Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

Державна установа

«Національний інститут раку»

## Шуліга-Недайхлєбова Оксана Василівна

**УДК 618.19 – 006.3.04 – 037**

**Саркоми молочної залози:**

**прогностичні та предиктивні фактори**

**14.01.07 – онкологія**

**Автореферат**

**дисертації на здобуття наукового ступеня**

**кандидата медичних наук**

**Київ – 2008**

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Державній установі «Національний інститут раку»

**Наукові керівники:**

доктор медичних наук, професор

**СМОЛАНКА Іван Іванович,**

Державна установа «Національний інститут раку»,

керівник відділення пухлин грудної залози   
та її реконструктивної хірургії

доктор медичних наук, професор

**ГАЛАХІН Костянтин Олександрович,**

Державна установа «Національний інститут раку»,

керівник відділу патологічної анатомії

**Офіційні опоненти:**

доктор медичних наук

**КОЛЕСНІК Олена Олександрівна,**

Державна установа «Національний інститут раку»,

головний науковий співробітник

відділення пухлин органів черевної порожнини   
та заочеревинного простору

доктор медичних наук, професор

**ГИЧКА Сергій Григорович,**

Київський медичний інститут

Української Асоціації народної медицини,

завідувач кафедри патологічної анатомії

Захист відбудеться « 29 » жовтня 2008 р. о 13 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.560.01 при Державній установі «Національний інститут раку» (03022, м. Київ, вул. Ломоносова, 33/43)

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Державної установи «Національний інститут раку» (03022, м. Київ, вул. Ломоносова, 33/43)

Автореферат розісланий « 12 » вересня 2008 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради,

кандидат медичних наук С.О. Родзаєвський

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Саркоми молочної залози (СМЗ) є досить рідкісною та маловивченою онкологічною патологією, що за даними зарубіжних авторів у середньому складає 1% усіх злоякісних захворювань молочної залози (МЗ) ([Blanchard D.K.](http://www.scopus.com/scopus/search/submit/author.url?author=Blanchard%2c+D.K.&authorId=7201403093&origin=recordpage) et al., 2003; Chirife A.M. et al., 2006). За статистикою Національного канцер-реєстру України дане захворювання зустрічається у 0,4% випадків. СМЗ характеризуються високим агресивним потенціалом та низькими показниками (16−68%) п’ятирічної виживаності (Gutman H. et al., 1995).

У малочисельних публікаціях описуються лише поодинокі випадки СМЗ, які не мають узагальнюючого характеру репрезентативних досліджень (McGowan T.C. et al., 2000; **Pandey M. et al., 2004)**. Цей факт свідчить про недостатній клінічний досвід, як головну причину незадовільних результатів лікування.

Слід відзначити низьку інформативність існуючих методів діагностики цієї онкологічної патології. Вважається, що адекватна діагностика СМЗ не є прерогативою мамографії (Оджарова А.А и соавт., 1998; Бурдина Л.М.   
и соавт., 2003) та цитологічного дослідження (Karcnic T.J. et al., 1999; [Shinto O.](http://www.scopus.com/scopus/search/submit/author.url?author=Shinto%2c+O.&authorId=6504568788&origin=recordpage) et al., 2002). Частота правильних доопераційних діагнозів складає близько 25% ( Draghi F. et al., 1996).

Основним методом лікування хворих на СМЗ залишається хірургічний. Результати застосування променевої або протипухлинної терапії неоднозначні, а часто й суперечливі ( Shabahang M. et al., 2002; Confavreux C. еt al., 2006; Воротников И.К. и соавт., 2006). Вважається, що ці методи лікування в ад’ювантному режимі суттєво не впливають на прогноз хвороби через резистентний до лікувальних засобів фенотип пухлин (Roy P. et al., 2004).

На сьогодні стан проблеми медикаментозної чутливості в онкології докорінно змінюється. Досягнення сучасної генетики та молекулярної біології дозволяють переосмислити розуміння природи виникнення та прогресування злоякісних новоутворень. Впровадження в практику новітніх молекулярно-біологічних методів досліджень надають можливість визначати геномні порушення, які детермінують розвиток пухлини та рівень її чутливості до протипухлинної терапії, що сприяє проведенню лікування з урахуванням індивідуальних особливостей пухлини, її генетичних характеристик і поліпшенню показників виживаності пацієнтів.

Зокрема, це стосується досліджень низки таких молекулярних маркерів медикаментозної стійкості, як глутатіон‑S‑трансфераза (GST), Р‑глікопротеїн (P-gp) у злоякісних пухлинах, які характеризують низьку чутливість до протипухлинної терапії з включенням іфосфаміду, етопозиду, віналкалоїдів, таксанів, антрациклінових антибіотиків, платиновмісних препаратів (Тюляндин С.А., 1999; Ambudkar S.V. et al., 1999; Brinkmann U. еt al., 2001). Урахування фенотипової резистентності сприяє індивідуалізації лікування хворих та поліпшенню його ефективності.

Залишаються недослідженими особливості проведення гормональної терапії у хворих на СМЗ. Кількість досліджень з вивчення рецепторів стероїдних гормонів (естрогенових (ER) та прогестеронових (PR) у тканинах СМЗ незначна. Проте, інтерес дослідників до вивчення гормонального статусу пухлин підтверджує можливість альтернативних методів лікування цієї онкологічної патології (Wei-feng W. et al., 2000; Воротников И.К. и соавт., 2006).

Останнім часом багато уваги приділяється вивченню стану ангіогенезу і механізмів його регуляції, а також асоційованих з ним діагностичних, прогностичних параметрів (фактор росту ендотеліальних судин (VEGF), щільність васкуляризації (ЩВ) та терапевтичних мішеней (Folkman J., 1999; Niwano M. et al., 1999). Тому, одним з напрямів досліджень в онкології протягом останніх років є розробка антиангіогенної терапії хворих на злоякісні пухлини (Masferrer J.L. et al., 2000; Новак О.Е. та співавт., 2002).

