

**федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии  
имени Н.Н. Блохина»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

*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

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

**Научный консультант:**  
доктор медицинских наук, профессор  
**Воротников Игорь Константинович**

Москва — 2019

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>Введение .....</b>	<b>6</b>
<b>Глава I Инсулиноподобные факторы роста и их связь с тканевыми и сывороточными маркерами в прогрессии опухолевого роста (обзор литературы).....</b>	<b>23</b>
1.1 Общая характеристика системы инсулиноподобного фактора роста (системы-IGF).....	24
1.2 Роль системы-IGF в этиологии и механизмах прогрессии злокачественных новообразований.....	32
1.3 Стратегии ингибирования системы-IGF.....	37
1.4 Матриксные металлопротеазы и система IGF .....	39
1.5 Система-uPAR/uPA и ее взаимосвязь с системой IGF .....	44
1.6 Интерлейкины и рост опухоли .....	47
1.7 Система Fas в норме и патологии.....	52
<b>Глава 2 Материалы и методы исследования.....</b>	<b>57</b>
2.1 Характеристика больных раком молочной железы.....	57
2.2 Лечение больных РМЖ .....	67
2.3 Специальные лабораторные методы исследования .....	68
2.4 Статистический анализ полученных результатов .....	72
<b>Глава 3 Система инсулиноподобных факторов роста и их транспортных белков в сыворотке крови больных раком молочной железы T1N0M0 и T2N0M0 стадий (результаты собственных исследований).....</b>	<b>73</b>
3.1 Показатели IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и здоровых женщин .....	73
3.2 Связь содержания сывороточного IGF-I с основными клиническими факторами у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий .....	74

3.3	Показатель IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в контроле .....	78
3.4	Связь содержания сывороточного IGF-II с основными клиническими факторами у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий .....	79
3.5	Показатель IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в контроле .....	88
3.6	Связь содержания сывороточного IGFBP-1 с основными клиническими характеристиками РМЖ .....	89
3.7	Показатель IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в контроле .....	96
3.8	Связь содержания сывороточного IGFBP-3 с основными клиническими факторами РМЖ T1-2N0M0 стадий .....	98
3.9	Взаимосвязь маркеров IGF-I, IGF-II, IGFBP-1 и IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в контроле .....	104

#### **Глава 4 Сывороточные и тканевые маркеры (MMP-2, uPA, IL-6, sFas)**

##### **у больных раком молочной железы T1N0M0 и T2N0M0 стадий**

##### **(результаты собственных исследований)..... 111**

4.1	Показатель MMP-2 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в контроле .....	111
4.2	Содержание MMP-2 в ткани опухоли больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий .....	116
4.3	Содержание uPA в ткани опухоли больных РМЖ. ....	121
4.4	Содержание IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в контроле .....	128
4.5	Концентрация sFas в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в контроле .....	135

#### **Глава 5 Показатели безрецидивной выживаемости больных**

##### **раком молочной железы T1-2N0M0 стадий с учетом клинико-**

##### **морфологических факторов и уровня биохимических маркеров**

##### **(результаты собственных исследований)..... 140**

5.1	Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от содержания uPA в ткани опухоли .....	142
5.2	Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом уровня IL-6 в сыворотке крови .....	144
5.3	Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом исходного уровня IGF-I в сыворотке крови .....	147
5.4	Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом уровня IGF-II в сыворотке крови.....	150
5.5	Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом уровней IGFBP-1, определенных в сыворотке крови .....	155
5.6	Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом исходных уровней IGFBP-3, определенных в сыворотке крови .....	156
5.7	Связь показателя MMP-2 в сыворотке крови и ткани опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с отдаленными результатами лечения .....	158
5.7.1	Связь показателя MMP-2 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с показателями безрецидивной выживаемости .....	158
5.7.2	Связь уровней MMP-2 в ткани опухоли с показателями безрецидивной выживаемости у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий.....	160
5.8	Безрецидивная выживаемость больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от уровней sFas в сыворотке крови.....	161
5.9	Связь отдаленных результатов лечения больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в сочетании с некоторыми исследованными сывороточными и тканевыми маркерами.....	163

5.10	Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий при различных биологических подтипах опухолей и уровнях биохимических маркеров .....	167
5.11	Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом уровня исследованных биохимических маркеров и вида проводимого лечения.....	169
<b>Глава 6 Обсуждение полученных результатов .....</b>		<b>179</b>
<b>Выводы.....</b>		<b>205</b>
<b>Практические рекомендации.....</b>		<b>208</b>
<b>Список сокращений .....</b>		<b>209</b>
<b>Список литературы.....</b>		<b>212</b>

## ВВЕДЕНИЕ

### **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 [29; 71; 77; 78]. Это заболевание по-прежнему не теряет своей актуальности для медицинского сообщества, сохраняя лидирующие позиции среди социально значимых патологий [7; 67]. Так, если заболеваемость злокачественными новообразованиями (ЗНО) в целом достигает максимума к 70-80 годам, то пик манифестации РМЖ, составляющего 29% от всех ЗНО, приходится на возраст более 60 лет. РМЖ — это одна из доминантных причин смерти среди женщин в возрасте от 44 до 60 лет [31]. Мировая статистика свидетельствует о следующем: ежегодно в мире регистрируется 1,4 млн случаев РМЖ. Летальным исходом 521 тыс. женщин [7]. Ежедневно в мире регистрируется около 4 тыс. больных РМЖ, а каждый час на планете погибают 52 женщины [Материалы Российского общества клинической онкологии, 2015; WHO/International Agency for Research on Cancer: <http://www.iarc.fc>].

Проблема РМЖ в 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 [1]. При этом, заболеваемость РМЖ в России также неуклонно растет. Такая динамика роста заболеваемости объясняется новым качественным уровнем диагностического ресурса онкологической помощи населению [67].

Несмотря на то, что существуют современные высокоэффективные методы диагностики РМЖ, в том числе и начальных его форм, а также разработаны эффективные методы лечения, ежегодно в нашей стране от РМЖ умирает чуть менее половины пациенток (43%) с впервые установленным диагнозом. Это связано с тем фактом, что РМЖ в I стадии выявляют только у 21,4% пациенток

[33, GLOBOGAN 2012]. Кроме того, частота впервые выявленного местнораспространенного РМЖ, составила 23,8% от всех случаев РМЖ. При этом в абсолютных числах наблюдается увеличение количества заболевших РМЖ с III стадией в 2012 г. в сравнении с 2007 г. (14170 и 13360 соответственно).

Для России РМЖ представляет важную социально-экономическую проблему, так как, прежде всего этим заболеванием страдают женщины трудоспособного возраста и большинство в запущенных стадиях опухолевого процесса [1; 56].

Кроме того, в нашей стране отсутствует программа диагностики РМЖ в начальной I стадии, когда лечение наиболее эффективно, существенно снижена себестоимость терапии, отмечено быстрое восстановление трудоспособности этой категории пациенток и все это отражено в высоких показателях безрецидивной и общей выживаемости [7; 63; 64; 77].

Известно, что клиническое течение и возможности терапии РМЖ, в первую очередь определяются распространенностью процесса, биологическими характеристиками опухоли, а именно, экспрессией рецепторов эстрогенов (РЭ) и прогестерона (РП), белка Her2-neu в опухоли, степенью злокачественности и биологическим подтипом новообразования, индекса пролиферации Ki-67, а также возраста пациенток и их гормонального статуса и прежде всего функции яичников [2; 64; 78; 149; 198].

Большинство исследователей считают убедительно доказанной роль молекулярно-генетических нарушений ряда генов, которые могут служить пусковым механизмом в развитии определенного вида злокачественных новообразований [37; 52; 83; 277].

Активно продолжается поиск мишеней целенаправленной терапии и маркеров для оценки прогноза раннего рецидива болезни не только в эксперименте, но и в клинических исследованиях [48; 50; 264]. В ряде случаев, довольно сложно оценить метастатический потенциал и биологическую агрессивность начальных форм РМЖ, следовательно, его прогноз и соответственно выбор наиболее эффективного лечения [246; 350]. В России РМЖ

T1-2N0M0 стадий мало изучен. Следует также отметить, что проблема биологической гетерогенности опухоли и ее роли в клиническом течении РМЖ T1-2N0M0 стадий также изучена недостаточно не только в России, но и в зарубежных исследованиях [35; 51; 234].

В настоящее время одной из важных задач клинической онкологии считается идентификация роли различных белков и сигнальных путей, регулирующих злокачественный потенциал опухолевых клеток [10; 32; 51; 74; 335]. Как известно, опухолевые клетки в процессе их роста и селекции приобретают дополнительные свойства, позволяющие им не только выживать, активно пролиферировать, но и инвазировать в окружающие ткани, лимфатические и кровеносные сосуды, выживать в кровеносном русле, противостоять клеткам иммунной системы, прикрепляться и проникать в органы-мишени, и в конечном итоге пролиферировать в новом микроокружении, создавая очаги вторичного роста — метастазы [21; 24; 25; 30; 38; 316].

Несмотря на появление новых методов диагностики РМЖ, часто обнаруживают уже в ходе процесса метастазирования [56]. Это клинически значимое явление невозможно предотвратить без знания и понимания факторов, участвующих в механизмах опухолевого роста, а именно, в процессах пролиферации, апоптоза, неоангиогенеза, инвазии и метастазирования новообразований [15; 28; 34; 42; 53; 335]. Перечисленные выше характеристики опухолевых клеток являются результатом как многочисленных изменений активности ряда факторов роста и их рецепторов, регулируемых отдельными генами, так и целых комплексов биологически активных веществ, передающих внутриклеточные и дистанционные сигналы [50; 51; 195].

Поэтому, в последнее десятилетие осуществляется активный поиск и изучение различных маркеров и сигнальных систем, характеризующих биологический потенциал опухоли, их склонность к инвазии и метастазированию [198]. Разработка высокочувствительных методов обнаружения молекулярных маркеров у больных РМЖ позволит: 1) создать эффективные диагностические системы, 2) подобрать оптимальную индивидуальную тактику лечения, 3)



выделит новые мишени для разработки современных таргетных препаратов [277; 350].

Следует отметить, что несколько десятилетий используют клинимоρφологические характеристики первичной опухоли (глубина опухолевой инвазии, гистологический вариант, стадия заболевания (TNM), индекс пролиферативной активности и др.) с целью определения риска метастазирования, раннего рецидивирования и прогноза РМЖ [153; 271]. Однако, агрессивность опухолевого процесса не всегда может быть определена этими критериями. Поэтому, в настоящее время проводится активный поиск дополнительных маркеров, которые позволяют предсказывать высокий риск опухолевой прогрессии.

Исследование особенностей биологических характеристик опухоли и выделение биологических подтипов РМЖ, является одной из наиболее актуальных проблем клинической онкологии [37; 329]. Среди большого числа молекулярно-биологических показателей, которые могут влиять 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) [103; 138; 146; 185; 216]. Известно, что IGF-I и IGF-II синтезируются клетками различных опухолей, в том числе и РМЖ, и являются ауто/паракринными медиаторами, участвующими в механизмах роста, инвазии и метастазирования злокачественных клеток [90; 91]. Помимо исследования роли компонентов системы-IGF в этиологии и патогенезе РМЖ, большое внимание уделяется изучению этих биологически активных молекул как потенциальных диагностических, прогностических и предсказательных маркеров, а также возможных мишеней для молекулярно-направленной (таргетной) терапии.

Одним из основных механизмов инвазии злокачественных опухолей является разрушение окружающей базальной мембраны и внеклеточного матрикса (ВКМ) ассоциированными с опухолью протеазами, играющими также важную роль в процессах метастазирования [17; 45; 46; 158; 159; 258]. В

опухолевой инвазии задействовано несколько классов протеаз и среди них группа матриксных металлопротеиназ (ММР), способных специфически гидролизовать основные белки ВКМ, в первую очередь, различные типы коллагена [26; 39; 40; 134; 370]. Важными представителями ММР являются матрилизин (ММР-7) и желатиназы (ММР-2, ММР-9) [20; 22; 100]. Для ММР доказано увеличение их экспрессии в опухолях различного генеза, причем их активация происходит по паракринному механизму с участием факторов роста и цитокинов, секретируемых инфильтрирующими опухоль макрофагами и лимфоцитами, а также клетками опухолевой стромы [17; 18]. Появились данные, свидетельствующие о том, что ММР играют важную роль в регуляции роста клеток РМЖ, а также обладают проангиогенными свойствами: к ним относятся ММР-1 [134; 237], ММР-2 [300], ММР-9 [336]. Однако влияние ММР на клиническое течение и прогноз РМЖ изучен недостаточно, хотя различные ММР рассматривают в качестве возможных биологических маркеров, характеризующих основные клинико-морфологические особенности опухоли, ее биологическое «поведение», следовательно, прогноз и лекарственную чувствительность [311]. Кроме того, полагают, что использование природных и синтетических ингибиторов ММР — перспективный подход к противоопухолевой терапии при выявлении секреции опухолью соответствующих мишеней [200; 378].

В клинических исследованиях показана прогностическая значимость uPA и PAI-1 в опухоли больных РМЖ и это, прежде всего, высокий риск рецидива заболевания даже при начальных стадиях, при условии, что уровень этих белков превышает определенные пороговые значения [8; 11; 159; 266; 348]. Многофакторный анализ свидетельствует о том, что активаторы плазминогена и их тканевые ингибиторы являются независимыми факторами прогноза у больных РМЖ [93], а uPA — даже от наличия экспрессии ErbB2 в опухоли [358]. В настоящее время уже представлена доказательная база I уровня: это проспективное рандомизированное кооперированное исследование, включавшее около 600 больных с начальными стадиями РМЖ [219] и объединенный многофакторный анализ данных 18 исследовательских групп, включавший в

целом 8377 больных [257]. В этих исследованиях показано, что высокие уровни uPA и PAI-1 следует использовать как независимые факторы неблагоприятного прогноза РМЖ, более значимые, чем размер, степень злокачественности и рецепторный статус опухоли, возраст пациенток. В связи с этим, их определение у больных РМЖ T1-2N0M0 стадиями уже в то время могло бы быть рекомендовано для выявления подгрупп с повышенным риском рецидивирования и метастазирования, требующих более интенсивного лечения и наблюдения [197; 348]. В целом, анализ взаимосвязи содержания компонентов системы активации плазминогена в опухолях с клинико-морфологическими особенностями заболевания подтверждает противоположную направленность изменений внутриопухолевой концентрации uPA и PAI-1, с одной стороны, и tPA, с другой [161]. При некоторых локализациях наибольшей инвазивностью и метастатическим потенциалом, если судить по уровню и соотношению изученных компонентов системы активации плазминогена, обладают опухоли на ранних этапах метастазирования [266; 348]. Вместе с тем, не во всех исследованиях установлена четкая взаимосвязь изученных показателей с основными клинико-морфологическими факторами, характеризующими их инвазивную и метастатическую активность, но это не исключает их потенциальной роли в качестве независимых факторов прогноза выживаемости больных [161]. Представленные в литературе данные свидетельствуют об усилении активации uPA, что способствует инвазии и метастазированию злокачественных опухолей [197], а анализ соотношения uPA/PAI-1 очень важен у больных тройным негативным РМЖ. При этом опухолевые клетки эффективно защищают себя от саморазрушения за счет увеличения экспрессии ингибитора PAI-1.

В регуляции воспалительных и пролиферативных процессов большую роль играют цитокины — универсальные медиаторы, обеспечивающие согласованность иммунной, эндокринной и нервной систем в норме и при развитии онкологических заболеваний [6; 80; 317]. Цитокины обеспечивают не только межсистемные, но и межклеточные взаимодействия: стимулируют или подавляют рост клеток, их дифференцировку, функциональную активность, а

также определяют выживаемость клеток — апоптоз [296; 317]. Так как цитокины являются антигеннеспецифическими факторами, в диагностике онкологических заболеваний их не используют. Вместе с тем, применение антител к ИЛ-6, как ключевому провоспалительному цитокину при вышеуказанных заболеваниях, может иметь практическое значение [46; 347]. Кроме того, определение концентрации цитокинов в крови позволяет не только получить информацию о функциональной активности различных иммунокомпетентных клеток, но и судить о тяжести опухолевого процесса и его прогнозе [49; 207; 262]. Доказано, что при развитии опухолей некоторые цитокины, такие как ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-16, TGF- $\alpha$ , могут продуцироваться опухолевыми клетками и даже в малых концентрациях стимулировать по аутокринному механизму рост первичных и метастатических опухолей [6; 61; 92; 301]. И это позволяет использовать их в качестве прогностических факторов у онкологических больных [46; 239; 301; 383]. Наиболее интересны для практической онкологии исследования последних лет, авторы которых выявили высокое содержание ИЛ-6 в крови больных раком яичников, что позволило рассматривать этот цитокин в качестве маркера агрессивного течения заболевания [193]. Особое внимание исследователей к ИЛ-6 привлекает группа больных РМЖ начальных стадий, для выявления среди них потенциально агрессивных новообразований, склонных к раннему рецидивированию.

Таким образом, РМЖ у женщин следует считать современной и наиболее актуальной проблемой в мире, заболеваемость которым из года в год неуклонно увеличивается. При этом число больных РМЖ T1-2N0M0 стадий также будет неуклонно расти в связи с разработкой программ ранней или так называемой «своевременной диагностики» этого заболевания в России. Поэтому, на повестке у современных врачей онкологов стоят не только вопросы рациональных методов диагностики РМЖ T1-2N0M0 стадий, но и проблема изучения биологической гетерогенности этих опухолей, чтобы прогнозировать риск возникновения раннего рецидива заболевания, с целью оптимизации целенаправленной лечебной стратегии этих пациенток.

## **ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Улучшение диагностики и 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 прогнозировании 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-neu, 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, определение 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.

### **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.

На основании анализа отдаленных результатов лечения больных РМЖ T1-2N0M0 стадий определены пороговые уровни наиболее значимых и независимых биологических тканевых (uPA, MMP-2) и сывороточных (IGF-II, MMP-2, IL-6, sFas) маркеров, повышение которых характеризует агрессивный биологический потенциал опухоли, а именно, склонность к раннему рецидивированию заболевания (в первые 3 года от начала лечения).

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. При этом, уровни этих белков не отражали стадию, гистологический строение, экспрессию РЭ, РП в опухоли. Они не могут быть использованы в выявлении РМЖ T1-2N0M0 стадий, так как показатели их чувствительности и специфичности не достигают диагностической значимости и могут быть использованы в оценке прогноза заболевания. Обнаружено достоверно 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 высокое содержание uPA в опухоли по сравнению с неизменной тканью молочной железы, при T2N0M0 стадии, чем при T1N0M0. Кроме того, уровни uPA связаны с гистологическим строением РМЖ и существенно повышены при низкой (G-3) степени его дифференцировки, не связаны с уровнями экспрессии рецепторов Her2-neu, РЭ, РП, биологическим подтипом опухоли, однако самая низкая медиана маркера выявлена при «люминальном А», а наибольшие в группе пациенток с подтипом Her2-neu+ и «тройном негативном» РМЖ.

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 РЭ-, РП- и Her2-neu+ опухолями, и достоверно ниже при «люминальном А» подтипе РМЖ. Показано, что у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий сывороточный MMR-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.

Показано, что частота выявления рецидива у больных РМЖ с T1N0M0 стадией связана с биологическим подтипом новообразования: рецидивы выявлены только в 2,1% наблюдений при «люминальном А» РМЖ, а при наличии экспрессии белка Her2-neu в опухоли риск развития рецидива увеличивался в 2,9 раза ( $p=0,045$ ). У больных РМЖ с T2N0M0 стадией частота выявления рецидива тесно связана со степенью дифференцировки опухоли и неблагоприятным ее рецепторным статусом: относительный риск рецидива РМЖ в трех группах РЭ-, РП-, Her2-neu+ опухолей составил соответственно 4,4, 2,9 и 4,2 раза ( $p<0,0001$ ).

