.Р. Мамедов, О.И. Костылева, В.Д. Ермилова, А.В. Масляев, И.К. Воротников // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2017. – Т.20. – №6 – С. 28-34.