Для оцінки перебігу хвороби сьогодні традиційно використовують клініко-морфологічні прогностичні фактори: розмір пухлини, гістотип, стадія хвороби, радикалізм хірургічних втручань (Coindre J.M. et al., 2001; Brennan M. et al., 2001; Мельник М.М., 2005). Цей підхід є консервативним і потребує пошуку нових патогенетично зумовлених прогностичних факторів, що мають безпосередній вплив на тактику лікування.

Слід зазначити, що лише окремі онкологічні клініки світу мають певний клінічний досвід діагностики та лікування хворих на СМЗ. На підставі проведеного патентно-інформаційного пошуку можна констатувати, що ця наукова проблема в Україні поки не вивчена. Беручи до уваги агресивність клінічного перебігу СМЗ, різноманітність їх морфологічної будови − вкрай доцільним є з’ясування існуючих клінічних підходів щодо планування лікувальної тактики з визначенням нових прогностичних та предиктивних факторів.

Узагальнюючи вищевикладене, можна констатувати, що сьогодні немає оптимізованих діагностично-лікувальних програм для хворих на СМЗ. Комплексне вивчення цієї проблеми дозволить обирати патогенетично адекватну тактику лікування та прогнозувати перебіг хвороби у цього контингенту пацієнтів, що є актуальною задачею в галузі онкомамології.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідної роботи відділення пухлин грудної залози та її реконструктивної хірургії Державної установи «Національний інституту раку»: «Розробити оптимальні методи комплексного лікування хворих на злоякісні новоутворення молочної залози з використанням біотерапії» (держреєстрація № 0106U000574; 2006 – 2008 рр.)

**Мета дослідження** – вивчення прогностичного та предиктивного значення маркерів медикаментозної резистентності, гормональної чутливості та ангіогенезу для СМЗ, шляхом зіставлення їх молекулярно-біологічних особливостей з клінічними параметрами і виживаністю хворих для проведення патогенетично адекватного й ефективного лікування.

**Завдання дослідження:**

1. Провести дослідження з вивчення особливостей клінічного перебігу, діагностично-лікувальних заходів у хворих на СМЗ в Україні.

2. Дослідити особливості експресії молекулярних маркерів, асоційованих з медикаментозною резистентністю (P-gp, GST), гормональною чутливістю (ER, PR) та ангіогенезом (VEGF, ЩВ) в СМЗ.

3. Оцінити прогностичне та предиктивне значення маркера медикаментозної резистентності P-gp в СМЗ.

4. Визначити прогностичне та предиктивне значення маркера медикаментозної резистентності GST в СМЗ.

5. Дослідити прогностичне та предиктивне значення ангіогенез асоційованого маркера VEGF в СМЗ.

6. Оцінити прогностичне та предиктивне значення інтратуморальної васкуляризації в СМЗ.

7. Встановити прогностичне та предиктивне значення рецепторів стероїдних гормонів (ER, PR) в СМЗ.

*Об’єкт дослідження:* саркоми молочної залози.

*Предмет дослідження:* експресія молекулярних маркерів, асоційованих із медикаментозною резистентністю (P-gp, GST), гормональною чутливістю (ER, PR) та ангіогенезом (VEGF, ЩВ) у СМЗ.

*Методи дослідження:* клінічний, морфологічний, імуногістохімічний, статистичний.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше в Україні проведено дослідження з вивчення клінічного перебігу, діагностики та результатів лікування хворих на СМЗ.

Продемонстровано фенотипову неоднорідність пухлин залежно від експресії молекулярних маркерів, асоційованих із медикаментозною резистентністю (P-gp, GST), гормональною чутливістю (ER, PR) та ангіогенезом (VEGF, ЩВ) в СМЗ.

Встановлено залежність між виживаністю хворих на СМЗ та експресією маркерів P-gp (r= - 0,5; P=0,0002), GST (r= - 0,34; P=0,018), VEGF (r= - 0,34; P=0,014) у клітинах пухлин, що свідчить про їх предиктивний характер та доцільність використання з метою визначення індивідуальної чутливості СМЗ до протипухлинної терапії і селективного добору пацієнтів з високим ризиком прогресування хвороби для проведення патогенетичного лікування.

Вперше, шляхом проведення багатофакторного аналізу, визначено новий фактор індивідуального прогнозу (P-gp) у хворих на СМЗ, що має безпосередній вплив на перебіг хвороби (t=2,09; P=0,037).

**Практичне значення одержаних результатів.** Обґрунтована доцільність визначення фепотипової належності пухлин залежно від експресії молекулярних маркерів, асоційованих із медикаментозною резистентністю (P-gp, GST), гормональною чутливістю (ER, PR) та ангіогенезом (VEGF, ЩВ) у хворих на СМЗ.

Визначення особливостей експресії білків P-gp, GST, VEGF дає можливість передбачати чутливість пухлинних клітин до медикаментозного лікування і планувати патогенетичну терапію хворих на СМЗ відповідно до індивідуальних характеристик пухлини та за рахунок цього поліпшити ефективність лікування.

Запропоновано імуногістохімічне дослідження (ІГХД) експресії молекулярного маркера P-gp в СМЗ в якості незалежного фактора прогнозу перебігу хвороби.

Практична спрямованість та доцільність результатів роботи відображена у трьох Деклараційних патентах України на корисну модель (№ 19648 від 15.12.2006; № 29861 від 25.01.2008; № 29862 від 25.01.2008).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантом особисто розроблено програму та здійснено планування клінічних досліджень. Узагальнено та проаналізовано матеріали щодо діагностики та лікування хворих на СМЗ. Особисто проведено збір, обробку та аналіз дослідженого матеріалу, сформульовано основні положення і висновки виконаної роботи. У роботах, написаних у співавторстві, реалізовані наукові ідеї здобувача.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи оприлюднені на: ХІ Міжнародному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2007); науково-практичній конференції молодих вчених (Харків, 2007); ІV Міжнародній медико-фармацевтичній конференції студентів і молодих вчених (Чернівці, 2007); ХІІ Міжнародному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2008).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 19 наукових праць: 4 статті у провідних фахових журналах, рекомендованих ВАК України,   
12 – тези і матеріали вітчизняних та міжнародних конгресів, з’їздів та конференцій, 3 Деклараційних патенти України на корисні моделі.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота написана українською мовою і складається зі вступу, восьми розділів, заключення, висновків, списку використаних джерел літератури.