Установлено, что вид и объем проводимого лечения связан с частотой развития рецидива у больных с T1N0M0 и T2N0M0 стадиями РМЖ. Рецидивы не были выявлены у больных РМЖ с T1-2N0M0 стадиями после проведения гормонотерапии и полихимиотерапии, а также после комплексного лечения (операция+гормонотерапия+лучевая терапия), даже при неблагоприятных уровнях маркеров, показатель 10-летней безрецидивной выживаемости составил  $80,8 \pm 11,1\%$ . Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости высокодостоверно снижались до  $12,2 \pm 6,4\%$  при одновременном выявлении у пациенток трех и более сывороточных маркеров с неблагоприятными их уровнями.

## **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, а именно, лиганды (IGF-I, IGF-II) и связывающие их белки в сыворотке крови (IGFBP-1, IGFBP-3), маркеры



инвазии (MMP-2, uPA), пролиферативной активности (Ki-67), гормональной (PЭ, РП) и лекарственной чувствительности (Her-2) опухоли в диагностике и предсказании раннего (в первые 3 года от начала лечения) рецидива заболевания этой гетерогенной группы новообразований. Оценка биологических особенностей РМЖ начальных стадий проведена с учетом современных фенотипов опухоли, теоретических и научных представлений о роли выше исследованных маркеров в прогрессии опухолевого процесса. Сформулированы научно-обоснованные гипотезы о клинической роли митогенного пути системы-IGF и ряда других биологических маркеров в диагностике, прогрессировании и прогнозе 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  $\geq 60,0$  нг/мл; IL-6  $\geq 2,4$  нг/мл; в ткани опухоли — uPA  $\geq 2,8$  нг/мг белка; MMP-2  $\geq 40$  нг/мг белка. Остальные маркеры системы-IGF (IGFBP-1, IGFBP-3) не были связаны с прогнозом заболевания.

Полученные в исследовании лабораторные данные имеют непосредственное практическое значение, так как позволяют оптимизировать диагностический алгоритм и прогнозировать ранний рецидив заболевания у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий.

## **МЕТОДЫ И МЕТОДОЛОГИЯ НАУЧНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ**

Исследовано 293 больных РМЖ с T1N0M0 и T2N0M0 стадиями. Обследование и лечение все пациентки проходили в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава

России в период с 2004 по 2014 год. У всех обследованных больных рак молочной железы выявлен впервые и подтвержден данными морфологического исследования новообразования согласно «Международной гистологической классификации рака молочной железы по системе TNM» (AJCC-UICC, 7-е издание, 2010 года).

Первичное обследование больных РМЖ T1-N0M0 и T2N0M0 стадий было проведено пациенткам до всех видов лечебных воздействий. Все пациентки получили хирургическое лечение, на основании оперативного материала проведено гистологическое исследование, выставлен диагноз и уточнены характеристики опухоли.

Тактика лечения осуществлялась на основании инструментальных и лабораторных методов диагностики РМЖ, а также по результатам хирургического материала. Исследования биохимических маркеров у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий проведены в лаборатории клинической биохимии НИИ клинической онкологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр 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 (ИЛ-6) определяли иммуноферментными методами натошак в сыворотке крови 293 больных РМЖ с T1N0M0 и T2N0M0 стадиями опухолевого процесса до проводимой терапии (исходно). Измерения проводили на автоматическом универсальном ридере для микроплашек «EL<sub>x</sub>800» фирмы «Bio-Tek Instruments, Inc.» (США). В соответствии с инструкциями производителя, 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.

В соответствии с линейностью метода пробы образцов сыворотки крови, в которых измеренная концентрация вышеуказанных маркеров превышала верхнюю границу стандартной кривой, разводили входящим в состав набора буфером и исследовали повторно. 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  $p < 0,05$ .

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

Учитывались методологические требования Международного конгресса по гармонизации GGP при выборе статистических процедур.

Вычисления проводили на персональном компьютере с помощью математических пакетов «STATISTICA» и SPSS в отделе информационных технологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

## 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 определенную 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. При этом показатели лигандов системы-IGF не отражают стадию, степень злокачественности и гистологическое строение опухоли.

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 и не отражают стадию, гистологическое строение и рецепторный статус опухоли по РЭ и РП. Отмечено достоверное повышение IGFBP-1 у пациенток с Her2-neu+ опухолью, а IGFBP-3 — при низкодифференцированных новообразованиях и 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 и не связаны с

возрастом пациенток, рецепторным статусом (Her2-neu, PЭ, PП) и биологическим подтипом опухоли.

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 произошел рецидив заболевания в первые 3 года от начала лечения, что позволило выделить их пороговые значения как независимые факторы, определяющие время и частоту обнаружения 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.

## **СТЕПЕНЬ ДОСТОВЕРНОСТИ И АПРОБАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

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 уровне, с использованием высокочувствительных иммуноферментных методов биохимического анализа, стандартизированной оценки данных, современные методы статистической обработки лабораторного материала и клинических данных, свидетельствуют о достоверности полученных результатов.

Разработанные рекомендации апробированы и внедрены в клиническую практику отделения хирургического №5 (опухолей молочных желез) ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр 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 Росси — 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 диссертации состоялась 18 декабря 2018 года на совместной научной конференции с участием сотрудников отделения опухолей молочных желез, хирургического отделения диагностики опухолей, отдела патологической анатомии опухолей человека, клинико-лабораторного отдела НИИ клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, кафедры онкологии ФГБОУ ВПО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики ФГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России.

**Глава I****ИНСУЛИНОПОДОБНЫЕ ФАКТОРЫ РОСТА И ИХ СВЯЗЬ  
С ТКАНЕВЫМИ И СЫВОРОТОЧНЫМИ МАРКЕРАМИ  
В ПРОГРЕССИИ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА  
(обзор литературы)**

Важную роль в возникновении и прогрессировании различных злокачественных опухолей играет сигнальная система инсулиноподобных факторов роста (система-IGF) [41; 47; 81; 176; 295].

Пристальное внимание исследователей, особенно онкологов-эндокринологов, к системе инсулиноподобных факторов роста (система-IGF), было приковано начиная с 50-х годов XX столетия, когда впервые была описана IGF [314].

Несмотря на то, что IGF впервые описаны в 1950 году [152], их исследованием активно занимаются в последнее два десятилетия биологи, эндокринологи и особенно онкологи. Система-IGF играет крайне важную роль в фундаментальных клеточных процессах, таких как рост, выживание, пролиферация и дифференцировка [359]. Гиперэкспрессия IGF и их рецепторов обеспечивает один из ключевых признаков злокачественных опухолей — неконтролируемую пролиферацию [195].

IGF впервые был выделен как сывороточный фактор, индуцируемый гормоном роста, который является посредником при захвате сульфатов в хряще и первоначально назван «фактором сульфатации» («sulfatation factor»). В 1972 году был принят термин соматомедин, который отражал его влияние на «таргетные» ткани» [152]. В тоже время, в сыворотке крови человека был открыт новый фактор с инсулиноподобными эффектами, чья активность не подавлялась анти-инсулиновыми антителами [179]. Этот инсулиноподобный фактор показал эффект провоцирования роста, а позднее IGF-I и IGF-II были признаны идентичными соматомедину [232].

Экспериментальными и клиническими исследованиями показано, что сигнальная система-IGF играет важную роль в различных физиологических процессах. Так, известно, что в норме система-IGF играет жизненно необходимую роль в регуляции эмбрионального роста и специфической дифференцировки большинства тканей взрослого организма. Система-IGF также играет ключевую роль в таких фундаментальных процессах, как выживание и пролиферация клеток [359], а также в возникновении и прогрессии различных заболеваний, в том числе и злокачественных опухолей [41; 47; 81; 176; 295].

Вместе с тем, убедительно доказано, что нарушения или отклонения в работе системы-IGF имеют важное значение при онкологических заболеваниях [97].

### **1.1 Общая характеристика системы инсулиноподобного фактора роста (системы-IGF)**

Система-IGF состоит: из лигандов — инсулиноподобного фактора роста I типа (IGF-I), инсулиноподобного фактора роста II типа (IGF-II), и инсулина (I). Эффекты IGF опосредуются на клетки-мишени двумя типами специфических рецепторов IGF (IGF-IR и IGF-IIR) [176; 244; 288].

IGF-IR является медиатором первичного ответа всех IGF, экспрессируется во всех типах клеток, кроме гепатоцитов и Т-лимфоцитов, и является важным элементом обеспечения нормального развития организма. Так, эмбрионы экспериментальных животных, лишенные IGF-IR, имеют дефекты развития легких, кожи, костей, неврологические нарушения [295]. Связывание лигандов с IGF-IR приводит к его олигомеризации, аутофосфорилированию и активации внутренней тирозинкиназы [201]. Далее тирозинкиназа IGF-IR прямо фосфорилирует различные клеточные субстраты и сигнальные молекулы, участвующие в регуляции апоптоза, построении цитоскелета, процессах клеточной адгезии, а также во множестве других физиологических и патологических процессов в нормальных и опухолевых клетках-мишенях [199].



IGF-*II*R представляет собой катион-независимый маннозо-6-фосфатный рецептор и роль IGF-*II*R в реализации эффектов IGF пока до конца не изучена [176]. О механизмах реализации эффектов IGF через IGF-*II*R известно, что он работает, в первую очередь, как рецептор-поглотитель, регулируя интернализацию и деградацию экстраклеточного IGF-*II*, и, соответственно, уровень циркулирующего IGF-*II* [176]. Кроме того, показано, что IGF-*II*R не связывает инсулин.

В систему-IGF помимо выше указанных маркеров также включены: рецептор инсулина (IR), рецептор связывающий инсулиноподобные транспортные белки (IGFBP-R) и гибридный рецептор (IR/IGFBP-R). Следует указать, что гибридный рецептор — IR/IGFBP-R связывает как инсулин, так и IGF-*I* [105; 176; 244; 288].

В отличие от инсулина, циркулирующие IGF взаимодействуют с высокоаффинными связывающими белками (IGFBP). В настоящее время известно 6 IGFBP, а также семейство гомологичных связывающих белков, которые обладают значительно меньшим сродством к IGF-лигандам. IGFBP модулируют биологические эффекты IGF, по крайней мере, следующими способами: они переносят IGF по кровеносному руслу к тканям-мишеням (IGFBP-1, -2 -3 и -4), поддерживают резервный уровень IGF в крови (это преимущественно функция IGFBP-3), потенцируют или ингибируют эффекты IGF, а также опосредуют IGF-независимые биологические эффекты [97; 244; 295].

IGFBP модулируют биологические эффекты IGF-*I* и IGF-*II*, по крайней мере, следующими способами: они переносят IGF по кровеносному руслу к тканям-мишеням (IGFBP-1, -2 -3 и -4), поддерживают резервный уровень IGF-*I* и IGF-*II* в крови (это преимущественно функция IGFBP-3), потенцируют или ингибируют эффекты IGF, а также опосредуют IGF-независимые биологические эффекты [97; 295].

*Лиганд IGF-I* представляет собой одноцепочечный полипептид, состоящий из 70 аминокислотных остатков и относится к трофическим факторам, циркулирует в плазме крови, но только в небольшой фракции (1%) в активной

форме [141], синтезируется главным образом гепатоцитами под влиянием гормона роста. В небольших количествах IGF-I может синтезироваться костной и хрящевой тканями, скелетной мускулатурой. Структура гена *IGF-I* является довольно сложной и расположен он в длинном плече 12q23 [359]. Обнаружено, что не только клетки опухолей, но и стромальные клетки в первичных опухолях синтезируют IGF, которые ауто/паракринным путем опосредуют рост, метастазирование и антиапоптотические ответы злокачественных клеток [17; 176; 191; 213; 316; 360]. Известно, что IGF-I экспрессируется стромальными клетками как в доброкачественных, так и в злокачественных новообразованиях молочной железы, в то время как IGF-II обнаруживается в строме большинства аденокарцином молочной железы и в небольших количествах в злокачественном эпителии [168; 321]. Благодаря активным исследованиям системы IGF в последние 10 лет, установлена прямая зависимость между уровнями IGF-I и IGF-II в крови и риском развития злокачественных опухолей. Например, у человека IGF-I играет определенную роль в развитии рака простаты, РМЖ, толстой кишки, яичников, легкого, шейки матки [176; 275; 293; 316]. Кроме опухолей молочных желез синтез лигандов IGF-I и IGF-II выявлен в клетках ряда других новообразований — саркомах костей, гастроинтестинальных опухолях [47; 81; 176].

*Лиганд IGF-II* имеет 50% гомологичности с инсулином и 70% гомологичности с IGF-I, IGF-II синтезируется как пре-прогормон, пост-трансляционное расщепление которого, способствует образованию плазменного пептида, состоящего из 67 аминокислотных остатков. Зрелый IGF-II — полипептид, состоит из А и В-доменов, гомологичных зрелому инсулину и IGF-I, и D-домена (12 аминокислотных остатков). Ген, кодирующий IGF-II, находится в хромосоме 11p15 и прилегает к гену инсулина [316].

Известно, что помимо самих лигандов системы-IGF (IGF-I, IGF-II), их действие на нормальные и опухолевые клетки опосредовано: двумя типами специфических рецепторов — это IGF-IR и IGF-IIR, рецепторами инсулина (IR) и

гибридным рецептором (IR/IFR-IR), который способен связываться как инсулином, так и IGF-I [176; 244; 288].

*Рецептор IGF-I типа (IGF-IR)* относят к группе трансмембранных белков. IGF-IR частично гомологичен с рецептором инсулина, и активируется IGF-I, а также ассоциирован с факторами роста, такими как IGF-II, но с меньшей аффинностью [201]. Данный рецептор экспрессируется во многих типах клеток и считается важным элементом, способным обеспечить метаболическую активность клеток, митоз и запрограммированную гибель клеток апоптоз [294].

IGF-IR состоит из двух субъединиц, из которых  $\alpha$ -субъединица IGF-IR, содержит участок связывания с IGF-I, а  $\beta$ -субъединица включает внутриклеточный домен R-ТК, который очень важен для передачи большинства нижележащих сигналов. При этом IGF-I, IGF-II и инсулин обладают способностью связываться с IGF-IR конкурентно с разным аффинитетом. Показано, что связывание вышеуказанных лигандов с IGF-IR приводит к его олигомеризации, аутофосфорилированию и активации внутренней тирозинкиназы. Далее тирозинкиназа IGF-IR прямо фосфорилирует различные клеточные субстраты и сигнальные молекулы, участвующие в регуляции апоптоза, построении цитоскелета, процессах клеточной адгезии и во многих других процессах в нормальных и опухолевых клетках [199].

*Рецептор IGF II типа (IGF-IIR).* Обнаружено, что IGF-II имеет собственный рецептор IGF-IIR, который представляет собой катион-независимый маннозо-6-фосфатный рецептор (М6Р/IGF-IIR), и является трансмембранным гликопротеином. IGF-IIR действует, как рецептор-поглотитель, регулируя интернализацию и деградацию находящегося во внеклеточном матриксе IGF-II, следовательно, влияет на уровень сывороточного IGF-II [176].

IGF-I, соединившись с экстрацеллюлярной  $\alpha$ -субъединицей, запускает изменения конформации  $\beta$ -субъединицы, что приводит к транс-аутофосфорилированию множественных тирозиновых остатков (например Y1131, Y1135, Y1136), и вызывает каталитическую ТК активность рецептора. Активированный IGF-IR фосфорилирует некоторые нижележащие субстраты,

такие как Shc и IRS 1-4 [372]. Фосфорилированные IRS служат как стыковочные протеины для многих гомологичным Src домен-содержащим молекулам, включая рецепторный белок 2 фактора роста (Grb 2), субъединицу p85 фосфатидил-инозитол 3 киназы (PI3-K), NcK и SH-фосфатазу 2. Grb2 связывается с активируемым рецептором, который, в свою очередь, рекрутирует SOS («son of sevenless»), ведущий как последующей активации пути Ras/Raf/митоген активируемых протеинкиназ (MAPK-пути) [315]. MAPK составляют семейство серин/треониновых протеинкиназ, которые широко распространены среди эукариотов, вовлечены во многие клеточные ответы, такие как клеточная пролиферация, клеточная дифференциация, движение клеток, клеточная смерть [240]. SAPK и p38 MAPK мощно индуцируются различными стрессами, включая ультрафиолетовое и гамма излучение, анизомицин, тепловой шок, хемотерапевтические препараты, но не митогенами. Оба этих пути активируются ишемией или реперфузией после ишемии, а также воспалительными цитокинами [140].

ERK-1/2 является главным MAPK путем, активируемым IGF-I. Однажды активированный, ERK-1/2 может стимулировать некоторое количество цитозольных белков, таких как p90rsk, посредством пролин-направленной серин/треонин киназной активностью, или может также перемещаться в ядро, где фосфорилирует и активирует некоторое количество транскрипционных факторов, вовлеченных в немедленную генную транскрипцию [129].

Второй путь, с помощью которого сигнал IGF-I распространяется от комплекса IRS, включает в себя активацию PI3-K [372]. Связываясь с IRS-1, субъединица PI3-киназы — p85 активирует каталитическую субъединицу p110, которая катализирует фосфорилирование фосфатидил-инозитола (PI) во 2 позиции инозитолового кольца, и создает 3-фосфорилированные формы фосфатидилинозитола — 3,4,5 трифосфаты (PIP3) [228]. PIP3 связывается с плекстрин-гомологичным (PH) доменом протеинкиназы B/Akt (PKB/Akt). В результате этого происходит фосфорилирование Thr308 и Ser473 под действием двух других доменов, содержащих фосфолипид-зависимые киназы (PDK-1/2) [125].

PKB/Akt имеет множественные нижележащие цели, такие как mTOR, p70 рибосомальной S6 киназы (p70s6k), FOXO и гликоген синтазы киназа-3 (GSK-3). Эти нижележащие цели PKB регулируют множественные физиологические функции и патологические процессы, включая метаболизм, экспрессию генов, синтез протеинов, клеточный цикл, клеточное выживание и клеточную смерть [313].

Система-IGF играет ведущую роль в процессах регенерации и гипертрофии скелетной мускулатуры [142], в пролиферации и апоптозе клеток молочной железы в период беременности и лактации [194]. Несомненно, IGF-I считают ключевым фактором выживания нервных клеток [352], который оказывает нейропротективный эффект при болезнях Гентингтона и Альцгеймера, играет важную роль в нейрональной пластичности и когнитивных функциях [254]. Известно, что система-IGF выполняет кардиопротективные функции, а низкие концентрации лиганда IGF-I связаны с возрастанием риска ишемической болезни сердца [144], для IGF-I характерно атеропротективное действие [205]. Для клеток гладкой мускулатуры и эндотелия IGF-I может быть митогеном и антиапоптотическим фактором [96] и регулятором ряда функций в иммунной системе человека [334]. IGF-I вызывает: дифференциацию миобластов, остеобластов, хондроцитов и нейрональных клеток. Кроме того, считают, что IGF-II может служить модулятором роста и дифференциации мышечных клеток [304]. Показано также, что IGF-I и IGF-II обладают сходными пролиферативными и антипролиферативными эффектами. Таким образом, представленные данные свидетельствуют о важной роли лигандов системы-IGF (IGF-I, IGF-II) во многих биологических процессах взрослого организма.

*Белки, связывающие IGF(IGFBP).* Как уже было указано выше, в настоящее время известно о 6 типах IGFBP сыворотки крови, которые связывают IGF-I, IGF-II и взаимодействуют не только между собой, но и с другими сигнальными системами роста нормальных и опухолевых клеток [244; 359]. При этом известно, что в тканях IGFBP находятся в IGF-IGFBP бинарных комплексах, в которых лиганды IGF-I и IGF-II связаны с различными типами IGFBP. Причем, IGFBP

регулируют лиганды системы-IGF разными способами. Так, например, известно, что IGFBP могут ингибировать биологическую активность IGF, образуя комплекс IGF-IGFBP; IGFBP не позволяет IGF связываться с рецептором; IGFBP обладает способностью увеличивать период полураспада IGF. В основном в кровотоке 99% IGF-I находится в связанном состоянии с IGFBP. В такой связанной форме IGF-I выявляется и во внеклеточном матриксе [244].