Дисертацію викладено на 146 сторінках, ілюстровано 24 таблицями, 33 рисунками та 17 кольоровими фотографіями. Бібліографічний список літератури включає 210 джерел наукових праць (34 вітчизняних та 176 зарубіжних авторів).

### ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали та методи дослідження.** Дисертаційна робота базується на ретроспективних даних клінічних спостережень і результатів лікування 106 пацієнтів за період 1983−2003 рр. Оскільки дана патологія зустрічається вкрай рідко, нами у дослідження, окрім даних ДУ «Національний інститут раку» (20 пацієнтів), додатково залучено матеріали, відібрані з Тернопільського онкологічного диспансеру (49 пацієнтів) та міської онкологічної лікарні м. Києва (37 пацієнтів), на що є дозвіл вказаних закладів.

Згідно з планом дослідження, опрацьовано медичні карти амбулаторних та стаціонарних хворих, матеріали Національного канцер-реєстру України. Морфологічна верифікація гістопрепаратів і парафінових блоків повторно проведена у відділі патологічної анатомії   
(керівник – професор  К.О.  Галахін) ДУ «Національний інститут раку». Імунофенотипування пухлинних клітин проводили за допомогою реактивів фірми «DaкoCytomation, Данія» у відділі механізмів протипухлинної терапії (канд. біол. наук Лук’янова Н.Ю.) Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України під керівництвом академіка НАН України Чехуна В.Ф. Мікроскопічний аналіз та фотозйомка проведені на діагностичному комплексі (мікроскоп Zeiss, фотокамера   
Canon G5).

ІГХД експресії молекулярних маркерів, асоційованих із медикаментозною резистентністю (P-gp, GST), гормональною чутливістю (ER, PR) та ангіогенезом (VEGF, ЩВ), проведене на клінічному матеріалі 54 хворих на СМЗ. Середній вік пацієнтів − 57,3±2,1 роки, 75% хворих у віці 43–77 років, мінімальний вік становив 19, а максимальний – 83 роки.

На підставі результатів ІГХД молекулярних маркерів, асоційованих із медикаментозною резистентністю (P-gp, GST), гормональною чутливістю (ER, PR) та ангіогенезом (VEGF, ЩВ) встановлено, що експресія останніх характеризується гетерогенністю в тканині СМЗ.

Усіх хворих було розподілено на дві групи залежно від присутності (ПЕ) чи відсутності експресії (ВЕ) того чи іншого маркера (табл.1).

Таблиця 1

### Експресія молекулярних маркерів у клітинах СМЗ за даними ІГХД

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Молекулярний маркер | Експресія маркера клітинами СМЗ  (20 полів зору, ×400) | |
| ВЕ, абс.ч. (%) | ПЕ, абс.ч. (%) |
| P-gp | 30 (55,6) | 24 (44,4) |
| GST | 40 (74,1) | 14 (25,9) |
| VEGF | 34 (63,0) | 20 (37,0) |
| ER | 49 (90,7) | 5 (9,3) |
| PR | 51 (94,4) | 3 (5,6) |
| ЩВ | помірна | 17 (31,5) |
| низька | 37 (68,5) |

Статистична обробка результатів проведена з використанням програмного пакету Statistiсa 6.0. До проведення статистичного аналізу встановлювали закон розподілу у варіаційному ряді. Із сукупності даних розраховували: середнє арифметичне варіаційного ряду (), стандартне відхилення (+SD), медіану (Ме). Для міжгрупових порівнянь результатів за нормального розподілу використовувався параметричний F‑критерій, t‑критерій Стьюдента (за наявності нормального розподілу) чи непараметричні  –  тест  Крускаль-Валіса, критерій ч2.

Ступінь кореляційного зв’язку між окремими показниками при нормальному розподілі визначали за методом параметричної кореляції Пірсона (*r*), при відмінному від нормального – за методом непараметричної рангової кореляції Спірмена (rs). Оцінка виживаності проведена за методом Каплан-Мейера, порівняння кривих виживаності – з використанням логрангового критерію.

Значимість вкладу експресії досліджених маркерів у зміну показників виживаності хворих встановлювали з використанням регресійних моделей пропорційних ризиків Кокса. Отримані розрахунки вважались вірогідними при значенні відповідного критерію Р<0,05.

**Результати власних досліджень та їх обговорення.**

**Експресія білка P-gp та дослідження взаємозв’язку з клінічними параметрами і виживаністю.** У результаті ІГХД білка P-gp встановлено, що рівень його експресії не є однорідним у тканині СМЗ (табл.1).

Дослідження зв’язку експресії цього маркера з традиційними клінічними факторами прогнозу вказує на достовірну кореляцію лише з діаметром пухлини (r=0,45; P=0,001) та ступенем диференціювання новоутворення (r=0,4; P=0,044).

Збільшення розміру пухлини супроводжується зростанням експресії маркера та навпаки. Набуття пухлинними клітинами резистентного фенотипу за P-gp достовірно корелює зі ступенем злоякісності процесу. Так, низькодиференційовані СМЗ частіше експресують P-gp порівняно з високодиференційованими.

Для визначення прогностичної цінності експресії маркера P-gр, проведено порівняння однорічної, 3-, 5-річної загальної виживаності хворих з різною експресією білка тканиною пухлини.

Аналіз отриманих результатів показав, що виживаність у дослідженій групі достовірно корелює (r= - 0,5; P=0,0002) зі ступенем експресії білка P-gр.

Встановлена вірогідно нижча виживаність хворих на СМЗ, де мало місце експресування маркера: чим вищі показники експресії білка P-gр, тим нижча виживаність (рис. 1). Так, медіана виживаності у пацієнтів з ПЕ маркера P-gp склала 20 місяців, натомість з ВЕ – 34,5 місяці.