IGFBP-1, -2, -3, -4 переносят вышеуказанные лиганды (IGF-I, IGF-II) в циркулирующем кровяном русле к клеткам-мишеням, ингибируют эффекты лигандов, таким образом, предотвращая их связывание с рецепторами на поверхности нормальных и опухолевых клеток [288].

Большинство экспериментальных исследований подтверждают как ингибирующую, так и активирующую роль IGFBP-1 на лиганды системы-IGF (IGF-I, IGF-II) [97; 244; 295].

Показано, что в кровяном русле IGF-I и IGF-II в основном связаны с IGFBP-3, концентрация которого в сыворотке крови наибольшая из всех IGFBP и обладает наибольшим сродством как к IGF-I, так и к IGF-II. Одновременное поступление в клетку IGFBP-3 и IGF-I приводило к тому, что IGFBP-3 ингибировал IGF-I-опосредованные эффекты, путем высоко аффинной секвестрации лиганда, предотвращая IGF-I индуцированное фосфорилирование IGF-IR, и последующую сигнализацию. Наоборот, предварительное введение в клетки IGFBP-3 перед IGF-I, приводило к накоплению клеточно-связанных форм IGFBP-3 с пониженной аффинностью к IGF, что увеличивало воздействие IGF-I на рецептор IGF-IR. Также было показано, что потенцирование активности IGF посредством IGFBP-3 может быть опосредовано PI3-киназным путем [304]. Стало быть, основная функция IGFBP-3 — это поддержка резервного уровня IGF в сыворотке крови. Кроме того, IGFBP-3 способен подавлять митогенные и антиапоптотические эффекты IGF. Вместе с тем, обнаружена также ядерная локализация IGFBP-3 в некоторых типах клеток, что свидетельствует о его участии в регуляции транскрипции, однако механизм попадания внеклеточного IGFBP-3 в ядро клетки до настоящего времени изучен недостаточно [121].

Приведенные нами выше литературные данные свидетельствуют о том, что IGFBP способны опосредовать IGF-независимые биологические эффекты [97; 244; 295]. Кроме того, в литературе представлены доказательства наличия белка IGFBP-5 не только в ядре, но и в цитоплазме клеток РМЖ [270]. Несколько позже было показано, что биологические эффекты IGFBP-5 связаны с его локализацией в клетке. При этом, в отличие от ядерной локализации этого белка, IGFBP-5, локализованный в цитоплазме может активировать пролиферацию и подвижность клеток [89].

Вместе с тем, показано, что активность некоторых IGFBP и, в частности IGFBP-2 и IGFBP-4 в сыворотке крови, не зависит от лигандов системы-IGF. Для IGFBP-2 она опосредована взаимодействием с интегринами на поверхности клеток [365].

Для белка IGFBP-4 также выявлен механизм независимой его активности от лигандов системы-IGF — IGF-I и IGF-II. Было обнаружено, что IGFBP-4 взаимодействует с рецептором Wnt — одним из ключевых компонентов крайне важного сигнального пути и ингибирует его активацию [164; 387].

Пристальный интерес у исследователей в последние годы вызван к IGFBP-6, который как стало известно, связывает и регулирует активность IGF-II в сыворотке крови [97].

Активность IGFBP и опосредованно клеточные эффекты IGF регулируются специфическими протеазами, в частности, сериновыми протеазами и MMP, которые увеличивают биодоступность IGF, гидролизуя IGFBP до небольших фрагментов, обладающих меньшим сродством к IGF [272].

Исследованиями убедительно доказано, что протеолиз IGFBP способен приводить к высвобождению IGF-I и IGF-II и как следствие — к запуску сигнальных путей рецепторов IGF-IR и IGF-IIR. Протеазы способны воздействовать на транспортные белки IGFBP-1 и IGFBP-3, что приводит к увеличению биодоступности лигандов системы-IGF [304].

## 1.2 Роль системы-IGF в этиологии и механизмах прогрессии злокачественных новообразований

Известно, что IGF-сигнальный путь — один из возможных механизмов активации каскада митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК) и сигнального каскада, ключевыми компонентами которого являются фосфатидилинозитол-3 киназа (PI-3K) и серин-треониновая протеинкиназа Akt (протеинкиназа B) [25; 191]. Установлено, что IGF-I индуцирует активацию МАР-киназного пути через белок Ras, что в конечном итоге приводит к ингибированию апоптоза и улучшению выживаемости клеток посредством деактивации одного из проапоптотических белков — Bad, а также к усилению пролиферации клеток. Комплекс IGF-I/IGF-IR индуцирует фосфорилирование и активацию PI-3K, которая, в свою очередь, активирует Akt, фосфорилирующую и инактивирующую Bad и блокирующую апоптоз [272]. Так, например, в экспериментальных исследованиях на культурах клеток РМЖ показано, что активация IGF-IR защищает клетку от апоптоза [298; 369]. Добавление IGF-I вместе с доксорубицином или паклитакселом приводило к снижению апоптоза в культуре клеток РМЖ — MCF-7 [139]. Более детальное исследование этого эффекта показало, что его развитие возможно, по крайней мере, двумя путями: 1) в результате ингибирования апоптоза вследствие активации PI-3K/Akt или 2) в результате индукции пролиферации как по PI-3K/Akt, так и по МАР-киназному пути.

Показано, что увеличение концентрации IGF-I в плазме крови тесно связано с активацией роста клеток, репликацией, антиапоптотическими свойствами и увеличением риска РМЖ и ряда других типов злокачественных опухолей. Кроме того, в опухолевых клетках, в отличие от нормальных, также были обнаружены повышенные уровни экспрессии IGF-IR, которые существенно снижали апоптоз, индуцированный лучевой терапией [218; 385].

Одни исследователи связывают высокий уровень IGFBP-3 в сыворотке крови с низким риском малигнизации, другие полагают, что наиболее вероятным механизмом, с помощью которого IGF-I способствует увеличению выживаемости



раковых клеток, является активация путей, ответственных за клеточное выживание. При этом уже стало известно, что семейство таких белков, как Bcl-2 и семейство каспаз Apaf — следует считать ключевыми регуляторами выживания опухолевых клеток. Показано, что IGF-I-индуцированная активация сигнального каскада PKB играет важную роль в этих процессах в результате фосфорилирования Bcl-2 ассоциированного промотора клеточной смерти (BAD). Фосфорилированная BAD теряет способность взаимодействовать с Bcl-xL или Bcl-2, и таким образом, приводит к ингибированию высвобождения цитохрома-C из митохондрий [388]. Также показано, что сигнализация IGF-I через PKB провоцирует клеточное выживание посредством ингибирования FOXO-3, транскрипционного регулятора Bcl-2-взаимодействующего медиатора клеточной смерти [251].

Кроме того, при канцерогенезе обнаружена связь между IGF-I сигнализацией и продукцией ROS (активных форм кислорода), при этом IGF-I может приводить к пролиферации и опухолевой трансформации клеток посредством активации ROS-зависимой активации MAPK-путей [247]. Доказано, что IGF-I индуцирует продукцию ROS посредством активации семейства NADPH-оксидаз — NOX, встречающихся в ряде клеточных типов [267].

Кроме этого, IGF-I приводит к злокачественному фенотипу посредством воздействия на клеточный цикл. IGF-I увеличивает экспрессию генов циклина D1, и циклин-зависимой киназы 4 (CDK4), а также приводит к активации циклина E [163].

Помимо прямых эффектов IGF-I, имеются данные о взаимодействии IGF-I каскада с онкогенами, опухолевыми супрессорами, с гормонами, например, с половыми стероидами при РМЖ [333] и раке простаты [95]. IGF-I и IGF-II в пико- и наномолярных концентрациях соответственно, стимулируют пролиферацию клеток РМЖ, экспрессирующих РЭ. Вышеуказанные лиганды системы-IGF, также влияют на чувствительность клеток РМЖ к эстрогенам [384]. Система-IGF перекрестно взаимодействует с системой интегрин (рецепторами клеточной адгезии, вовлеченными в процессы миграции, выживания и роста

клеток), поскольку имеет структурное сходство с  $\alpha_v\beta_3$  интегрином [250]. Активация системы интегрин приводит к ингибированию митогенных эффектов IGF-I в культурах клеток РМЖ человека [112; 167; 213; 316].

Для установления роли системы IGF в злокачественной трансформации эпителиальных клеток молочной железы исследователи изменяли уровни IGF-I у экспериментальных животных путем трансгенных модуляций синтеза гормона роста и IGF-I [379]. При этом, у трансгенных животных с повышенным уровнем экспрессии гормона роста и IGF-I чаще развивались опухоли молочной железы. В исследованиях на трансгенных животных с гиперэкспрессией человеческого IGF-I в молочной железе, показано, что у 53% из них развилась аденокарцинома молочной железы [379]. Кроме того, выявлено, что у IGF-I-дефицитных животных, со сниженным на 75% уровнем IGF-I в плазме крови, напротив, образование опухоли наблюдали существенно реже. Исследования на приматах также подтвердили предположение о роли IGF-I в этиологии заболевания, авторы показали, что введение животным гормона роста или IGF-I приводит к гиперплазии молочной железы [213].

В итоге, сегодня мы располагаем примерами, иллюстрирующими вклад IGF на всех стадиях развития опухолевого процесса: злокачественной трансформации клеток, роста опухоли, местной инвазии и отдаленного метастазирования, а также устойчивости к лечению [25].

Благодаря активным исследованиям системы-IGF в последние 10 лет, установлена определенная зависимость между высокими уровнями IGF-I в крови и риском развития злокачественных опухолей. Полагают, что у человека IGF-I определена важная роль в развитии злокачественных опухолей различных локализаций: рака простаты, эндометрия, РМЖ, КРР, рака яичников, легкого, шейки матки, глиобластомы [132; 133; 167; 176; 213; 223; 275; 293; 294; 306; 316; 331; 362; 368].

В молочной железе IGF-I обнаружен главным образом в нормальных стромальных клетках, IGF-II также определяется преимущественно в клетках стромы, однако может быть выявлен и в опухоль-трансформированном эпителии

PMЖ. Высокий уровень экспрессии IGF-II ассоциируется с неблагоприятным прогнозом у больных PMЖ. У пациенток с доброкачественными новообразованиями молочной железы экспрессия IGFBP-3 также существенно выше в опухолях по сравнению с окружающей нормальной тканью. Однако не было выявлено какой-либо значимой взаимосвязи между экспрессией IGFBP-3 в тканях опухоли и показателями общей или безрецидивной выживаемости при PMЖ. По данным группы других исследователей не было выявлено связи концентрации IGF-I и IGFBP-3 в сыворотке крови с развитием PMЖ у женщин [354].

Последние исследования предполагают, что взаимосвязь между уровнями циркулирующего IGF-I и риском PMЖ зависит от менопаузного статуса. По данным ряда авторов [99; 226; 305; 308; 321], уровни циркулирующих IGF-I, IGFBP-I, IGFBP-3 и гормона роста, по-видимому, не имеют однозначной ассоциации с риском PMЖ у женщин в пременопаузе (моложе 45 лет), и более важны для женщин в постменопаузе. Результаты других исследований предполагают защитную роль IGFBP-3, и одновременно демонстрируют повышение риска PMЖ при высоком уровне белка, связывающего гормон роста, с учетом вариаций уровней IGF-лигандов, IGFBP и классических факторов риска PMЖ [290]. Это наблюдение, согласуется с результатами полученными в другом исследовании [223]. При высоком сывороточном IGF-I канцерогенез в молочной железе наблюдали у женщин в пременопаузе (моложе 50 лет) в 2,33 раза чаще, чем при низком уровне этого фактора роста, но риск развития опухоли при высоком уровне IGF-I значительно повышался с возрастом: относительный риск составил 4,58 у женщин в постменопаузе.

При изучении риска развития КР рака исследователи основывались на гипотезе о том, что повышение сывороточного уровня IGF-I приводит к повышению, а высокий уровень IGFBP-3 к его снижению, однако данные больших когортных исследований пока не подтвердили эту гипотезу [305; 368].

Не только IGF-I, но также и другие компоненты системы реализации эффектов IGF вовлечены в процессы образования опухоли. Так, известно, что

содержание тканевых рецепторов IGF-I повышено во всех линиях клеток РМЖ и очень часто повышение уровня IGF-IR наблюдали в свежих биоптатах РМЖ по сравнению с нормальным эпителием. А тот факт, что уровень IGF-IR мРНК, напротив, оказывается выше в нормальной эпителии молочной железы, чем в ткани РМЖ, возможно, как предполагают авторы, и свидетельствует о том, что в процессах канцерогенеза в молочной железе важны посттрансляционные механизмы экспрессии мРНК IGF-IR [213].

IGF-RI характерен для антиапоптотических и высокометастатических фенотипов РМЖ, также гиперэкспрессия IGF-RI обнаружена в РЭ+ РМЖ [108]. Значительное снижение экспрессии IGF-RI отмечено авторами в РЭ-, РП- и Her2+ опухолях, при этом экспрессия рецептора была гетерогенной в «тройном негативном» РМЖ. Присутствие IGF-RI в РЭ+ опухолях может объяснять низкую чувствительность «люминальных» РМЖ к неоадьювантной химиотерапии.

Другие авторы также подтверждают эти результаты и показали, что экспрессия IGF-RI выявляется РЭ+ опухолях при I-II стадиях РМЖ, а также связана с показателями выживаемости. При этом, неоадьювантная химиотерапия может изменять экспрессию IGF-RI: в 65% наблюдений экспрессия IGF-RI в опухоли сохраняется, в 18% — увеличивается и в 11% — снижается, а показатели выживаемости в этих группах пациенток составили соответственно:  $7,3 \pm 1,0$ ,  $3,0 \pm 0,5$  и  $15,0 \pm 1,8$  лет. Следовательно, уровни экспрессии IGF-RI связаны с прогнозом выживаемости больных РМЖ.

Эстрогены индуцируют экспрессию IGF, рецепторов IGF, IGFBR [333]. Известно также, что уровень IGF-IR положительно коррелирует с экспрессией РЭ-а, и, сходным с РЭ-а образом, высокий уровень IGF-IR коррелирует с благоприятным прогнозом РМЖ. Тамоксифен снижает фосфорилирование IGF-IR в культуре клеток MCF-7, характеризующейся гиперэкспрессией IGF-IR. Собственно высокий уровень IGF-IR в опухоли еще не означает, что этот путь воздействия IGF-I активирован, но показано, что в ткани РМЖ 40-кратно повышены аутофосфорилирование IGF-IR и его тирозинкиназная активность по сравнению с нормальным эпителием молочной железы [385]. Однако, этот вопрос

остается открытым. Возможно, интактный IGF-IR в ткани РМЖ характеризует РЭ- $\alpha$ -экспрессирующие опухоли как более агрессивные. Возможно также, что в качестве комбинированной терапии РМЖ может оказаться эффективным совместное ингибирование механизмов, опосредованных IGF-IR и РЭ [333].

Как уже упоминалось, повышенный уровень IGF-I в крови является независимым фактором риска РМЖ у женщин в пременопаузе [Johansson H. et al., 2004]. Антиэстрогены, такие, как тамоксифен, влияют на функцию РЭ- $\alpha$  путем блокирования инициации транскрипции, не подавляя связывание гормон-рецепторного комплекса с ДНК. Ралоксифен, аналог тамоксифена, применяемый для профилактики остеопороза у женщин в пременопаузе, значительно снижал уровень сывороточного IGF-I у женщин в постменопаузе, больных РМЖ [148]. По другим данным, низкие дозы тамоксифена (10-20 мг/день) незначительно снижали уровень IGF-I, увеличивали содержание IGFBP-1 и незначительно изменяли содержание IGFBP-3. Небольшое изменение соотношения IGF-I/IGFBP-3 может оказаться еще одним фактором, снижающим эффективность тамоксифена в низких дозах с целью предупреждения РМЖ [95]. Тамоксифен приводит к снижению концентрации IGF-I и увеличивает концентрацию IGFBP, преимущественно IGFBP-1 и IGFBP-3 [112]. Антиэстрогены, таким образом, могут ингибировать действие IGF посредством увеличения экспрессии IGFBP-3, воздействуя на процесс фосфорилирования IGF-IR и снижая экспрессию РЭ, что установлено в исследованиях у женщин в пременопаузе с высоким риском развития инвазивного РМЖ, и у женщин в постменопаузе [112]. Таким образом, практически все компоненты системы реализации эффектов IGF могут рассматриваться как промоторы роста, регулируемые эстрогенами.

### **1.3 Стратегии ингибирования системы-IGF**

Существующий принцип целенаправленной («таргетной») терапии злокачественных опухолей, заключается в блокировании активности биологически значимых молекул, опосредующих возникновение и прогрессирование заболевания. Этот подход показал свою клиническую

эффективность при злокачественных новообразованиях, экспрессирующих ER, HER2 (ErbB2) и EGFR (ErbB1).

В связи с участием нескольких компонентов системы-IGF в реализации ее эффектов, рассмотрим и множественное воздействие, в частности, редукцию и нейтрализацию лигандов IGF, подавляющую регуляцию и конкурентное связывание с IGF-рецептором, а также развитие IGF-независимых антагонистических стратегий [199; 213; 242].

Несмотря на то, что снижение концентрации IGF-I может быть полезным для предотвращения и лечения РМЖ, эта стратегия не оказывает эффекта на уровень IGF-II в крови, а ингибирование IGF-II совершенно необходимо, так как этот пептид присутствует в крови взрослых людей. Более перспективным подходом может быть разработка соединений, оказывающих прямое ингибирующее действие на систему-IGF, включая эндогенные IGFBP, связывающие оба лиганда, нейтрализующие лиганды IGF-рецепторов и блокирующие активацию самих рецепторов [213].

Логичным является подход, основанный на использовании эндогенных ингибиторов действия IGF-I в тканях. В качестве таких ингибиторов можно использовать IGFBP, которые обеспечивают транспорт IGF к клеткам-мишеням и модулируют действие IGF в тканях. Фармакокинетические свойства IGFBP могут оказаться важными для создания анти-IGF-агентов. Например, полиэтиленгликоль-конъюгированный IGFBP-1 ингибирует рост РМЖ *in vivo* [213].

Некоторые экспериментальные и эпидемиологические исследования предполагают возможность использования ингибиторов циклооксигеназы-2 (COX-2) для предотвращения РМЖ (целекоксиб). Относительно невысокая токсичность этих веществ немаловажна для их использования, однако не совсем ясен механизм хемо превентивного эффекта. Установлено, что целекоксиб индуцировал апоптоз в иммортализованной линии клеток молочной железы 184htert. Наблюдали повышение экспрессии мРНК IGFBP-3, который является, потенциальным проапоптотическим белком и ингибитором роста клеток РМЖ, и главным образом ингибирует взаимодействие митогенов IGF-I и IGF-II с их

рецепторами на клеточной поверхности, а также действует по IGF-независимым путям [245].

Другие подходы к целенаправленному воздействию на IGF-систему регуляции злокачественного роста в основном связаны с использованием специфических антител, нейтрализующих лиганд-рецепторное взаимодействие. Моноклональные АТ к IGF-IR эффективно ингибируют действие IGF-I в различных опухолях посредством усиления интернализации IGF-IR и эффективного снижения количества IGF-IR на клеточной поверхности [387].

Так как IGF-IR — тирозинкиназа, то логично предположить, что ингибиторы тирозинкиназ окажутся эффективными и для нейтрализации действия IGF-I в ткани. Ингибирование IGF-I стимулированного аутофосфорилирования IGF-IR могло быть эффективным способом воздействия на эффекты IGF в клетках. Тирофостины и подобные им вещества эффективно блокируют биохимическую активацию IGF-IR и останавливают рост клеток РМЖ [123; 199; 213; 289]. По данным ряда исследований показано, что адьювантная химиотерапия у больных РМЖ (5-фторурацил, эпирубицин и циклофосфамид или эпирубицин и циклофосфамид) не оказывала существенного эффекта на уровни IGF-I и IGFBP-3, а также соотношение этих маркеров в сыворотке крови [181].