Рис. 1. Загальна виживаність хворих на СМЗ залежно від експресії білка P-gр клітинами СМЗ (метод Каплан-Мейера).

Однорічна виживаність хворих на СМЗ із ВЕ маркера P-gр на 20% вища, ніж у порівнюваній групі із ПЕ, 3-річна – на 36% та 5-річна – на 19% (рис. 2).

Рис 2. Виживаність пацієнтів з ВЕ та ПЕ маркера P-gр у тканині СМЗ.

Експресія в пухлинних клітинах молекулярного маркера P-gр зворотно пропорційно корелює з виживаністю хворих на СМЗ, що свідчить про його предиктивний характер та доцільність використання з метою визначення індивідуальної чутливості тканини СМЗ до протипухлинної терапії.

**Експресія білка GST та дослідження взаємозв’язку з клінічними параметрами, молекулярними маркерами і виживаністю.** У результаті ІГХД маркера GST з’ясували, що рівень експресії молекулярного білка не є однорідним у СМЗ (табл.1).

Аналіз між експресією маркера GST та основними клініко-морфологічними параметрами кореляційних зв’язків не виявив.

Простежено достовірний позитивний зв’язок (r=0,47; Р<0,001) між експресією маркерів GST та P-gp. Їхні величини збільшуються у прямо пропорційній прогресії  –  зростання експресії білка GST супроводжується вірогідним зростанням експресії білка P-gp та навпаки. Серед P‑gp‑негативних пухлинних клітин лише 15,4% експресують GST, натомість кількість GST-позитивних зразків серед резистентних по P-gp пухлин виявлена в 47,6% спостережень.

Виживаність хворих статистично достовірно корелює з експресією білка GST тканиною пухлини (r= - 0,34; P=0,02). З’ясовано, що вищою є загальна виживаність, де експресія цього маркера була відсутня. Так, медіана виживаності у пацієнтів з ПЕ склала 15 місяців, проти 34 з ВЕ маркера GST (рис.3).

Рис. 3. Загальна виживаність хворих на СМЗ залежно від експресії білка GST (метод Каплан-Мейера).

При формуванні фенотипу резистентності за GST, однорічна виживаність хворих на 32% нижча, ніж у порівнюваній групі без резистентності, 3-річна – на 18% та 5-річна – на 3% (рис.4).

Рис. 4. Виживаність пацієнтів з ВЕ та ПЕ маркера GST у тканині СМЗ.

Отже, доведено існування взаємозв’язку між експресією GST у тканині пухлини та виживаністю хворих на СМЗ, що свідчить про його предиктивний характер та доцільність застосування з метою визначення індивідуальної чутливості тканини СМЗ до протипухлинного лікування.

**Експресія білка VEGF та дослідження взаємозв’язку з клінічними параметрами, молекулярними маркерами і виживаністю.** СМЗ характеризуються неоднорідністю експресії білка VEGF(табл. 1).

Проведено пошук кореляційного зв’язку між експресією білка VEGF та основними параметрами злоякісності процесу. Встановлена статистично достовірна кореляція зі ступенем диференціювання тканини СМЗ (r=0,49; P=0,011). Експресія маркера найвища за низького ступеня диференціювання порівняно з такою за високого ступеня.

Важливим виявилося дослідження ангіогенезу в аспекті медикаментозної резистентності. Встановлено достовірний позитивний зв’язок (r=0,69; Р<0,001) між експресією маркерів VEGF та P-gp: їхні величини збільшуються у прямо пропорційній прогресії. Так, присутність білка VEGF у резистентних і чутливих клітинах по P-gp виявлена у 66,7% та 13,8% випадків відповідно.

Виживаність хворих залежить від експресії білка VEGF в пухлинних клітинах і є достовірно вищою у разі відсутності експресії даного маркера в тканині СМЗ (r= - 0,34; P=0,014).

Визначено вищий рівень виживаності пацієнтів за відсутності експресії даного маркера (рис. 5). Так, медіана виживаності у пацієнтів з ПЕ склала 19 місяців проти 32,5 з ВЕ білка VEGF.

Рис. 5. Загальна виживаність хворих на СМЗ залежно від експресії білка VEGF (метод Каплан-Мейера).

Однорічна виживаність хворих на СМЗ з ВЕ білка VEGF тканини пухлини на 17% вища, ніж у порівнюваній групі з ПЕ, 3-річна – на 11% та 5-річна – на 8% (рис.6).

Рис 6. Виживаність пацієнтів з ВЕ та ПЕ маркера VEGF у тканині СМЗ.

Кореляція експресії в пухлинних клітинах білка VEGF з виживаністю хворих на СМЗ свідчить про предиктивний характер маркера та доцільність використання при селективному доборі пацієнтів з високим ризиком прогресування хвороби для проведення антиангіогенної терапії.

**Щільність васкуляризації СМЗ та дослідження взаємозв’язку з клінічними параметрами, молекулярними маркерами і виживаністю.** Тканина СМЗ характеризується помірним (ПМВ) та низьким (НМВ) ступенем мікроваскуляризації (МВ) (табл.1).

Дослідження зв’язку МВ тканини СМЗ з традиційними факторами прогнозу вказує на позитивну достовірну кореляцію лише з такими параметрами, як діаметр пухлини (r=0,39; P=0,005) та ступінь диференціювання пухлинних клітин (r=0,58; P=0,002).

Дослідження зв’язку МВ тканини СМЗ з експресією білка VEGF показало позитивну кореляцію (r=0,47; P=0,0004) − зростання показників МВ супроводжується зростанням експресії білка VEGF та навпаки.

Продемонстровано статистично достовірний позитивний зв’язок (r=0,48; P=0,002) між МВ та експресією маркера P-gp. Показники інтратуморальної МВ значно вищі за умови експресії P-gp та навпаки.

Виживаність хворих на СМЗ не залежить від ЩВ тканини пухлини (t= - 0,18; P=0,2).

Експресія рецепторів стероїдних гормонів та дослідження взаємозв’язку з клінічними параметрами, молекулярними маркерами і виживаністю. На підставі ІГХД маркерів ER, PR в СМЗ з’ясували, що рівень експресії останніх не є однорідним. Відзначено різке переважання гормонорезистентних зразків СМЗ порівняно з чутливими (табл. 1).

У результаті аналізу рецепторного статусу хворих на СМЗ та його зіставлення з клініко-морфологічними факторами прогнозу, констатовано відсутність вірогідних кореляцій між цими критеріями.

Встановлена прямо пропорційна залежність між експресією маркерів ER та PR (r=0,6; P=0,00002): чим вища експресія ER, тим вища експресія PR та навпаки.

Заслуговують на увагу дослідження гормоночутливості в аспекті медикаментозної резистентності. Знайдено достовірний позитивний зв’язок (r=0,32; P=0,03) між експресією ER та GST – їхні величини збільшуються у прямо пропорційній прогресії.

Зіставлення отриманих результатів з виживаністю хворих не продемонструвало її залежності від гормоноприналежності тканини СМЗ як у випадку ER (r= - 0,22; P=0,12), так і PR (r= - 0,01; P=0,89).

**Особливості клінічного перебігу, діагностично-лікувальних заходів у хворих на СМЗ.** СМЗ виявлено в усіх вікових групах. Середній вік пацієнтів становить 54,7±1,4 роки. Пухлину однаково часто діагностували як у правій, так і в лівій МЗ. Аналіз темпів росту пухлини показав, що більшість хворих (79,2%) мають короткий анамнез захворювання – до року, що зумовлено стрімкими темпами розвитку хвороби. Клінічна картина СМЗ не вирізняється певною специфічністю. Відсутність вірогідних діагностичних критеріїв відображається і на частоті правильних попередніх клінічних діагнозів. Так, лише у 46,3% випадків при СМЗ первинний діагноз збігався з гістологічним діагнозом. Аналіз виконаних рентгенологічних обстежень показав, що інформативність мамографії не задовольняє клініцистів. Аналізуючи первинні цитологічні заключення у хворих на СМЗ та порівнюючи їх з операційними патогістологічними дослідженнями, констатували їх збіг лише у 50% випадків. При оцінці пріоритетного виду оперативного втручання встановлено, що збільшення його обсягу сприяє зменшенню вірогідності місцевої пролонгації хвороби.

Виживаність хворих на СМЗ низька. Так, медіана загальної виживаності складає 35,4 місяця. Наприкінці першого року померли 16% пацієнтів, трирічна виживаність склала 48%, а п’ятирічний рубіж пережили 28% осіб. Такий невтішний стан справ підтверджує актуальність проведення досліджень, спрямованих на розробку тактики індивідуалізованого лікування та визначення маркерів прогнозування перебігу хвороби у хворих на СМЗ.

**Фактори індивідуального прогнозу перебігу хвороби у пацієнтів на СМЗ.** З метою визначення факторів прогнозу виживаності хворих на СМЗ застосовано метод багатофакторного аналізу (регресійних моделей пропорційних ризиків Кокса) з оцінкою незалежної прогностичної цінності вірогідних факторів прогнозу (табл. 2).

Таблиця 2

**Вірогідні фактори прогнозу у хворих на СМЗ**

**(багатофакторний аналіз регресійних моделей**

**пропорційних ризиків Кокса)**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Фактори прогнозу | традиційні | Параметр | Загальна виживаність | |
| t | Р |
| Розмір пухлини | -0,76 | 0,44 |
| Ураження реґіонарних лімфоколекторів | 0,17 | 0,87 |
| Гістотип пухлини | 0,34 | 0,73 |
| Ступінь диференціювання | 1,7 | 0,08 |
| новітні | Щільність васкуляризації | -0,1 | 0,92 |
| GST | -1,38 | 0,17 |
| P-gp | 2,07 | 0,04 |
| ER | 1,99 | 0,06 |
| PR | -1,62 | 0,1 |
| VEGF | 0,22 | 0,82 |

Продемонстровано, що жоден із досліджених традиційних клінічних параметрів не можна вважати незалежним фактором прогнозування виживаності хворих на СМЗ. На підставі проведеного аналізу серед новітніх маркерів встановлено, що експресія білка Р-gp є достовірним незалежним фактором прогнозу виживаності хворих на СМЗ.

### ВИСНОВКИ

У дисертаційному дослідженні проведено теоретичне узагальнення і отримано нове практичне рішення наукової задачі щодо з’ясування прогностичного та предиктивного значення маркерів медикаментозної резистентності, гормональної чутливості та ангіогенезу, шляхом зіставлення їх молекулярно-біологічних особливостей з клінічними параметрами та виживаністю хворих на СМЗ.

1. СМЗ є рідкісною патологією (складають 0,4% усіх злоякісних пухлин МЗ) і у зв’язку з їх агресивним клінічним перебігом (п’ятирічна виживаність складає 28%), потребують проведення систематичного багатоцентрового кооперованого дослідження.

2. СМЗ характеризуються гетерогенним фенотипом щодо експресії молекулярних маркерів, асоційованих із медикаментозною резистентністю (P-gp, GST), гормональною чутливістю (ER, PR) та ангіогенезом (VEGF, щільність васкуляризації), що свідчить про необхідність індивідуалізованого підходу до планування патогенетично зумовленого лікування хворих на СМЗ та прогнозування перебігу хвороби.

3. Незалежним фактором прогнозу перебігу хвороби у хворих на СМЗ є молекулярний маркер P-gp (t=2,09; P=0,037); експресія в пухлинних клітинах білка P-gp корелює з виживаністю хворих на СМЗ (r= - 0,5; P=0,0002), що свідчить про предиктивний характер та доцільність його використання для визначення індивідуальної чутливості тканини СМЗ до протипухлинного лікування.