Противоречивость и неоднозначность результатов исследований подчеркивают, на наш взгляд, сложность перекрестных взаимодействий между различными механизмами регуляции роста нормальных и опухоль трансформированных клеток молочной железы. Однако несомненно, что участие IGF, их рецепторов и IGFBP в процессах опухолевой трансформации, роста, инвазии, ангиогенеза и метастазирования делают перспективной мишенью систему-IGF в противоопухолевой терапии.

#### **1.4 Матриксные металлопротеазы и система IGF**

Ряд экспериментальных и клинических исследований представили доказательства о связи системы-IGF с процессами инвазии и метастазирования некоторых злокачественных опухолей. Это связь осуществляется посредством

регуляции экспрессии и активности системы матриксных металлопротеиназ, регуляции uPAR/uPA-системы, системы sFAS и интерлейкинов [13; 19; 43; 60]. Способность к инвазии окружающих тканей и метастазированию в отдаленные органы — одно из фундаментальных свойств злокачественных опухолей [47; 55; 195]. На всех этапах инвазии и метастазирования опухолевая клетка находится в тесном контакте с внеклеточным матриксом, поэтому одним из главных молекулярных механизмов, лежащих в основе этих процессов, считается разрушение окружающей базальной мембраны и ВКМ ассоциированными с опухолью протеазами. Поэтому ММР считают одними из основных молекул, способствующими метастазированию раковых клеток [174]. В процессе канцерогенеза регуляторные пути, влияющие на деградацию внеклеточного матрикса, как правило, нарушаются и происходит патологическая экспрессия регуляторных белков, что помогает опухолевой клетке пройти все этапы метастазирования [160].

В настоящее время известно, что во все этапы прогрессирования опухолевого процесса вовлечены ММР — семейство, состоящее из более 30 секретрируемых или связанных с поверхностью клетки цинк — зависимых эндопептидаз, способных к деградации практически всех компонентов внеклеточного матрикса [259].

В зависимости от структурно-функциональных особенностей и субстратной специфичности ММР делят на несколько подсемейств. Основными подсемействами ММР являются коллагеназы широкого спектра действия (например, ММР-1, 8, 13), желатиназы/специфические коллагеназы коллагена IV типа (ММР-2 и 9), стромелизины (например, ММР-3 и 10), матрилизины (ММР-7, ММР-26), и ММР мембранного типа [363; 370].

Доказано, что активация ММР в межклеточном пространстве специфически подавляется эндогенными тканевыми ингибиторами (ТИМР), которые соединяются с цинк-связывающими участками активных ММР в эквимольном соотношении. ТИМР образуют прочные комплексы как с активными формами



ММР, так и с их секретлируемыми проферментами, регулируя посредством этого их активность [302].

Следует указать, что роль ММР в прогрессии и метастазировании опухолей впервые определена L.A. Liotta и соавт. в начале 1980-х годов, когда был обнаружен протеолиз коллагена IV типа, в процессе инвазии и метастазирования меланомы кожи и стало ясно, что он обусловлен, главным образом, протеолитической активностью ММР-2 и/или ММР-9 [252].

Отмечена строгая корреляция между изменением экспрессии ММР на уровнях мРНК и белка в различных типах злокачественных опухолей человека с неблагоприятным клиническим прогнозом [337]. У онкологических больных присутствие или повышенная экспрессия многих ММР, включая ММР-1, 2, 3, 7, 9, 13, 14 в первичных опухолях и/или метастазах положительно ассоциированы с прогрессией опухоли и коротким временем выживания. Также, достоверно установлена вовлеченность ММР в индуцированный опухолями ангиогенез [130].

Анализ методом гибридизацией *in situ* показал, что стромальные клетки экспрессируют ММР даже чаще, чем опухолевые [182; 227]. Выделение многих ММР клетками соединительной ткани, включая фибробласты и воспалительные клетки, является ответной реакцией на возникновение опухоли. Однако существуют исключения, например, матрилизин (ММР-7), как правило, экспрессируется эпителиальными клетками опухоли, в случае ММР-2 известно, что ее мРНК продуцируется преимущественно стромальными клетками, но сам фермент секретруется и активируется на границе опухолевой и нормальной ткани [155].

В экспериментальных исследованиях доказана взаимосвязь между повышением экспрессии ММР опухолевыми и/или стромальными клетками с прогрессией, метастазированием и ангиогенезом [156; 280]. Для многих ММР и ТИМР продемонстрировано увеличение экспрессии в опухолях различного генеза, причем активация происходит по паракринному механизму с участием факторов роста и цитокинов, секретлируемых инфильтрирующими опухоль макрофагами и лимфоцитами, а также клетками опухолевой стромы [155; 280].

В некоторых исследованиях показано также, что повышение уровня MMP в сыворотке/плазме крови онкологических больных коррелирует с активностью метастатического процесса и может рассматриваться, как фактор неблагоприятного прогноза [22; 165; 283]. В то же время, известно, что растворимые MMP в периферической крови находятся, в основном, в форме профермента или в комплексе с природными ингибиторами, такими как, TIMP или  $\alpha 2$ -макроглобулин [100]. Поэтому повышенная экспрессия MMP часто сопровождается увеличением экспрессии соответствующих TIMP [224], а функциональное значение циркулирующих в периферической крови MMP в прогрессии опухоли до конца не изучено.

В целом ряде ретроспективных клинических исследований отмечена повышенная экспрессия различных MMP в первичном опухолевом очаге и/или метастазах, ассоциированная со степенью дифференцировки опухоли, глубиной инвазии, развитием отдаленных метастазов, а также с плохим прогнозом и низкой выживаемостью больных различными злокачественными новообразованиями [155; 156; 158; 370].

Показано, что маркеры системы-IGF участвуют в механизмах регуляции MMP, активируя процессы инвазии и метастазирования злокачественных новообразований. Так, например, IGF-IR служит промотором синтеза MMP-2 и, как следствие, инвазивной активности злокачественных опухолей. Вместе с тем, IGF-IR может оказывать двойственный регуляторный эффект на продукцию MMP-2, увеличивая его продукцию, когда активирован PI3-K сигнальный путь, и уменьшая данную продукцию, когда активирован путь MAPK. MMP-14, является главным протеолитическим активатором про-MMP-2, и также был идентифицирован как другой член семейства MMP, который регулируется IGF-IR, посредством PI3-K, Akt и mTOR сигнализации [388].

Таким образом, система IGF может оптимизировать деградацию внеклеточного матрикса и инвазию опухолевых клеток в окружающие органы и ткани путем активации экспрессии MMP-2. Доказано, что IGF-IR — и IGF-I обладает способностью регулировать синтез MMP-2, усиливая его, посредством

системы PI3-K/Akt/MTor. Однако, конечный результат активации IGF-IR зависит от биодоступности лиганда, которая способна сдвинуть баланс между различными сигнальными путями [388].

Различные представители семейства MMP рассматриваются в настоящее время в качестве возможных биологических маркеров прогноза и лекарственной чувствительности различных опухолей: РМЖ, КРР, рак желудка, пищевода, слизистой полости рта, яичников, эндометрия, легкого, сарком костей [30; 128; 145; 150; 206; 210; 212; 215; 390], а использование природных и синтетических ингибиторов MMP считается перспективным подходом к противоопухолевой терапии [280; 390].

Прямое подавление синтеза MMP осуществляется с помощью трансфекции в клетки антисмысловых (ас) мРНК или олигонуклеотидов. В частности, показано, что антисмысловая мРНК к MMP-9 снижает инвазивность культивируемых клеток рака яичников и их прикрепление к поверхностям, покрытым фибронектином [211]. Использование ас-мРНК против MMP-7 снижало количество этого фермента в культивируемых клетках рака яичников и подавляло их инвазию, индуцированную лизофосфатидиловой кислотой [364]. Ас-мРНК против MT1-ММТ подавляли не только инвазию, но и пролиферацию культуры клеток рака яичников SW626 [377]. В частности, установлено, что в регуляции экспрессии и активности MMP в клетках рака яичников участвуют такие сигнальные системы как PI3K/Akt [137; 166; 281; 386], Raf/Ras [357], циклооксигеназная [243] и др.

Подавление взаимодействия MMP с белками клеточной поверхности также может заблокировать важные для инвазии проявления их активности в межклеточном пространстве. Перспективной мишенью в этом плане является взаимодействие с интегринами и кадгеринами, способствующее слущиванию клеток рака яичников с поверхности опухоли, их диссеминации по брюшине и образованию асцита [320; 327; 345].

Ингибирование ферментативной активности MMP — самый прямой путь влияния на их проинвазивную и прометастатическую активность. Первоначально

наиболее очевидным подходом представлялось использование их природных тканевых ингибиторов. В экспериментальных исследованиях был даже продемонстрирован противоопухолевый эффект ТИМР-2 и ТИМР-4 [115; 127], однако возможности системного введения ТИМР ограничены тем, что они обладают независимой от ММР проканцерогенной и проангиогенной активностью [102; 156; 302]. В связи с этим разрабатываются синтетические высокоспецифичные ингибиторы ММР (большинство из них — производные гидроксамовой кислоты), которые могли бы достигать эффективных концентраций в крови и вызывать регрессию опухоли, однако в большинстве исследований эти препараты оказались неэффективными, а в ряде случаев даже ухудшали результаты химиотерапии [165]. В настоящее время разрабатываются ингибиторы ММР следующего поколения, обладающие высокой специфичностью к ММР одного типа [278].

Изучение спектра, уровня и соотношения экспрессии различных видов ММР, их биологического и прогностического значения может оказаться полезным для разработки и эффективного применения новых ингибиторов ММП, специфичных для опухолей определенной локализации и/или для конкретного больного.

### **1.5 Система-uPAR/uPA и ее взаимосвязь с системой IGF**

Важной системой, участвующей в регуляции инвазии и метастазирования опухолей, является протеолитический каскад активации плазминогена [9; 12; 14; 44]. Этот каскад играет по отношению к системе ММП — роль вышележащего эффектора в многоступенчатой цепочке протеаз, ведущей к разрушению внеклеточного матрикса, а ключевую роль в этом каскаде играет активатор плазминогена урокиназного типа (uPA) [23; 101].

Несомненно, особую роль выполняет также находящийся на поверхности нормальных и опухолевых клеток рецептор uPA (uPAR), поскольку при связывании с ним способность uPA активировать плазминоген увеличивается. Следует указать, что помимо uPA в нем участвует активатор плазминогена

тканевого типа (tPA) и его роль при развитии опухолей, противоположна и сводится к разрушению опухолевых клеток и защите окружающих тканей. Известно, что активность uPA и tPA подавляется двумя белковыми ингибиторами, принадлежащими к семейству серпинов (PAI-1 и PAI-2). Считается, что при опухолевом росте они также играют разную роль: PAI-1 защищает опухолевые клетки от саморазрушения, а PAI-2 тормозит протеолитические процессы во внеклеточном матриксе. Уровень и соотношение экспрессии компонентов системы активации плазминогена в опухолевой ткани может служить показателем инвазивной и метастатической ее активности, являясь вследствие этого биологически значимым фактором прогноза. В клинических исследованиях продемонстрирована высокая прогностическая значимость uPA и PAI-1 при РМЖ: риск рецидивирования или метастазирования, даже при начальных стадиях заболевания, возрастает в 1,5-3 раза, если уровень этих белков превышает определенные пороговые значения [159].

Многофакторный анализ свидетельствует о том, что эти маркеры являются независимыми факторами прогноза, причем уже имеется доказательная база I уровня: это проспективное рандомизированное кооперированное исследование, включавшее около 600 больных с начальными стадиями РМЖ [219] и объединенный многофакторный анализ данных 18 исследовательских групп, включавший в целом 8377 больных [257]. В обеих работах было показано, что высокие уровни uPA и PAI-1 являются независимыми факторами неблагоприятного прогноза, более значимыми, чем размер, степень злокачественности и рецепторный статус опухоли, возраст пациенток.

Тем не менее, в настоящее время проводится кооперированное многоцентровое исследование «NNBC 3-Europe» [94; 323]. В него планируется вовлечь около 6000 пациенток, и по его результатам будет сделан окончательный вывод о целесообразности включения uPA и/или PAI-1 в схему обязательного обследования первичных больных РМЖ без метастазов в регионарных лимфатических узлах.

Повышение экспрессии компонентов системы активации плазминогена, в большей или меньшей степени взаимосвязанное с клиническими и морфологическими особенностями заболевания, отмечено и при ряде опухолей [104; 159].

Так, с помощью иммуногистохимического метода продемонстрирована экспрессия uPA и PAI-1 в клетках РТК [102; 180; 203; 230] и присутствие растворимого рецептора uPA в сыворотке крови этих пациентов [172; 203].

Показано, что uPA принимает участие также в неоангиогенезе — формировании сети новых сосудов в РТК [289]. Имеются указания на то, что наличие положительного окрашивания или высокая концентрация PAI-1 или uPA при количественном их определении могут служить факторами неблагоприятного прогноза [101; 203; 241; 269]. В одной из ранних работ показано, что наиболее значимым прогностическим фактором при РТК является отношение концентраций uPA в опухоли к концентрации tPA в окружающей слизистой толстой кишки [361].

В литературе представлены данные о том, что определенное влияние на выживаемость больных РТК может оказывать содержание компонентов системы активации плазминогена не только в опухоли, но и в окружающей неизменной слизистой [241], или соотношение различных показателей в опухоли и слизистой [361]. Однако авторы не выявили достоверной связи с выживаемостью ни для одного из проанализированных параметров. Вместе с тем, как в общей группе пациентов, так и у больных III стадии выявлена выраженная тенденция к ухудшению выживаемости при низком (менее 0,24 нг/мг белка) уровне uPA в неизменной слизистой [16; 18]. Аналогичная закономерность продемонстрирована в работе [241].

Таким образом, компоненты системы активации плазминогена, в первую очередь uPA, рассматривают в качестве возможных мишеней противоопухолевой терапии [122]. Однако прямое ингибирование этих ферментов может привести к серьезным побочным эффектам, поскольку они играют важную роль в системе свертывания крови, участвуя в фибринолизе. Вместе с тем, для оценки

перспективности их использования в клинике необходимо выявить нозологические формы опухолей и группы больных, у которых можно ожидать наибольшего эффекта [217].

В опухолях и эндотелии uPA также может способствовать ангиогенезу. IGF-IR в свою очередь, способен регулировать экспрессию uPA в клетках РМЖ, или уровень uPA и uPAR в клетках рака поджелудочной железы. Более поздние исследования показали IGF-зависимую миграцию и инвазию клеток карциномы поджелудочной железы L3.6 под действием uPA/uPAR системы, которая могла быть блокирована антителами к uPA и uPAR. Роль IGF-IR в регуляции uPA была также продемонстрирована на клетках карциномы мышей EMT6 при помощи подавления IGF-IR, что приводило к уменьшению экспрессии uPA. IGF может также регулировать транскрипцию uPA напрямую: посредством AP-1 и Ets сайтов промотора uPA через митогенные сигнальные пути MAPK и PI3-K. Ранее было показано на примере линии клеток рабдомиосаркомы, IGF-I и IGF-II могут увеличивать связывание одноцепочечного uPA и рецептора uPAR на клеточной поверхности опухоли, посредством посттранскрипционной модификации uPAR [217].

### **1.6 Интерлейкины и рост опухоли**

В современной маммологии цитокинам отводят одну из главных ролей в регуляции воспалительных и пролиферативных процессов, при этом цитокины являются универсальными медиаторами коммуникации между различными клетками организма (с помощью DR-белков клеточной мембраны), в том числе и в самом новообразовании [317].

Цитокины — небольшие белково-пептидные информационные молекулы, которые продуцируются в основном Т-лимфоцитами (Т-хелперами 2 типа — Th2), в меньшей степени макрофагами, фибробластами, В-клетками, регулируют межклеточные и межсистемные взаимодействия, определяют выживаемость клеток, стимулируют или подавляют их рост, дифференцировку, функциональную активность и апоптоз [296; 317].

Убедительно доказано, что цитокины обеспечивают согласованность действия иммунной, эндокринной и нервной систем в нормальных условиях, или в ответ на патологические воздействия [317], а свои эффекты они осуществляют аутокринно (на клетку, которая их продуцирует) или паракринно (на клетки, расположенные вблизи) [76; 287; 342].

Цитокины — антигеннеспецифические факторы, поэтому специфическая диагностика инфекционных, онкологических, аутоиммунных и аллергических заболеваний с помощью определения уровня цитокинов невозможна, однако использование антител к IL-6, как ключевому провоспалительному цитокину при вышеуказанных заболеваниях, имеет большой эффект [347]. Вместе с тем, определение их концентрации в крови дает информацию о функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток, о тяжести воспалительного или опухолевого процесса, его переходе на системный уровень и о прогнозе заболевания [209; 262; 317]. С позиций современных представлений следует говорить о развитии нарушения взаимодействий между иммунокомпетентными клетками и цитокинами при предопухоловом и опухолевом процессе [157]. При этом, последняя может проявляться: изменением синтеза и секреции цитокинов традиционными клетками-продуцентами под влиянием роста новообразования; появлением ингибиторов продукции цитокинов; изменением поверхности мембран иммунокомпетентных клеток с нарушением экспрессии рецепторов цитокинов и появлением дефектных генов; появлением растворимых форм рецепторов цитокинов, большинство из которых — активные ингибиторы функций клеток иммунной системы [301; 383].

Кроме того, при развитии новообразований некоторые цитокины могут быть для них факторами роста и агрессии [37; 58; 61; 301]. Например, известно, что цитокины, как IL-6, IL-8, IL-10, IL-16, TGF- $\beta$ , могут синтезироваться самими опухолевыми клетками и стимулировать рост по аутокринному механизму. В этих случаях интенсивность продукции цитокинов может быть очень высока, что делает возможным использование их в качестве прогностических факторов у конкретных пациентов [37; 136; 301; 383].



Согласно функциональной классификации цитокинов, семейство IL-6 (лиганды gp130) включает: IL-6, IL-11, IL-31, онкостатин-М, кардиотропин-1, Leukemia inhibitory factor, Ciliary neurotrophic factor [136; 236]. Один из цитокинов — мультифункциональный цитокин IL-6 относится к числу известных ингибиторов Fas-зависимого апоптоза, он не только регулирует рост и дифференцировку клеток различных тканей, но и играет важную роль в иммунном ответе в острой фазе воспалительного процесса [136; 193; 380]. Следовательно, IL-6 следует считать плеотропным цитокином [231], при этом выработка IL-6 стимулируется IL-1 и TNF- $\alpha$  [136].

Активация процессов с участием IL-6 начинается после его связывания с высокоафинным рецепторным мембраносвязанным комплексом. Растворимая форма рецептора IL-6 (IL-6Ps) является продуктом протеолиза мембраносвязанного рецептора. Регуляция образования IL-6Ps и его функции *in vivo* полностью не ясны, однако в литературе имеются данные о том, что при заболеваниях, характеризующихся повышением уровней IL-6 в крови, отмечено и увеличение экспрессии IL-6Ps [309].

Повышенная концентрация IL-6 выявлена в сыворотке крови онкологических больных, в том числе и при новообразованиях молочной железы и раке простаты, немелкоклеточном раке легкого, почки, желудка, поджелудочной железы и миеломе, колоректальном раке и саркомах костей [49; 157; 190; 193; 209; 233; 247].

Ранее было показано, что в РЭ+ опухолях молочной железы экспрессия IL-6 снижена, а экспозиция IL-6 способна подавлять экспрессию E-кадхерина в клетках РМЖ линии MCF-7 и одновременно индуцировать продукцию виментина, N-кадхерина, Snail и Twist в этих клетках [343]. В клинических и экспериментальных исследованиях показано, что RE $\alpha$ -негативные опухоли продуцируют больше IL-6, чем те, которые не экспрессируют RE $\alpha$  [319]. Также обнаружена повышенная концентрация IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ, у которых отсутствует экспрессия RE $\alpha$  в опухоли [221].