4. Маркер медикаментозної резистентності GST не має прогностичного характеру (t = - 1,38; P=0,17), однак експресія в пухлинних клітинах білка GST корелює з виживаністю хворих на СМЗ (r = - 0,34; P=0,018), що свідчить про предиктивний характер та доцільність його використання у селективному доборі пацієнтів з високим ризиком прогресування хвороби для проведення ад’ювантної терапії.

5. Маркер ангіогенезу VEGF не має прогностичного характеру (t=0,22; P=0,82), однак експресія білка VEGF корелює з виживаністю хворих на СМЗ (r= - 0,34; P=0,014), що свідчить про предиктивний характер та доцільність його використання для розробки лікувальних схем з включенням препаратів антиангіогенної дії.

6. Інтратуморальна мікроваскуляризація тканини СМЗ не має прогностичного (t= - 0,1; P=0,92) та предиктивного характеру (t= - 0,18; P=0,2) у хворих на СМЗ.

7. Маркери, асоційовані із гормональною чутливістю не мають прогностичного (ER (r= - 0,22; P=0,12), PR (r= - 0,01; P=0,89)) та предиктивного характеру (ER (t=1,99; P=0,06), PR (t= - 1,62; P=0,1) у хворих на СМЗ.

**ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

1. Набуття пухлинними клітинами фенотипу медикаментозної резистентності (P-gp, GST) та високого ангіогенного потенціалу (VEGF) корелює з агресивним перебігом хвороби, що диктує доцільність

використання більш активної лікувальної тактики у хворих на СМЗ, де виявляється експресування цих маркерів.

2. Імуногістохімічне дослідження експресії білків P-gp, GST, VEGF має практичне значення для визначення чутливості тканини пухлини до протипухлинної терапії, що слід врахувати при плануванні медикаментозного лікування хворих на СМЗ.

3. У практичній роботі онколога доцільною є оцінка експресії молекулярного білка P‑gp в СМЗ як незалежного фактора прогнозу перебігу хвороби.

**ПЕРЕЛІК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Шуліга-Недайхлєбова О. В. Злоякісні неепітеліальні пухлини молочної залози: сучасний стан проблеми / О. В. Шуліга-Недайхлєбова   
// Здоровье женщины. – 2007. – № 4 (32). – С. 170–174.

2. Ангіогенез і саркоми молочної залози / О. В. Шуліга-Недайхлєбова, К. О. Галахін, І. І. Смоланка, В. Ф. Чехун // Здоровье женщины. – 2008. – №1 (33). – С. 109–117.

(*Особистий внесок дисертанта: добір наукової літератури, аналіз предиктивної цінності ангіогенез асоційованих маркерів за результатами власних досліджень, написання та оформлення статті.*)

3. Шуліга-Недайхлєбова О. В. Діагностика і лікування хворих із саркомою молочної залози / О. В. Шуліга-Недайхлєбова, І. І. Смоланка, К. О. Галахін // Онкология. – 2008. – Т.10, №1. – С. 64–68.

(*Особистий внесок дисертанта: добір хворих, обробка отриманих даних, узагальнення результатів власних клінічних досліджень, написання та оформлення статті.*)

4. Саркоми молочної залози – прогноз хвороби в аспекті   
множинної медикаментозної стійкості / О.  В.  Шуліга-Недайхлєбова,   
Н. Ю. Лук’янова, К. О. Галахін, І. І. Смоланка, Д. О. Микитенко, В. Ф. Чехун // Онкология. – 2007. – Т.9, №4. – С. 353–357.

(*Особистий внесок дисертанта: добір та аналіз наукової літератури, узагальнення та подання результатів власних досліджень щодо прогностичної цінності маркерів медикаментозної стійкості, написання та оформлення статті.*)

5. Пат. на корисну модель 19648 Україна, МПК А 61 В 10/00. Спосіб прогнозування перебігу захворювання у хворих на саркому молочної залози / Галахін К. О., Смоланка І. І., Шуліга-Недайхлєбова О. В. ; заявник та власник патенту Інститут онкології АМН України. –   
№ u200608161 ; заявл. 20.07.06 ; опубл. 15.12.06, Бюл. № 12.

(*Особистий внесок дисертанта: реалізація ідеї, оформлення патенту, розподіл інтелектуальної власності – 34%.*)

6. Пат. на корисну модель 29862 Україна, МПК А 61 В 10/00. Спосіб прогнозування перебігу захворювання у хворих на злоякісні неепітеліальні пухлини молочної залози / Чехун В. Ф., Галахін К. О., Смолянка  І.  І., Лук’янова  Н.  Ю., Шуліга-Недайхлєбова  О.  В., Микитенко Д. О. ; заявник та власник патенту ДУ «Національний інститут раку» МОЗ України, ІЕПОР НАН України. – № u200711828 ; заявл. 26.10.07 ; опубл. 25.01.08, Бюл. № 2.

(*Особистий внесок дисертанта: реалізація ідеї, оформлення патент; розподіл інтелектуальної власності – 17%.*)

7. Пат. на корисну модель 29861 Україна, МПК А 61 В 10/00. Спосіб прогнозування виживаності хворих на м’якотканинні саркоми молочної залози / Чехун В. Ф., Захарцева Л. М., Галахін К. О., Смоланка І. І., Лук’янова Н. Ю., Шуліга-Недайхлєбова О. В. ; заявник та власник патенту ДУ «Національний інститут раку» МОЗ України, ІЕПОР НАН України. – № u200711827 ; заявл. 26.10.07 ; опубл. 25.01.08, Бюл. № 2.

(*Особистий внесок дисертанта: реалізація ідеї, оформлення патенту; розподіл інтелектуальної власності – 17%.*)

8. Шуліга-Недайхлєбова О. В. Фібросаркоми молочної залози в ракурсі гормоночутливості / О.  В.  Шуліга-Недайхлєбова, Н. Ю. Лук’янова, Д. О. Микитенко // ІV Міжнар. медико-фармацевтична конф. студентів та молодих вчених, 3 – 5 квітня 2007 р., Чернівці. – Опубл.: ХИСТ. Всеукр. мед. журн. молодих вчених. – 2007. – Вип. 9. – С. 137.