Обнаружено, что полихимиотерапия доцетакселом, адриамицином и циклофосфамидом, вызывает снижение экспрессии мРНК провоспалительного IL-6, но увеличивает экспрессию мРНК противовоспалительного IL-10 у больных РМЖ [296].

Также показано в работах других авторов, что IL-6, выделенный из стромальных и мезенхимальных клеток РМЖ, может способствовать канцерогенезу нормальных эпителиальных клеток молочной железы. Кроме того, доказано участие IL-6 в механизмах эпителиально-мезенхимального перехода — одного из ключевых свойств злокачественных опухолей, в том числе ряда культур клеточных линий РМЖ [111].

Кроме онкологических заболеваний повышение уровня IL-6 в крови наблюдается при многих патологических состояниях: тяжелых воспалительных процессах, инфекциях, травмах, при аутоиммунных заболеваниях, при аллергии и бронхиальной астме. IL-6 достаточно хорошо изучен как важнейший медиатор острой фазы воспаления, он постоянно присутствует в крови, поэтому его концентрация в большей степени соответствует выраженности лихорадки и клинических проявлений инфекции [303].

За последнее десятилетие накоплены данные о роли IL-6 в патогенезе ряда заболеваний, сопровождающихся повышением резорбции костной ткани: гиперпаратиреоз, болезнь Педжета, миеломная болезнь, ревматоидный артрит, тиреотоксикоз [135]. Также IL-6 модулирует экспрессию костного морфогенетического белка-рецептора II типа [117] и тесно связан с прогрессией опухолей костей [110]. Роль цитокинов в молекулярных механизмах морфологической трансформации нормальных клеток при митогенных стимулах, а также при неопластической трансформации, пока еще до конца не изучена, однако предполагается, что, они связаны со стимуляцией Ras-PI3K и Ras-МАРК сигнальных путей [37; 59; 317].

Онкологические заболевания и предопухолевые процессы являются наиболее привлекательной и в тоже время сложной областью изучения и применения цитокинов. Опухолевые клетки могут сами секретировать некоторые

цитокины, в том числе IL-6, и использовать их в качестве аутокринных факторов роста, способствующих экспансии опухолевого процесса [157]. При этом, чрезмерная продукция цитокинов клетками микроокружения опухоли также может благоприятствовать ее ускоренному росту и распространению [109]. Так, например, показано, что чрезмерная секреция IL-6 и TGF- $\beta$  подавляет иммунный ответ к опухолевым клеткам, а также усиливает формирование васкуляризированной стромы, без которой опухоль не может развиваться до клинически значимых размеров. Кроме того, макрофаги, способные инвазировать опухоли, сами секретируют эти цитокины локально [143; 157].

Исследования последних лет показали, что высокое содержание IL-6 позволяет рассматривать этот цитокин в качестве маркера агрессивности течения заболевания при раке яичников, а также планировать выбор объема хирургического лечения биотерапии антителами к IL-6 [193]. Антитела к IL-6 способны замедлять рост опухоли. Кроме противоопухолевого эффекта, воздействие антител к IL-6 приводит к снижению уровня СРБ, нормализации нейтропении и тромбоцитопении после проведенной химиотерапии. IL-6 вместе с IL-1 $\beta$  активно участвуют в патогенетических механизмах анорексии, кахексии и анемии у онкологических больных.

По данным некоторых авторов, IL-6 следует считать одним из этиологических факторов при РМЖ, поскольку он усиливает экспрессию ферментов стероидогенеза при эктопическом биосинтезе эстрогенов [3; 299]. Показано, что IL-6, TNF- $\alpha$ , PGE2 стимулируют активность ароматазы [299; 342]. Среди факторов, вырабатываемых в самой опухоли и способных влиять на активность ароматазы — ключевого фермента биосинтеза эстрогенов, особенно большое значение имеет IL-6. Убедительно было показано, что IL-6 стимулирует активность ароматазы не только в фибробластах, но и эпителиальных клетках малигнизированной ткани молочной железы, не влияя на активность в нормальных тканях [342]. В то же время, механизм регуляции активности ароматазы в молочной железе, вероятно, достаточно сложный, поскольку недавно показано, что и PGE2 также могут принимать участие в такой регуляции, влияя на

продукцию IL-6 в самой опухоли [299]. Кроме того, IL-6 и/или TNF- $\alpha$  могут изменять мембранную проницаемость, что приводит к местному увеличению концентрации Э<sub>1</sub>-С [342].

Достаточно перспективными представляется IL-6, который связан с развитием и ростом опухоли. Полагают, что определение содержания этого фактора в сыворотке крови больных РМЖ начальных стадий может быть весьма перспективной не только с научной точки зрения, но и в оценке прогноза заболевания [58; 59; 62].

### 1.7 Система Fas в норме и патологии

Программа уничтожения дефектных, инфицированных, аутореактивных, опухолевых и завершивших свой жизненный цикл клеток осуществляется с помощью апоптоза, или программированной гибели клеток [59; 68; 175]. В зависимости от условий, смерть клетки может пойти по апоптотическому или по некротическому пути. Показано, что многие цитокины, вызывающие пролиферацию или апоптоз клеток, способны запускать некротическую гибель клетки, причем пути передачи некротического сигнала перекрываются с передачей апоптотического сигнала [263]. Более того, клеточную смерть нельзя строго классифицировать на некроз и апоптоз, так как иногда она принимает промежуточные формы, в которых в разной степени выражены апоптотические и некротические признаки [255].

Одним из внешних факторов, запускающих в клетке апоптоз, является Fas-лиганд (FasL), который после взаимодействия со своим рецептором — Fas способен убить клетку в течение нескольких часов [88]. В 1989 году две независимые исследовательские группы получили мышинные моноклональные антитела (МА), обладающие цитолитической активностью против различных линий человеческих клеток [353; 382]. Белки клеточной поверхности, опознаваемые этими антителами, были названы Fas и APO-1, соответственно.

Fas/APO-1, также называемый CD95, способен запускать в клетке апоптоз после взаимодействия с его лигандом (FasL), или с агонистическими МА против

Fas. Fas/APO-1/CD95, относится к семейству рецепторов TNF [284]. TNF индуцирует апоптоз и активирует ядерный транскрипционный фактор Nf-κB [86]. Хотя оба рецептора TNF могут передавать как сигнал апоптоза, так и активации Nf-κB, в большинстве случаев передача этих сигналов осуществляется через TNFR1. Fas, также индуцирует в клетке апоптоз [353; 382]. Большинство других белков семейства рецепторов TNF передают сигналы активации или стимуляции клеток, хотя некоторые из них, такие как CD40 и CD30, имеют способность ингибировать клеточный рост, вероятно, также вызывая апоптоз.

FasL — белок, обладающий мощной цитотоксичностью против Fas-позитивных клеток [341]. Анализ структуры показал, что FasL является мембранным белком II типа, то есть его N-концевая последовательность находится в цитоплазме, а C-конец экспонирован в экстраклеточное пространство. Аминокислотная последовательность FasL имеет значительную гомологию с TNF — цитокином, определившим название семейства гомологичных ему белков. FasL экспрессируется преимущественно активированными лимфоцитами и натуральными киллерами (NK). Он существует в двух формах — нерастворимый или мембраносвязанный FasL (mFasL), и растворимый FasL (sFasL), отщепляющийся от mFasL с помощью металлопротеиназы [346]. sFasL — не только более слабый индуктор апоптоза, чем mFasL, но он также способен ингибировать действие mFasL, протеолитическим продуктом которого является [346].

Значение Fas-системы для функционирования организма особенно ярко проявляется в тех ситуациях, когда нарушена нормальная работа этой системы. Белок Fas продуцируется практически во всех типах тканей — в почках, печени, сердце и тимусе [367]. Наоборот, экспрессия FasL значительно ограничена вследствие его токсичности: FasL преимущественно экспрессируется активированными T-лимфоцитами и NK. Кроме того, есть данные, свидетельствующие о конститутивной экспрессии FasL в иммунопривилегированных тканях легких, яичек и глаза [178]. Исследования, проведенные с дефицитными или по перфорин/гранзиму или по FasL мышами,

показали, что перфорин/гранзим и FasL являются основными эффекторными молекулами ЦТЛ-опосредованной цитотоксичности [279]. Активация ЦТЛ через взаимодействие Т-клеточного рецептора с вирусными антигенами, индуцирует экспрессию гена FasL. FasL, экспрессированный на поверхности эффекторных клеток, связывается с Fas на клетках-мишенях, и вызывает апоптоз последних, активируя ICE-протеазы (каспазы) [151]. Показано, что Fas- и TNFR1-опосредованный апоптоз может происходить в присутствии ингибиторов синтеза РНК и белка [282]. Даже безъядерные клетки подвергаются апоптозу после активации Fas [324].

Функционирование Fas-системы поддерживает гомеостаз организма, но в случае неэффективной или избыточно активной работы системы могут наступить опасные для организма последствия. Потеря функциональной активности Fas-системы вызывает гиперплазию и лимфопрлиферацию. Мутации в любом из генов, участвующих в передаче и реализации апоптотического сигнала, а также повышенная экспрессия антиапоптотических белков, таких как Bcl-2, Bcl-x<sub>L</sub>, FLIP и IAP, способны подавлять апоптоз. Кроме мутаций в генах Fas и FasL, приводящих к неэффективной работе Fas-системы, причиной устойчивости различных типов клеток к Fas-зависимому апоптозу может быть повышенная продукция sFas этими клетками.

В литературе описано несколько изоформ растворимого Fas. Все изоформы sFas проявляли способность ингибировать Fas-зависимый апоптоз *in vitro*, при этом было показано, что для ингибирования Fas-зависимого апоптоза необходимо и достаточно всего 49 N-концевых аминокислотных остатков полноразмерного Fas [126]. При аутоиммунных заболеваниях, таких как системный туберкулез кожи [184], заболевание Грэйвса (аутоиммунный тиреоидит) [328] также наблюдали повышенный уровень sFas. Изменения в продукции sFas, по-видимому, объясняют и повреждения ткани при сердечной недостаточности [285].

Нарушения Fas-зависимого апоптоза были показаны при меланоме, колоректальном раке, гепатоцеллюлярной карциноме, раке легкого, эндометрия и РМЖ [79]. Повышенный уровень sFas в сыворотке крови наблюдали у пациентов

с гепатоцеллюлярной карциномой, причем у пациентов с множественной гепатоцеллюлярной карциномой концентрация sFas была выше, чем у пациентов с локализованной опухолью. После удаления опухоли в течение первой недели после операции наблюдали снижение концентрации sFas, что предполагает тесную связь sFas с развитием и течением этого заболевания [222].

Повышенный уровень sFas отмечали у пациентов с агрессивной не-Ходжкинской лимфомой. Выявлена значимая корреляция уровня sFas с концентрацией растворимого рецептора IL-2 (sIL-2R) и С-реактивного белка, при этом не обнаружено корреляции уровня sFas с количеством белых кровяных клеток и с активностью ЛДГ. Повышенная концентрация sFas была связана с клиническими симптомами и неблагоприятным прогнозом болезни при агрессивной не-Ходжкинской лимфоме [196]. Уровень сывороточного sFas при агрессивной не-Ходжкинской лимфоме, является независимым прогностическим фактором общей выживаемости, а уровень sFas в сыворотке крови выше 10 нг/мл при данном заболевании связан с неблагоприятным прогнозом болезни [282].

Обнаружено, что повышенный уровень sFas связан с плохим прогнозом болезни и при метастатическом РМЖ. Многофакторный анализ подтвердил, что уровень sFas является независимым фактором прогноза общей и безрецидивной выживаемости при РМЖ [355]. Связь повышенного содержания sFas в сыворотке крови с неблагоприятным прогнозом заболевания при РМЖ была также показана и в других работах [106; 107; 236; 291].

При метастатической меланоме, было выявлено повышение уровней sFas и sFasL в сыворотке крови, а также изучена связь данных показателей с устойчивостью опухоли к биохимиотерапии. При этом было показано, что одной из причин устойчивости меланомы к биохимиотерапии может быть повышение секреции sFas опухолевыми клетками, а повышенный уровень sFas и sFasL может быть связан с плохим прогнозом при распространенной меланоме [276]. У пациентов, получавших химиотерапию цитостатиками, наблюдали повышение концентрации sFas после лечения, тогда как у больных, получавших только INF- $\alpha$  или INF- $\alpha$  в сочетании с цитостатиками, изменений в концентрации sFas не

отмечали. В соответствии с однофакторным анализом, повышенная концентрация sFas была связана с ухудшением показателей общей и безрецидивной выживаемости. Многофакторный анализ показал, что уровень sFas в сыворотке крови является независимым критерием безрецидивной, но не общей выживаемости при меланоме [356].

При метастатическом РПЖ уровень sFas в сыворотке крови превышал соответствующий показатель при доброкачественной гиперплазии, что может быть связано с повышенной продукцией sFas клетками злокачественной опухоли, что определяет одну из составляющих потенциала агрессии опухоли. Многофакторный анализ выявил связь повышенного уровня sFas с ухудшением показателей общей и безрецидивной выживаемости больных раком простаты, при этом концентрация sFasL в сыворотке крови не имела клинического значения [183]. Также было показано, что уровень sFas в сыворотке крови больных раком яичников, является статистически значимым фактором выживаемости, как и гистологический вариант строения опухоли [235]. Согласно данным Pichon, некоторые препараты повышают концентрацию sFas, усиливая антиапоптотический эффект, что снижает эффективность проводимой терапии. Данные исследования предполагают, что мониторинг концентрации sFas в процессе лечения поможет выбрать индивидуальную схему терапии и наиболее эффективный химиопрепарат [292].

Несмотря на значительное количество опубликованных работ, посвященных изучению клинического значения sFas при различных опухолях, в литературе почти нет данных о содержании sFas в сыворотке крови больных РМЖ начальных стадий. Поэтому дальнейшее изучение связи показателей sFas с основными клиническими параметрами РМЖ T1-2N0M0 стадий и другими биохимическими, морфологическими факторами имеет большое теоретическое и практическое значение.



## Глава 2

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

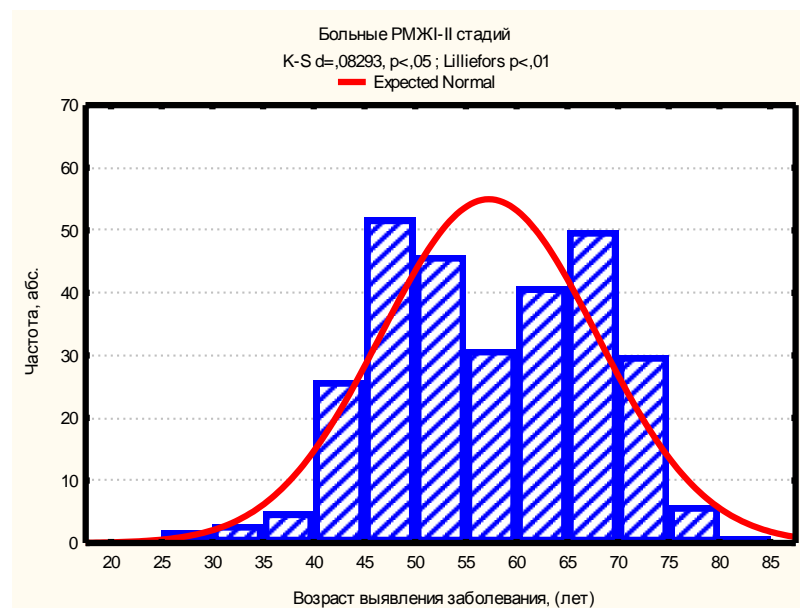
## 2.1 Характеристика больных раком молочной железы

В исследование включено 293 больных РМЖ с T1N0M0 и T2N0M0 стадиями.

Все пациентки проходили обследование и лечение в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в период с 2004 по 2014 год.

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

Больные РМЖ T1-2N0M0 стадий были в возрасте от 29 до 75 лет включительно. Средний возраст обследованных нами больных РМЖ T1-2N0M0 стадий составил  $57,3 \pm 0,6$  лет. Распределение больных РМЖ по возрасту представлено на рисунке 1.



**Рисунок 1** — Распределение больных РМЖ T1-2N0M0 стадий по возрасту в период выявления заболевания

Как следует из данных рисунка 1, частота выявления больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, наибольшая в возрасте 45-50 лет ( $n=52$ , 17,7%), а также в

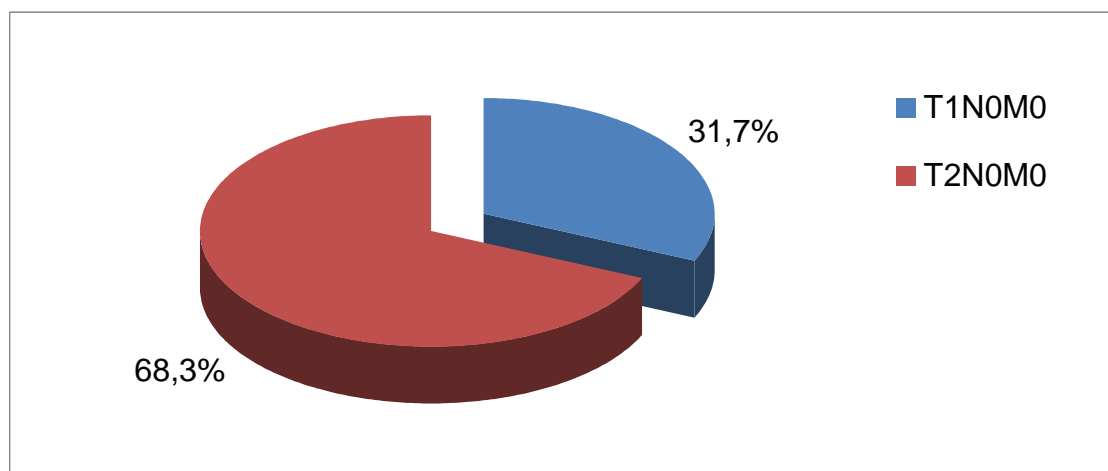
последующие 5 лет ( $n=46$ , 15,7%). Таким образом, 98 из 293 (33,4%) больных РМЖ в момент выявления заболевания были в возрасте от 45 до 55 лет, то есть в предменопаузальном и раннем постменопаузальном периоде жизни. В возрастном интервале от 60 до 70 лет также наблюдали высокую частоту выявления РМЖ ( $n=91$ , 31,1%).

Следует отметить, что средний возраст больных РМЖ с T1N0M0 и T2N0M0 стадиями практически не различался и составил  $57,2\pm 1,1$  и  $57,3\pm 0,8$  лет соответственно ( $p=0,9$ ). При этом следует отметить, что пик частоты выявления больных РМЖ с T1N0M0 стадией приходился на период 45-55 лет (38,7%). Тогда как в группе больных РМЖ с T2N0M0 стадией пик заболеваемости отмечен в возрастном периоде от 60 до 70 лет (32,5%).

Рак молочной железы у всех обследованных больных выявлен впервые и подтвержден данными морфологического исследования новообразования согласно «Международной гистологической классификации рака молочной железы по системе TNM» (AJCC-UICC, 7-е издание, 2010 года).

Перед назначением любого вида специального лечения у всех больных РМЖ проведено полноценное клиническое стадирование.

Распределение больных РМЖ с учетом стадии заболевания представлено на рисунке 2. У 93 (31,7%) пациенток установлена T1N0M0 стадия заболевания, у 200 (68,3%) — T2N0M0 стадия.



**Рисунок 2** — Распределение больных РМЖ по стадии заболевания

В настоящее время выделяют клиническую и морфологическую стадии РМЖ, которые могут существенно различаться, что впоследствии может влиять на выбор лечебной тактики на первом этапе.

Клиническое стадирование РМЖ осуществляли на основании результатов проведенного комплексного клинического обследования, патоморфологическое — на основании заключения патологоанатома после исследования удаленных хирургическим путем первичной опухоли и регионарных лимфатических коллекторов.

В настоящей работе первичное обследование больных РМЖ T1-N0M0 и T2N0M0 стадий было проведено пациенткам до всех видов лечебных воздействий (таблица 1).

**Таблица 1** — Клинико-лабораторные методы обследования больных РМЖ

<b>№</b>	<b>Наименование клинико-лабораторного метода обследования</b>
<b>1.</b>	Сбор анамнеза и физикальное обследование
<b>2.</b>	Билатеральная маммография + УЗИ молочных желез и регионарных зон; по показаниям — МРТ молочных желез
<b>3.</b>	Биопсия опухоли с гистологическим исследованием опухолевой ткани и определением рецепторов эстрогенов (РЭ), прогестерона (РП), Her2/neu и Ki-67
<b>4.</b>	Тонкоигольная аспирационная биопсия лимфатического узла при подозрении на метастатическое поражение
<b>5.</b>	Рентгенологическое исследование органов грудной клетки; по показаниям — КТ/МРТ органов грудной клетки
<b>6.</b>	УЗИ органов брюшной полости и малого таза, по показаниям — КТ/МРТ органов брюшной полости и малого таза с контрастированием
<b>7.</b>	Радиоизотопное исследование скелета (при болях в костях и повышенном уровне ЩФ) + рентгенологическое исследование зон накопления радиофармпрепарата
<b>8.</b>	Оценка функции яичников
<b>9.</b>	Генетическое обследование (мутации BRCA 1/2) при отягощенном наследственном анамнезе, а также у женщин молодого возраста (<35 лет)

В таблице 2 представлены данные о распределении больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом гистологического строения опухоли.

**Таблица 2** — Распределение больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом гистологической структуры опухоли

<b>Вариант</b>	<b>Абс. число</b>	<b>%</b>
Дольковый	32	11,0
Протоковый	127	43,3
Педжета (с узлообразованием)	32	11,0
Слизистый	8	2,7
Смешанный	94	32,0

Как следует из данных таблицы 2, в настоящем исследовании преобладали больные РМЖ T1-2N0M0 стадий с протоковым и смешанным гистологическими вариантами опухоли.

В таблице 3 представлено распределение больных РМЖ по стадии и гистологической структуре опухоли.

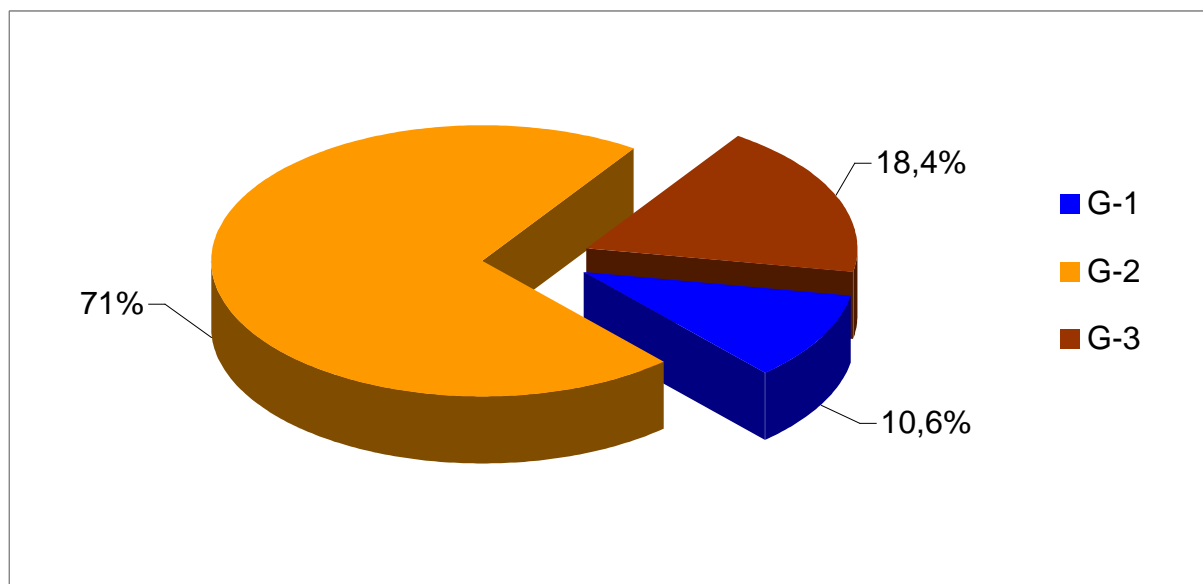
**Таблица 3** — Распределение больных РМЖ T1-2N0M0 стадий по гистологической структуре опухоли

<b>Гистологические варианты РМЖ</b>	<b>Стадия</b>	
	<b>T1N0M0 абс. число (%)</b>	<b>T2N0M0 абс. число (%)</b>
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)

Как следует из данных, представленных в таблице 3, T2N0M0 стадия РМЖ у больных редким слизистым вариантом выявлена в 7 раз чаще, чем T1N0M0 стадия. Тогда как при остальных вариантах — в 1,7-2,4 раза, что может указывать на скрытность течения этого варианта РМЖ.

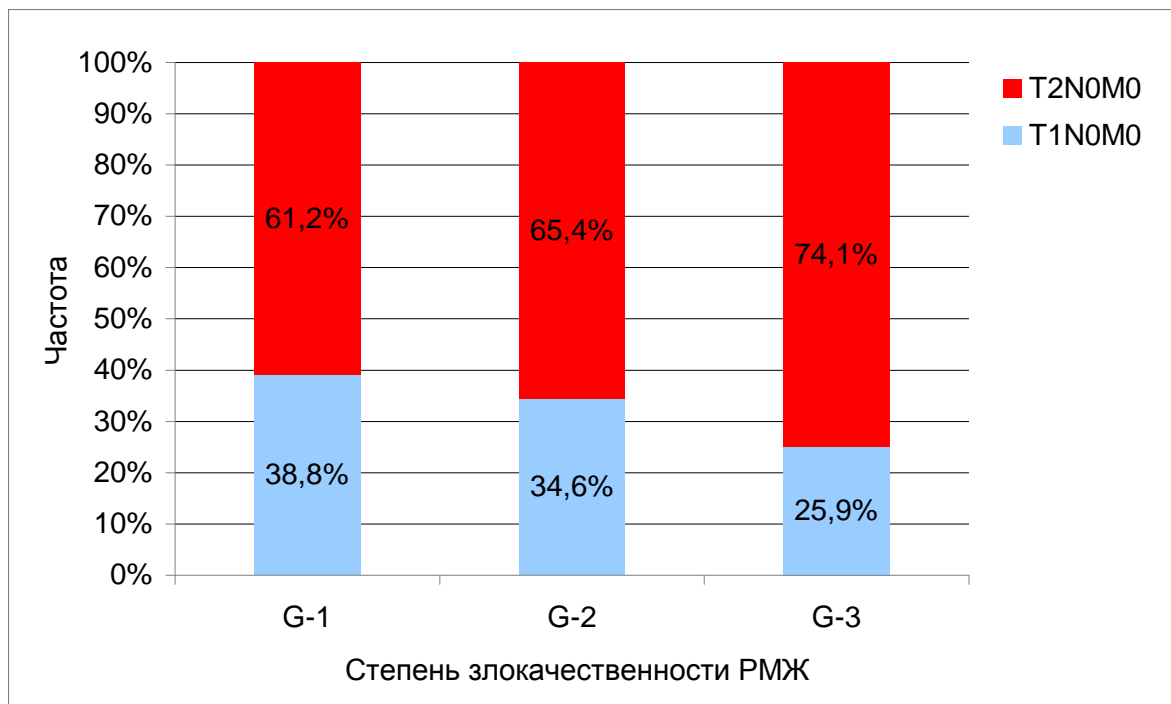
Кроме того, больные слизистым вариантом РМЖ отличались также большим средним возрастом пациенток в момент установления диагноза ( $59,7 \pm 4,2$  лет), наименьший средний возраст установлен в группе пациенток с дольковым вариантом РМЖ ( $55,0 \pm 2,3$  лет).

Больные РМЖ T1-2N0M0 стадий характеризовались низкой частотой выявления 1-й степени злокачественности опухоли (G-1) — 31/10,6%. В основном преобладали пациентки со 2-й степенью злокачественности опухоли (G-2) — 208/71%. Группа больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с 3-й степенью злокачественности опухоли (G-3) также были немногочисленны — 54/18,4% (рисунок 3). Отдельно с учетом стадии и степени злокачественности РМЖ выявлены следующие группы больных: в T1N0M0 стадии — G-1 (12), G-2 (67), G-3 (14); в T2N0M0 стадии — G-1 (19), G-2 (141), G-3 (40).



**Рисунок 3** — Распределение больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом степени злокачественности опухоли

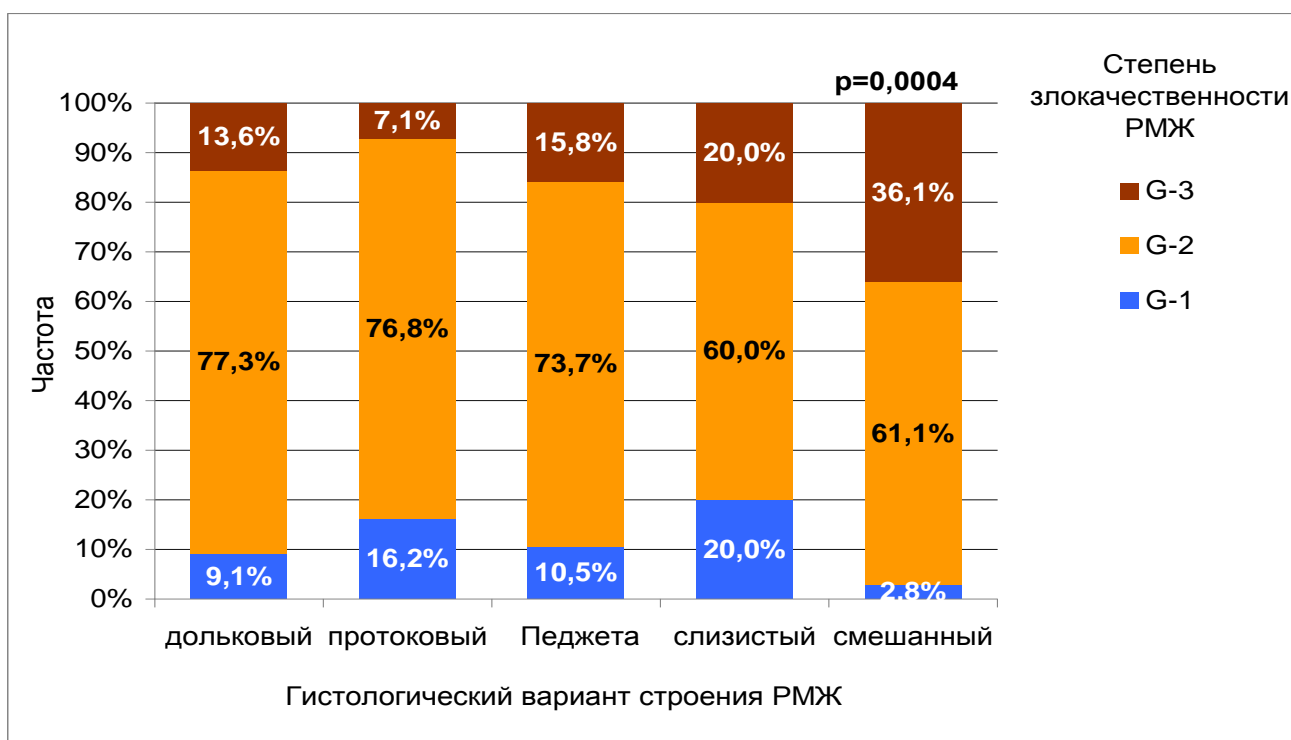
Следует отметить, что в группе больных РМЖ с G-1 опухоли частота превышения выявления T2N0M0 стадии относительно T1N0M0 стадии составила 1,6 раза, при G-2 — уже 1,9 раза, а при G-3 — 3 раза.



**Рисунок 4** — Распределение больных РМЖ с учетом степени злокачественности опухоли и стадии заболевания

Следует также указать на некоторые особенности в распределении степени злокачественности опухоли среди больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в группах с различным ее гистологическим вариантом строения (рисунок 5). Так, например, 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 5).

Распределение больных РМЖ с учетом рецепторного статуса опухоли представлено в таблице 4.



**Рисунок 5** — Распределение больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом степени злокачественности и гистологического строения опухоли

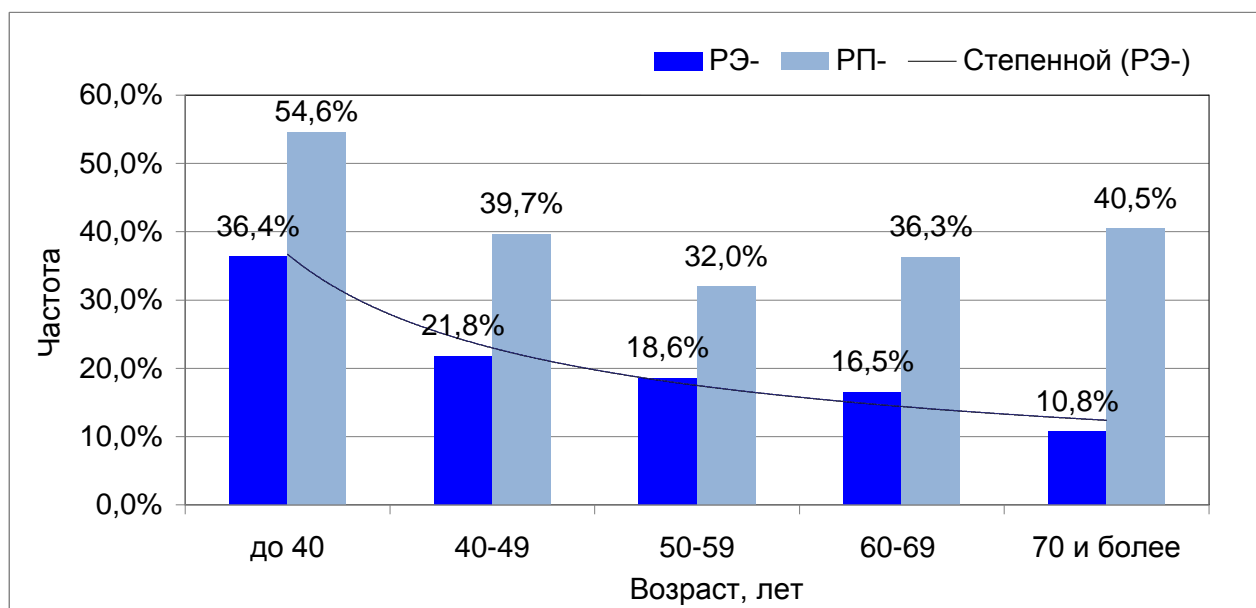
**Таблица 4** — Характеристика больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом рецепторного статуса опухоли

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)	

Окончание таблицы 4

Группы	Рецепторный статус РМЖ				P
	РЭ+ абс. ч. (%)	РЭ- абс. ч. (%)	РП+ абс. ч. (%)	РП- абс. ч. (%)	
Гистологический вариант РМЖ					
Дольковый	27 (84,4)	5 (15,6)	20 (62,5)	12 (37,5)	>0,05
Протоковый	99 (77,9)	28 (22,0)	78 (61,4)	49 (38,5)	
Педжета	24 (75,0)	8 (25,0)	17 (53,1)	15 (46,9)	
Слизистый	7 (87,5)	1 (12,5)	6 (75,0)	2 (25,0)	
Смешанный	81 (86,1)	13 (13,9)	63 (67,0)	31 (33,0)	
Возраст пациенток, годы M±m	57,9±0,7	54,6±1,5	57,5±0,8	56,9±1,0	РЭ+vsРЭ- p=0,042

Рецепторный статус по РЭ РМЖ 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 6).



**Рисунок 6** — Распределение больных РМЖ T1-2N0M0 стадий по частоте выявления РЭ- и РП- в зависимости от возраста



В таблице 5 представлены данные о частоте выявления Her2-neu в ткани опухоли.

**Таблица 5** — 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	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	

В таблице 6 представлена характеристика биологических подтипов РМЖ T1-2N0M0 стадий.

**Таблица 6** — Характеристика больных РМЖ T1-2N0M0 стадий по биологическим подтипам опухоли в общей группе пациенток и с учетом некоторых клинических 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

Как следует из данных, представленных в таблице 6, слизистый вариант РМЖ отличался наибольшей частотой выявления благоприятного подтипа

«люминальный А» (50%) и низкой частотой прогностически неблагоприятного варианта «тройной негативный» (0%). В то же время, рак Педжета характеризовался наибольшей частотой выявления неблагоприятного подтипа «тройной негативный» (21,9%) ( $p=0,08$  тенденция к различию).

## 2.2 Лечение больных РМЖ

Все пациентки получили хирургическое лечение, на основании оперативного материала проведено гистологическое исследование, выставлен диагноз и уточнены характеристики опухоли.

Выбор вида лечения осуществлялся на основании инструментальных и лабораторных методов диагностики РМЖ, а также по результатам хирургического материала. В таблице 7 представлена характеристика различных видов терапии, проведенных у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий.

**Таблица 7** — 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

Всего гормонотерапию получили 76/25,9% больных РМЖ T1-2N0M0 стадий. Химиотерапия проведена 91/31,0% больным РМЖ T1-2N0M0 стадий, из

них у 36 — по схеме CMF и у 55 — проведено лечение антрациклинами. Лучевому лечению подвергнуто 166/56,6% больных РМЖ T1-2N0M0 стадий.

### 2.3 Специальные лабораторные методы исследования

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

Иммуноферментные методы определения концентрации IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-3, матричной металлопротеиназы 2 типа (MMP-2), растворимого Fas-антигена (sFas), интерлейкина-6 (ИЛ-6) определяли натошак в сыворотке крови 293 больных РМЖ с T1N0M0 и T2N0M0 стадиями опухолевого процесса до проводимой терапии (исходно). Исследуемые маркеры определяли ИФА с помощью наборов реактивов, представленных в таблице 8.

**Таблица 8** — Иммуноферментные методы исследования сывороточных и тканевых маркеров у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий

Показатель	Название набора	Метод	Единицы измерения	Фирма
<b>IGF-I</b>	Non-extraction IGF-I ELISA DSL-10-2800	Двухэтапное иммуноферментное исследование «сендвичевского» типа	нг/мл	Diagnostic System Laboratories, Inc. (США)
<b>IGF-II</b>	Non-extraction IGF-II ELISA DSL-10-2600	Двухэтапное иммуноферментное исследование «сендвичевского» типа	нг/мл	Diagnostic System Laboratories, Inc. (США)

Окончание таблицы 8

Показатель	Название набора	Метод	Единицы измерения	Фирма
<b>ИФРСБ-1</b>	TOTAL IGFBP-1 ELISA DSL-10-7800	Двухэтапное иммуноферментное исследование «сендвичевского» типа	нг/мл	Diagnostic System Laboratories, Inc. (США)
<b>ИФРСБ-3</b>	IGFBP-3 ELISA DSL-10-6600	Двухэтапное иммуноферментное исследование «сендвичевского» типа	нг/мл	Diagnostic System Laboratories, Inc. (США)
<b>ММР-2</b>	Quantikine, «Human/Mouse/Rat ММР-2 (total) ELISA»	Иммуноферментное исследование «сендвичевского» типа	нг/мл	R&D systems, США
<b>ММР-2</b>	Quantikine, «Human/Mouse/Rat ММР-2 (total) ELISA»	Иммуноферментное исследование «сендвичевского» типа (в ткани)	мкг/мг белка	R&D systems, США
<b>uPA</b>	Набор для определения uPA	Иммуноферментное исследование «сендвичевского» типа (в ткани)	мкг/мг белка	Нидерланды
<b>IL-6</b>	«IL-6-ELISA»	Прямое иммуноферментное исследование	нг/мл	R&D systems, США
<b>sFas</b>	ИФА, метод разработан в ФГБУН Институт Биоорганической Химии им. академиков М.М. Шемякина и А.И. Овчинникова РАН	Прямое иммуноферментное исследование	нг/мл	Россия

Все вышеуказанные показатели определяли также в сыворотке крови контрольной группы, которую составили 75 здоровых женщин соответствующего возраста.