9. Шуліга-Недайхлєбова О. В. Ангіогенез – вплив на перебіг пухлинного процесу та мішень для патогенетичного лікування / О. В. Шуліга-Недайхлєбова // Актуальні питання комбінованих методів лікування в онкології : матеріали наук.-практ. конф. УТТРО, 10 – 11 жовтня 2006 р., Одеса. – Опубл.: Укр. радіол. журн. – 2006. – Т.14,   
вип. 3. – С. 367.

10. Шуліга-Недайхлєбова О. В. Саркоми молочної залози: «традиційні» фактори прогнозу / О.  В.  Шуліга-Недайхлєбова, К. О. Галахін, І. І. Смоланка, Т. І. Іванчук // Сучасні проблеми експериментальної і клінічної онкології : тези ІХ конф. молодих онкологів з міжнар. участю, 23 – 24 квітня 2008 р., Київ. – К., 2008. – С. 117.

11. Ангіогенез – вирішальний фактор оцінки перебігу злоякісного пухлинного процесу / К. О. Галахін, Е. Р. Денека, В. В. Баздирєв, С. П. Григорчук, М. В. Кошубарова, О. В. Шуліга-Недайхлєбова // ХІ з’їзд онкологів України : матеріали з’їзду, 29 травня – 02 червня 2006 р., Судак, АР Крим. – К., 2006. – С. 251.

12. Шуліга-Недайхлєбова О. В. Первинні саркоми молочної залози в ракурсі гормоночутливості / О. В. Шуліга-Недайхлєбова // ХІІ Міжнар. мед. конгрес студентів та молодих вчених : матеріали конгресу, 31 березня – 02 квітня 2008 р., Тернопіль. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2008. – С. 138.

13. Шуліга-Недайхлєбова   О.  В. Саркоми молочної залози: прогностичні та предиктивні фактори / О.  В.  Шуліга-Недайхлєбова, К. О. Галахін, І. І. Смоланка // ХІІ Міжнар. мед. конгрес студентів та молодих вчених : матеріали конгресу, 31 березня – 02 квітня 2008 р., Тернопіль. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2008. – С. 138.

14. Шуліга-Недайхлєбова О. В. Саркоми молочної залози (аспекти гістогенезу) / О. В. Шуліга-Недайхлєбова // ХІ ювілейний Міжнар. мед. конгрес студентів і молодих вчених: матеріали конгресу, 10 – 12 травня 2007 р., Тернопіль. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2007. – С. 162.

15. Новий підхід в оцінці прогнозу перебігу хвороби у пацієнтів із саркомами молочної залози / О. В. Шуліга-Недайхлєбова, К. О. Галахін, І. І. Смоланка, Т. І. Іванчук // Медична наука: сучасні досягнення та інновації : матеріали наук.-практ. конф. молодих вчених, 22 листопада 2007 р. – Харків, 2007. – С. 81–82.

16. Шуліга-Недайхлєбова О. В. Взаємозв’язок прогнозу перебігу хвороби в ракурсі множинної медикаментозної стійкості у хворих на саркоми молочної залози / О. В. Шуліга-Недайхлєбова, К. О. Галахін, І. І. Смоланка, Т. І. Іванчук // Медична наука: сучасні досягнення та інновації : матеріали наук.-практ. конф. молодих вчених, 22 листопада 2007 р. – Харків, 2007. – С. 82.

17. Шуліга-Недайхлєбова  О.  В. Прогнозування перебігу захворювання у хворих на злоякісні неепітеліальні пухлини молочної залози / О. В. Шуліга-Недайхлєбова, К. О. Галахін, І. І. Смоланка   
// Медична наука: сучасні досягнення та інновації : матеріали наук.-практ. конф. молодих вчених, 23 листопада 2006 р. – Харків, 2006.− С. 76.

18. Шуліга-Недайхлєбова О. В. Гістогенетичні шляхи злоякісної трансформації стромального компонента молочної залози. Онконозологічні різновиди сарком молочної залози / О. В. Шуліга-Недайхлєбова, К. О. Галахін, І. І. Смоланка // Сучасні проблеми експериментальної і клінічної онкології : тези VІІІ конф. молодих онкологів з Міжнар. участю, 26–27 квітня 2007 р., Київ. – К., 2007. – С. 86.

19. Шуліга-Недайхлєбова О.В. Ангіогенез – вплив на перебіг пухлинного процесу та чутливість до медикаментозного лікування / О. В. Шуліга-Недайхлєбова, К. О. Галахін, І. І. Смоланка // Молекулярні основи і клінічні проблеми резистентності до лікарських засобів : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 2–3 листопада 2006 р., Київ. – Опубл.: Онкология. – 2006. – Спец. вип. – С. 70.

### АНОТАЦІЯ

**Шуліга-Недайхлєбова О.В. Саркоми молочної залози: прогностичні та предиктивні фактори.** – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.07 – онкологія. Державна установа «Національний інститут раку», Київ, 2008.

Дисертація присвячена дослідженню прогностичного та предиктивного значення маркерів медикаментозної резистентності, гормональної чутливості та ангіогенезу, шляхом зіставлення їх молекулярно-біологічних особливостей з клінічними параметрами та виживаністю хворих на саркоми молочної залози (СМЗ).

Вперше показано фенотипову гетерогенність пухлин залежно від експресії молекулярних маркерів, асоційованих з медикаментозною резистентністю (P-gp, GST), гормональною чутливістю (ER, PR) та ангіогенезом (VEGF, ЩВ) у хворих на СМЗ.

Досліджено кореляцію експресії білків з традиційними маркерами прогнозу. Встановлено кореляційний зв’язок між експресією молекулярних маркерів P-gp, GST, VEGF та виживаністю хворих на СМЗ. Показано, що підвищена їх експресія визначає несприятливий перебіг хвороби та низьку медіану виживаності хворих на СМЗ. Встановлено, що експресія білка P-gp є незалежним фактором прогнозу виживаності хворих на СМЗ.