**Образцы сыворотки крови:** забирали натошак из кубитальной вены в чистую сухую пробирку на холоду. Для получения сыворотки образцы цельной крови центрифугировали в течение 10 мин при 3000 об/мин на холоду. Надосадочную фракцию (сыворотку) разливали на аликвоты по 0,5 мл и хранили при  $-70^{\circ}$  в течение от 2 недель до 2 месяцев до проведения иммуноферментного анализа.

Измерения проводили на автоматическом универсальном ридере для микроплашек «EL<sub>x</sub>800» фирмы «Bio-Tek Instruments, Inc.» (США). В соответствии с инструкциями производителя, 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.

В соответствии с линейностью метода пробы образцов сыворотки крови, в которых измеренная концентрация вышеуказанных маркеров превышала верхнюю границу стандартной кривой, разводили входящим в состав набора буфером и исследовали повторно.

**ИФА определения (ELISA) uPA в цитозольной фракции ткани РМЖ.** Иммуноферментное определение (ELISA) содержания uPA в цитозольной фракции ткани проводили с использованием наборов реактивов, разработанных в лаборатории проф. Т. Venraad'a (Ниймеген, Нидерланды; Grebenschikov V. et al., 1997). При окончательных расчетах учитывали 10-кратное разведение цитозолей и выражали концентрацию uPA в нг/мг цитозольного белка. Определение концентрации общего белка в пробах цитозоля проводили по методу Лоури.

Измерения проводили на автоматическом универсальном ридере для микроплашек EL<sub>x</sub>800 фирмы «Bio-Tek Instruments, Inc.» (США). В соответствии с

инструкциями производителя, обработку результатов измерений проводили по формуле  $Y = a + bX + cX^2$ , где  $X$  — концентрация анализируемого белка (нг/мл), а  $Y$  — оптическая плотность при 492 нм. При окончательных расчетах учитывали десятикратное разведение цитозолей и выражали концентрации анализируемых белков в нг/мг цитозольного белка.

Определение концентрации общего белка в пробах цитозоля проводили по методу Лоури.

**Метод определения экспрессии белка Her2-neu в ткани опухоли.** Анализ уровня экспрессии рецепторного белка Her2-neu проводили с помощью иммуногистохимического метода, исследование на серийных парафиновых срезах с помощью биотин-стрептавидинового иммунопероксидазного метода с применением антител к белковому маркеру Her-2/neu.

Для иммуногистохимического окрашивания, образцы тканей РМЖ и пограничных с опухолью участков ткани молочной железы фиксировали в 10% забуференном формалине (рН 7,2), проводили по спиртам и ксилолам, заливали в парафин, а затем готовили серийные срезы толщиной 3-5 мкм, которые наносили на стекла с адгезивным покрытием (Polysine Menzel-Glaser).

Уровень экспрессии белкового маркера Her-2/neu определяли с помощью стрептавидин-биотинового иммунопероксидазного метода. Окрашивание парафиновых срезов ткани первичных опухолей у 248 больных раком молочной железы, проводили с использованием моноклональных антител к белку Her-2/neu (фирма «Дакко», Дания). По интенсивности экспрессии белка Her-2/neu в мембранах клеток опухоли больные были разделены на группы: 1) группа — отсутствие экспрессии белка (0 — 1+); 2) группа — наличие экспрессии белка (2+ — 3+).

**Метод определения уровня экспрессии рецепторов половых стероидных гормонов (рецепторов эстрогенов — РЭ, рецепторов прогестерона — РП) в опухоли.** Экспрессию РЭ и РП в ткани опухоли изучали с помощью общепринятых иммуногистохимических методов исследования, путем окрашивания парафиновых срезов ткани первичных опухолей 248 больных раком молочной железы с использованием моноклональных антител (фирма «Дакко»,

Дания). По интенсивности экспрессии РЭ и РП в цитоплазме и ядрах опухолевых клеток больные были разделены на группы: 1 группа — отсутствие экспрессии (РЭ- и РП-); 2 — наличие экспрессии (РЭ+ и РП+).

## 2.4 Статистический анализ полученных результатов

Выбор основных характеристик и статистических критериев при их сравнении осуществляли после изучения распределения признака и его сравнения с распределением Гаусса по критерию Колмогорова-Смирнова [66]. Для числовых признаков с распределением, соответствующим распределению Гаусса, рассчитывали средние значения числовых признаков, стандартное отклонение. Достоверность различий  $p$  рассчитывали дисперсионным анализом [27]. 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  $\chi^2$  [75]. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Рассчитывали чувствительность и специфичность пороговых значений маркеров по 95% доверительному интервалу в группе контроля [5]. 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», (ICH Guidelines // Good Clin. Pract. J. — 1998. — Vol. 5, N 4. — P. 27-37).

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



## Глава 3

СИСТЕМА ИНСУЛИНОПОДОБНЫХ ФАКТОРОВ РОСТА  
И ИХ ТРАНСПОРТНЫХ БЕЛКОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

## БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

## T1N0M0 И T2N0M0 СТАДИЙ

(результаты собственных исследований)

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

Показатели IGF-I исследовали исходно (до начала лечения) в сыворотке крови 293 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и у здоровых женщин (группа контроля). Полученные нами данные представлены в таблице 9.

**Таблица 9** — 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		

Как следует из данных, представленных в таблице 9, содержание IGF-I в сыворотке крови общей группы больных РМЖ T1-2N0M0 стадий было достоверно ниже (154±60,2 нг/мл), чем в контроле (199±65,4 нг/мл; p=0,00013).

Полученные нами данные проанализировали относительно диагностической ценности сывороточного маркера IGF-I при подозрении на злокачественную опухоль молочной железы у женщин. Однако, при разделении группы контроля и группы больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий по нижнему значению 95%ДИ сывороточного показателя IGF-I в группе контроля, равному 83 нг/мл, чувствительность маркера составила только 18,1% (53 из 293), специфичность —

94,1% (32 из 34). Следовательно, значения IGF-I, определенные в сыворотке крови, не обладают достаточной диагностической значимостью при выявлении РМЖ у женщин.

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

Нами не установлено корреляционной зависимости между возрастом больных РМЖ и содержанием IGF-I в сыворотке крови. В таблице 10 представлены данные по содержанию сывороточного IGF-I в разных возрастных группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий.

**Таблица 10** — Содержание IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от возраста

Уровень IGF-I, нг/мл	Возраст, лет				
	До 40	40-49	50-59	60-69	70 и более
	N=11	N=78	N=76	N=91	N=37
M±σ	140±92,2	154±60,2	156±63,4	152±63,6	155±67,0
<b>Примечание:</b> p>0,05					

Как видно из данных, представленных в таблице 10, значения IGF-I в сыворотке крови не были связаны с возрастом больных РМЖ T1-2N0M0 стадий.

В таблице 11 представлены данные о содержании IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ с различными стадиями заболевания.

**Таблица 11** — Содержание IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ в зависимости от стадии опухолевого процесса

Уровень IGF-I, нг/мл	Стадия РИЖ	
	T1N0M0 N=93	T2N0M0 N=200
M±σ	156±63,3	153±64,4
<b>Примечание:</b> p>0,05		

В таблице 12 представлены данные о содержании изученного маркера IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ до лечения в группах пациенток с различной степенью злокачественности опухоли.

**Таблица 12** — 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
<b>Примечание:</b> p>0,05			

Из данных, представленных в таблице 12, следует, что показатели IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий не коррелировали со степенью злокачественности опухоли.

В таблице 13 представлены результаты исследования содержания IGF-I в группах больных РМЖ с учетом гистологического строения опухоли. Следует отметить, что 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. Различия статистически недостоверны.

**Таблица 13** — 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
<b>Примечание:</b> 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 14). Аналогичная закономерность, но тенденция выявлена нами и при изучении РП статуса опухоли.

**Таблица 14** — 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
М±σ	165±61,2	104±52,1	171±58,3	125±63,7
<b>Примечание:</b> 1vs2 p<0,0001; 3vs4 p<0,0001				

Выявлены достоверно меньшие значения IGF-I в группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с выявленной экспрессией в опухоли белка Her2-neu, данные представлены в таблице 15.

**Таблица 15** — 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	Рецепторный статус опухоли	
	Her2-neu- <sup>1</sup> N=242	Her2-neu+ <sup>2</sup> N=51
М±σ	160±64,0	124±55,8
<b>Примечание:</b> 1vs2 p=0,0002		

Значимо большие уровни IGF-I (p<0,001) выявлены в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с «люминальным А» биологическим подтипом опухоли (таблица 16). При этом уровни IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с «люминальным А» биологическим подтипом опухоли не отличались от таковых в контроле (180±56,2 против 199±65,4 нг/мл

соответственно;  $p=0,1$ ), но были высокодостоверно 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 16** — 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+, ПР-, 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
М±σ	180±56,2	164±61,0	146±67,3	151±54,4	114±59,7	90,9±37,0
<b>Примечание:</b> 1vs2,3,4,5,6 $p < 0,001$ ; 2,3,4vs5,6 $p < 0,05$						

Подводя итоги исследования содержание 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 обладал 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.

Таким образом, проведенный нами сравнительный анализ сывороточных уровней IGF-I у больных РМЖ и у практически здоровых женщин убедительно показал связь маркера с конкретными биологическими характеристиками опухоли.

### 3.3 Показатель IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ

#### T1-2N0M0 стадий и в контроле

Показатель IGF-II исследовали до лечения в сыворотке крови 279 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий. Полученные нами данные представлены в таблице 17.

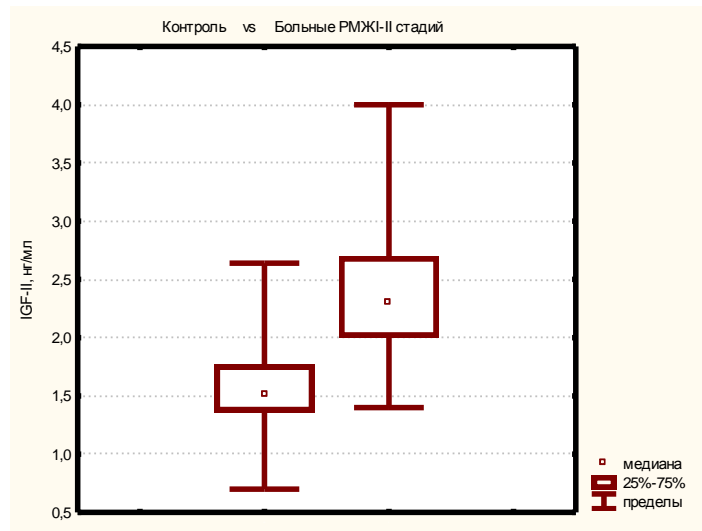
**Таблица 17** — Содержание IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в группе контроля

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	

Как следует из данных, представленных в таблице 17, 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±0,6 и 1,5±0,3 мкг/мл соответственно).

При разделении здоровых женщин группы контроля и больных РМЖ T1-2N0M0 стадий по верхнему значению 95%ДИ показателя IGF-II в контроле, равному 2,0 мкг/мл, диагностическая чувствительность маркера составила 76,7% (214 из 279), специфичность — 94,1% (32 из 34).

На рисунке 7 представлены медианы, квартили и пределы колебаний показателя IGF-II в сыворотке крови в группе контроля и у больных РМЖ.



**Рисунок 7** — Содержание IGF-II в сыворотке крови женщин группы контроля и больных РМЖ T1-2N0M0 стадий

Таким образом, значения IGF-II, выявленные в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, обладали приемлемой для медицинской практики диагностической ценностью и, следовательно, могут быть использованы в качестве серологического маркера в диагностике злокачественных опухолей молочной железы.

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

Не установлено корреляционной зависимости между возрастом пациенток с РМЖ T1-2N0M0 стадий и содержанием IGF-II в сыворотке крови. В таблице 18 представлены данные о содержании сывороточного IGF-II в разных возрастных группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий.

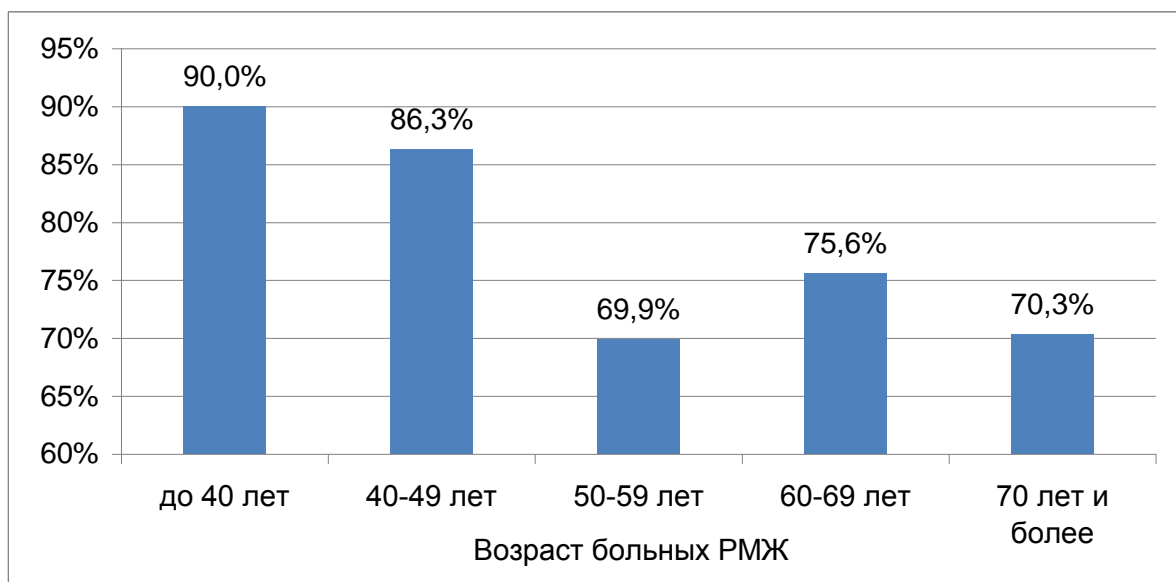
**Таблица 18** — Содержание IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от их возраста

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
<b>Примечание:</b> p>0,05.					

Как видно из данных, приведенных в таблице 18, уровни IGF-II в сыворотке крови не были значимо связаны с возрастом больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, хотя наибольшее содержание маркера выявлено в группе пациенток в возрасте до 40 лет, а наименьшее — у больных РМЖ в возрасте старше 50 лет. При этом не отмечено различий в частоте выявления больных моложе и старше 50 лет в группах с T1N0M0 и T2N0M0 стадиями ( $p=0,9$ ), в группах с разной степенью злокачественности ( $p=0,9$ ). В группах с разным статусом по белку Her2-neu частота больных в возрасте до 50 лет с Her2-neu- опухолями была несколько выше и составила 38,3% против 22,2% с Her2neu+ опухолями, различия были также статистически незначимы ( $p=0,26$ ). Вместе с тем, многофакторный анализ обнаружил значимую связь IGF-II с возрастом больных РМЖ ( $p=0,018$ ).

Частота превышения порогового уровня сывороточного IGF-II в контроле, равного 2,0 нг/мл, была наибольшей, и составила 90% у больных РМЖ в возрасте моложе 40 лет. Снижалась с увеличением возраста до 86,3% — у пациенток 40-49 лет, до 69,9% — у пациенток 50-59 лет, до 75,6% — у пациенток 60-69 лет и до 70,3% — в группе больных старше 70 лет (рисунок 8). При этом частота выявления Her2-neu+ опухолей составила 18,2% в группе больных моложе 50 лет и 32,6% в группе больных старше 50 лет ( $p=0,4$ ). Частота выявления неблагоприятной степени дифференцировки G-3 составила 37,5% в группе пациенток моложе 40 лет и 7,4% в группе старше 70 лет. У больных в возрасте от 40 до 70 лет опухоли со степенью дифференцировки G-3 были выявлены примерно с равной частотой от 16 до 22% ( $p=0,5$ ). Также не обнаружено различий в возрастных группах с учетом стадии РМЖ ( $p=0,9$ ) и биологического подтипа опухоли ( $p=0,7$ ).





**Рисунок 8** — Чувствительность порогового уровня маркера IGF-II, определенного в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, в зависимости от их возраста

Таким образом, чувствительность данного порогового значения маркера IGF-II (2,0 мкг/мл) была очень высокой у больных РМЖ в возрасте до 50 лет (86,7%), но снижалась до неприемлемого уровня у пациенток в возрасте от 50 лет и старше (72,2%), что снижает диагностическую возможность применения этого маркера у больных РМЖ.

В таблице 19 представлены данные о содержании IGF-II, измеренные в сыворотке крови больных РМЖ в группах с различной стадией заболевания. Как следует из представленных данных, уровни IGF-II не отражали стадию опухолевого процесса.

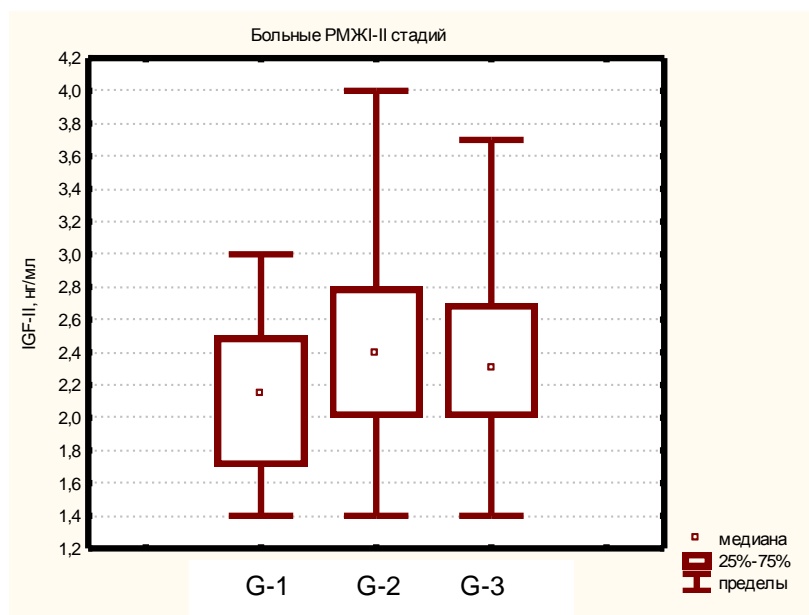
**Таблица 19** — Содержание IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ в зависимости от стадии опухолевого процесса

Уровень IGF-II, мкг/мл	Стадия РМЖ	
	T1N0M0 N=87	T2N0M0 N=192
M±σ	2,3±0,6	2,3±0,6
<b>Примечание:</b> p>0,05		

В таблице 20 представлены данные о содержании исследованного маркера IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий до начала лечения с различной степенью злокачественности опухоли, а на рисунке 9 более наглядно представлена выявленная зависимость уровня маркера от степени злокачественности опухоли.

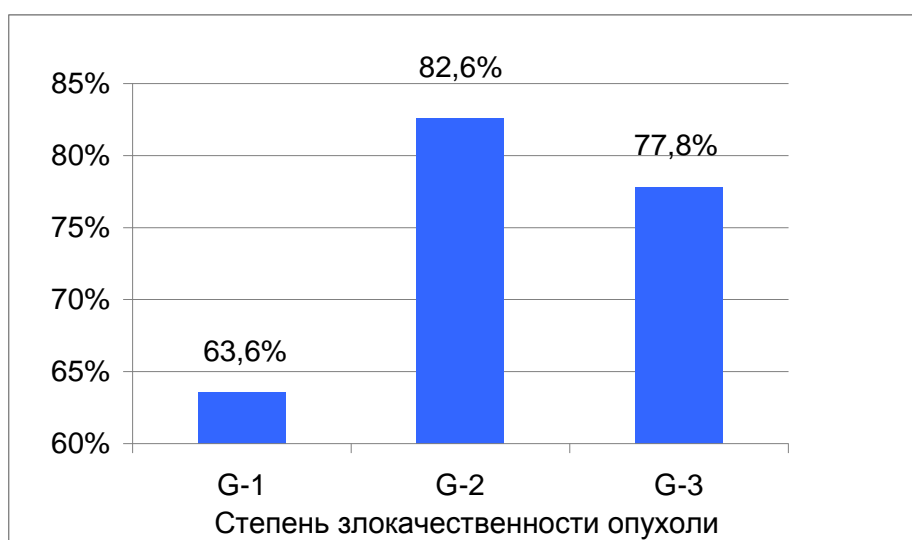
**Таблица 20** — Содержание IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от степени злокачественности опухоли

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
<b>Примечание:</b> 1vs2 p=0,03			



**Рисунок 9** — Содержание IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ в зависимости от степени злокачественности опухоли

Установлено, что частота превышения порогового значения IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ составила только 63,6%, тогда как в группе пациенток с G-2 и G-3 опухоли равнялась 82,6% и 77,8% соответственно (рисунок 10).