На основі комплексного дослідження визначено значення молекулярних маркерів, асоційованих з медикаментозною резистентністю, гормональною чутливістю та ангіогенезом у прогнозуванні перебігу хвороби та чутливості хворих на СМЗ до протипухлинної терапії.

**Ключові слова:** саркома молочної залози, медикаментозна резистентність, гормональна чутливість, ангіогенез, прогноз, терапія.

### АННОТАЦИЯ

**Шулига-Недайхлебова О.В. Саркомы молочной железы: прогностические и предиктивные факторы.** – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.07 – онкология. – Государственное учреждение «Национальный институт рака», Киев, 2008.

Диссертация посвящена изучению прогностического и предиктивного значений маркеров лекарственной резистентности, гормональной чувствительности и ангиогенеза, путем сопоставления их молекулярно-биологических особенностей с клиническими параметрами и выживаемостью больных саркомой молочной железы (СМЖ).

В результате иммуногистохимических исследований установлена фенотипическая гетерогенность опухолей в зависимости от экспрессии молекулярных маркеров, ассоциированных с лекарственной резистентностью (P-gp, GST), гормональной чувствительностью (ER, PR) и ангиогенезом (VEGF, плотность васкуляризации) у больных СМЖ.

Установлена корреляционная связь экспрессии молекулярных белков с традиционными клиническими параметрами прогноза.

Показано, что приобретение опухолевыми клетками резистентного фенотипа по P-gp достоверно коррелирует с увеличением злокачественного потенциала и размером опухоли.

Такая же достоверная прямая зависимость установлена между размером опухоли и плотностью васкуляризации (ПВ).

Потеря опухолевыми клетками способности к дифференцировке сопровождается повышением показателей экспрессии ангиогенез ассоциированных маркеров: VEGF и ПВ.

Формирование фенотипа лекарственной резистентности по маркеру P-gp сопровождается увеличением показателей ПВ и наоборот. Анализ экспрессии белка VEGF при разной васкуляризации ткани СМЖ показал прямую зависимость между экспрессией белка VEGF и ПВ.

Наряду с этим, доказана корреляционная зависимость экспрессии молекулярных маркеров, ассоциированных с лекарственной резистентностью, гормональной чувствительностью, ангиогенезом и выживаемостью больных СМЖ.

Показано, что повышенная экспрессия молекулярных белков P-gp, GST, VEGF сопровождается неблагоприятным течением заболевания и низкой медианой выживаемости у больных СМЖ.

Определение особенностей экспресии маркеров P-gp, GST, VEGF позволяет предвидеть чувствительность опухоли к лекарственной терапии и планировать патогенетически обоснованную терапию больных СМЖ в соответствии с индивидуальными характеристиками опухоли для улучшения эффективности лечения.

Проведена оценка независимой прогностической ценности таких параметров, как размер опухоли, степень дифференцировки, гистотип опухоли, поражение регионарных лимфоколлекторов, экспрессия белков P-gp, GST, VEGF, ER, PR, ПВ у больных СМЖ.

Достоверно установлено, что только экспрессия молекулярного белка Р-gp среди изучаемых маркеров является независимым фактором прогноза выживаемости больных СМЖ.

Таким образом, в диссертационной работе определено значение молекулярных маркеров, ассоциированных с лекарственной резистентностью, гормональной чувствительностью и ангиогенезом в прогнозировании течения болезни и чувствительности больных СМЖ к противоопухолевой терапии.

**Ключевые слова:** саркома молочной железы, лекарственная резистентность, гормоночувствительность, ангиогенез, прогноз, лечение.

### SUMMARY

Shuliga-Nedaykhlebova O.V. Breast sarcoma: prognostic and predictor factors. – Manuscript.

The dissertation for the candidate of medical sciences degree in a speciality 14.01.07 − oncology. State institute «National cancer institute», Kyiv, 2008.

The dissertation is devoted to studying prognosis and predictor values of markers of drug resistance, hormonal sensitivity and angiogenesis, by comparison of their molecular-biological features to clinical parameters and survival rate of patients on a breast sarcoma.

As a result imunohistochemical researches it is shown phenotypic heterogeneity of tumors depending on expression molecular markers, associated with drug resistance (P-gp, GST), hormonal sensitivity (ER, PR) and angiogenesis (VEGF, microvessels density) at patients breast sarcoma.

It is shown, that raised expression molecular factors P-gp, GST, VEGF it is accompanied by adverse current of disease and a low median of life expectancy at patients breast sarcoma.

Definition of features molecular expression fibers P-gp, GST, VEGF allows to expect sensitivity of a tumor drug therapy and to plan pathogenesis the proved therapy of breast sarcoma patients in conformity to individual characteristics of a tumor and to improve efficiency of treatment.

As a result of the lead analysis, it is authentically proved, that only P-gp is the independent factor between learning of the forecast of survival rate of patients on breast sarcoma.

Thus, on the basis of complex research value of molecular markers, associated with drug resistance, hormonal sensitivity, angiogenesis in forecasting course of disease and sensitivity of patients breast sarcoma antineoplastic therapy is certain.

**Keywords**: breast sarcoma, drug resistance, hormonal sensitivity, angiogenesis, the forecast, treatment.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

ВЕ відсутність експресії молекулярного маркера

ІГХД імуногістохімічне дослідження

МВ мікроваскуляризація

МЗ молочна залоза

СМЗ саркома молочної залози

ПЕ присутність експресії молекулярного маркера

ЩВ щільність васкуляризації

ER estrogen receptors (естрогенові рецептори)

GST glutathione-S-transferase (глютатіон-S-трансфераза)

P-gp P-glycoprotein (P-глікопротеїн)

VEGF vascular endothelial growth factor (фактор росту ендотеліоцитів судин)

PR progesterone receptors (прогестеронові рецептори)

Підписано до друку 08.09.08. Формат 60х84 1/16

Папір офісний. Друк ризографія.

Умов. друк.арк. 0,9. Наклад 100 примірників. Зам.05/17.

Видавництво «КОРАЛ»

м. Київ, вул. Глибочицька, 17, тел. (044) 205-58-57, 228-12-55

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>