**Рисунок 10** — Чувствительность порогового уровня маркера IGF-II, определенного в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, в зависимости от степени злокачественности опухоли

В таблице 21 представлены данные о содержании IGF-II в сыворотке крови в группах больных РМЖ с учетом гистологического строения опухоли, различия между группами в показателях сывороточного маркера были статистически недостоверными.

**Таблица 21** — Содержание IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от гистологического строения опухоли

Уровень IGF-II, мкг/мл	Гистологический вариант строения рака молочной железы				
	дольковый N=32	протоковый N=123	Педжета N=31	слизистый N=6	смешанный N=87
M±σ	2,4±0,7	2,4±0,6	2,5±0,7	2,2±0,6	2,3±0,5
<b>Примечание:</b> p>0,05					

Отметим также, что чувствительность порогового уровня сывороточного маркера IGF-II, равного 2,0 мкг/мл, была наибольшей в группе больных раком Педжета (87,1%), но не достигала приемлемого уровня при слизистом варианте РМЖ (66,7%).

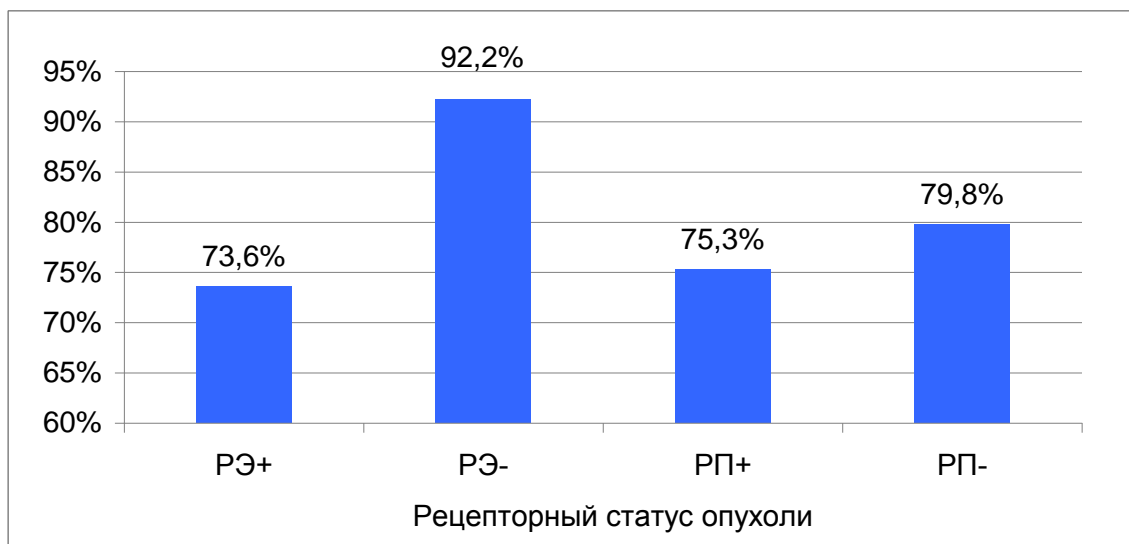
Нами не обнаружено значимых различий в содержании IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ со статусом опухоли РЭ- по сравнению с таковым у

пациенток с РЭ+ опухолями (таблица 22). Аналогичная тенденция отмечена и при изучении РП статуса у больных РМЖ.

**Таблица 22** — Содержание IGF-II в сыворотке крови больных РМЖТ1-2N0M0 стадий в зависимости от статуса РЭ и РП опухоли

Уровень IGF-II, мкг/мл	Рецепторный статус рака молочной железы			
	РЭ+ <sup>1</sup> N=227	РЭ- <sup>2</sup> N=52	РП+ <sup>3</sup> N=174	РП- <sup>4</sup> N=105
М±σ	2,3±0,6	2,4±0,5	2,4±0,6	2,3±0,6
<b>Примечание:</b> 1vs2 p>0,05; 3vs4 p>0,05				

В то же время, анализ частоты превышения порогового уровня IGF-II в контроле показал значимые различия между группами больных РМЖ Т1-2N0M0 стадий с различным статусом РЭ (рисунок 11). Так, высокая чувствительность маркера IGF-II достигала 92,2% у больных с РЭ-опухолями, тогда как при РЭ+ опухолях она достигала уровня 73,6%. Рецепторный статус опухоли по РП не изменял значимо частоту превышения IGF-II в сыворотке крови больных относительно группы контроля.



**Рисунок 11** — Чувствительность порогового уровня IGF-II, определенного в сыворотке крови больных РМЖ Т1-2N0M0 стадий, в зависимости от рецепторного статуса опухоли

Обнаружены достоверно высокие значения IGF-II в группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с неблагоприятным статусом опухоли по Her2-neu+ (таблица 23).

**Таблица 23** — 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	Рецепторный РМЖ	
	Her2-neu <sup>-1</sup> N=231	Her2-neu <sup>+2</sup> N=48
M±σ	2,1±0,5	2,6±0,7
<b>Примечание:</b> 1vs2 p=0,003		

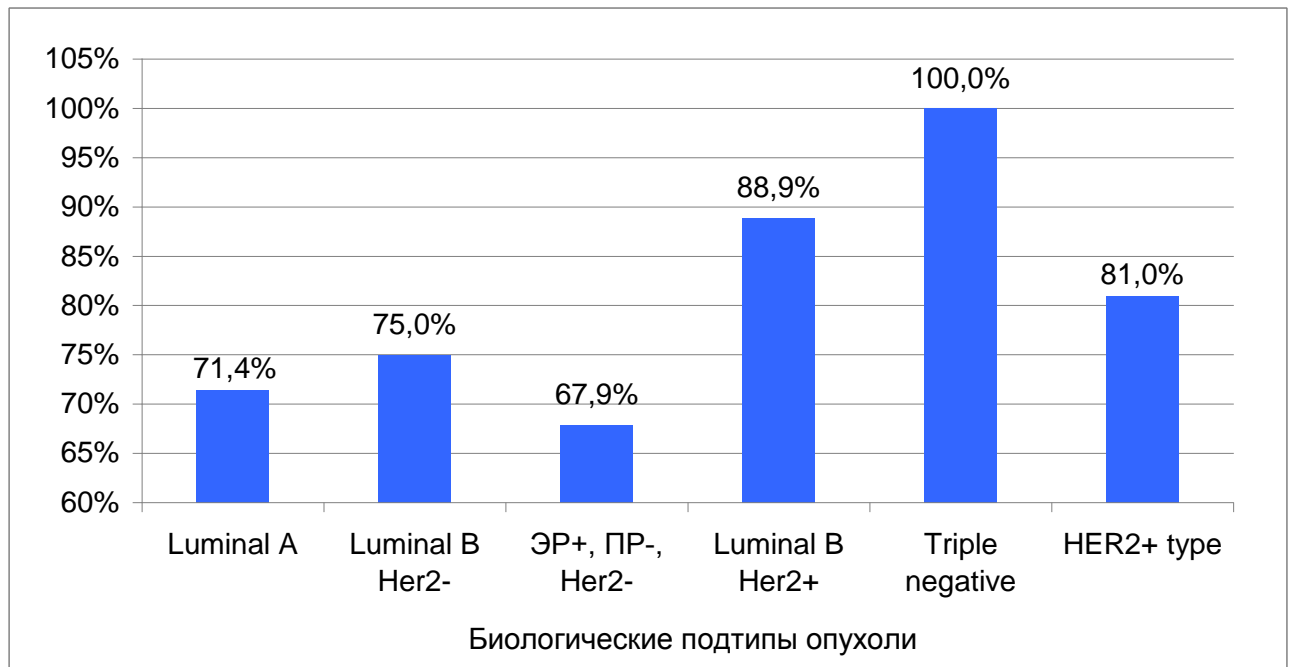
Частота превышения сывороточного содержания IGF-II в группе контроля равнялась 75,2% у больных с отсутствием экспрессии Her2-neu в опухоли и достоверно не отличалась при его наличии — 85,4% (p=0,1), то есть превышала рекомендованный уровень 75,0% в обеих группах.

Наиболее низкие значения IGF-II обнаружены в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с биологическим подтипом опухоли «люминальный А» (таблица 24).

**Таблица 24** — 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+ 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
<b>Примечание:</b> 1,2,3vs4 p<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%». Данные этого раздела исследования представлены на рисунке 12 ( $p=0,008$ ).



**Рисунок 12** — Чувствительность порогового уровня маркера IGF-II определенного в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, в зависимости от биологического подтипа опухоли.

Следовательно, 4, 5 и 6 биологические подтипы РМЖ, следует отнести к неблагоприятным по уровням IGF-II, в сыворотке крови больных с T1-2N0M0 стадиями опухолевого процесса.

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, и 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 (86-90%), но 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 уже 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.

### 3.5 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. Полученные нами данные представлены в таблице 25.

**Таблица 25** — Содержание IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в контроле

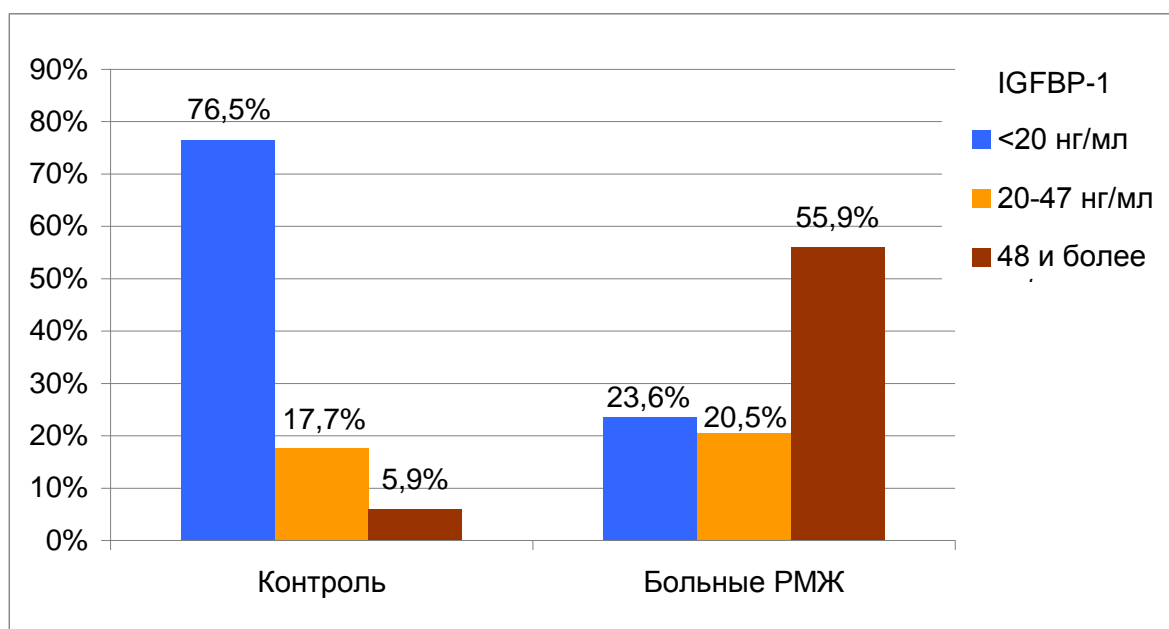
Группы	Содержание IGFBP-1 в сыворотке крови, нг/мл			P
	M±σ	пределы колебания	95ДИ	
Контроль <sup>1</sup>	13,7±17,1	0-82,3	0-48	1 vs2 p<0,0001
Общая группа больных РМЖ <sup>2</sup>	49,4±32,7	0-99	0-90	

Как следует из данных, представленных в таблице 25, содержание IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий было достоверно выше, чем в контроле (средние показатели IGFBP-1 составили 49,4±32,7 и 13,7±17,1 нг/мл соответственно). Полученные данные указывают на определенную диагностическую способность IGFBP-1 при подозрении на злокачественную опухоль молочной железы у женщин.

При разделении групп контроля и больных РМЖ T1-2N0M0 стадий по верхнему значению 95%ДИ показателя IGFBP-1 в контроле, равному 48,0 нг/мл, чувствительность маркера составила 55,9% (161 из 288), специфичность 94,1% (32 из 34). Однако, лучшие диагностические характеристики этого маркера выявлены нами при анализе полученных данных с помощью метода построения кривых ROC с пороговым значением IGFBP-1 в сыворотке крови равным 20,0 нг/мл (чувствительность маркера составила 76,4% при специфичности 76,5%).



Таким образом, значения IGFBP-1, определенные в сыворотке крови, обладают необходимой для медицинской практики диагностической ценностью при подозрении у женщин злокачественной опухоли молочной железы. При значениях сывороточного маркера выше 48,0 нг/мл вероятность наличия РМЖ многократно превышала вероятность ее отсутствия. При значении IGFBP-1 в сыворотке крови менее 20,0 нг/мл вероятность отсутствия РМЖ превышала его наличие в 3,2 раза ( $p < 0,0001$ ). При значении маркера в пределах 20-48 нг/мл вероятность наличия и отсутствия РМЖ различалась всего на 3%. Стало быть, эта область значений маркера IGFBP-1 наименее информативна в плане выявления РМЖ T1-2N0M0 стадий (рисунок 13).



**Рисунок 13** — Частота выявления различных уровней IGFBP-1 в сыворотке крови в группе контроля и у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий

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

Анализ полученных нами результатов определения исходной концентрации IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий выявил следующие особенности. Так, нами не установлено корреляционной зависимости между показателями возраста больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и содержанием IGFBP-1

в сыворотке крови. В таблице 26 представлены показатели сывороточного IGFBP-1 в разных возрастных группах больных РМЖ без учета стадии заболевания.

**Таблица 26** — Содержание IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от их возраста

Уровень IGFBP-1, нг/мл	Возраст больных РМЖ, лет				
	до 40 N=11	40-49 N=77	50-59 N=72	60-69 N=91	70 и более N=37
M±σ	52,4±31,7	51,4±31,0	48,6±35,9	49,9±31,0	45,1±35,4
<b>Примечание:</b> p>0,05					

Данные, представленные в таблице 26, не подтверждают какой-либо связи значений IGFBP-1 сыворотки крови и возраста больных РМЖ T1-2N0M0 стадий. Однако, следует отметить, что наибольшее содержание маркера выявлено в сыворотке крови больных РМЖ в возрасте до 40 лет, а наименьшее — у больных в возрасте от 70 лет и старше. При этом диагностическая чувствительность исследованного маркера IGFBP-1 при пороговом его уровне в сыворотке крови равном 20,0 нг/мл в группе больных РМЖ младше 40 лет повышалась до 81,8%, но снижалась у больных в старшей возрастной группе 70 лет и более до 67,7%.

В таблице 27 представлены данные о содержании IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ в группах с разными стадиями заболевания.

**Таблица 27** — 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
<b>Примечание:</b> p>0,05		

У больных РМЖ T2N0M0 стадии обнаружена тенденция к более высоким уровням сывороточного IGFBP-1. При этом важно отметить, что диагностическая чувствительность маркера IGFBP-1 при пороговом его уровне в сыворотке крови равном 20,0 нг/мл у больных РМЖ T1N0M0 стадии была недостаточной и составила 71,7%, а у больных РМЖ с T2N0M0 стадией равнялась 78,5%.

В таблице 28 представлены данные о содержании изученного маркера IGFBP-1 в сыворотке крови общей группы больных РМЖ T1-2N0M0 стадий до лечения с учетом степени злокачественности опухоли.

**Таблица 28** — Содержание IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от степени злокачественности опухоли

Уровень IGFBP-1, нг/мл	Степень злокачественности РМЖ		
	G-1 N=31	G-2 N=203	G-3 N=54
M±σ	49,3±30,5	48,8±34,4	51,3±24,4
<b>Примечание:</b> p>0,05			

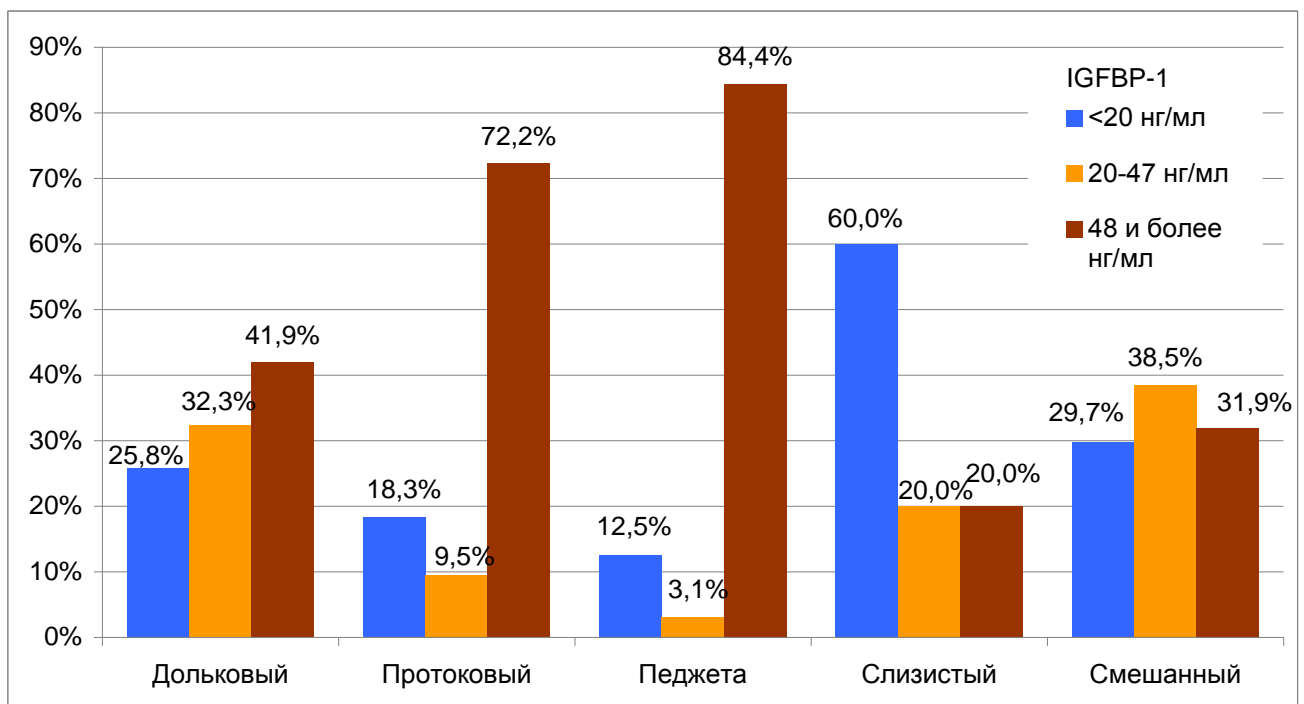
Из данных, представленных в таблице 28, следует, что значения IGFBP-1 в сыворотке крови в общей группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий слабо отражали степень злокачественности опухоли. Однако следует отметить значимое повышение диагностической чувствительности маркера до уровня 92,3% в выявлении злокачественной опухоли молочной железы с III степенью злокачественности (G-3) при пороговом значении IGFBP-1 в сыворотке крови равном 20,0 нг/мл.

В таблице 29 представлены данные о содержании маркера IGFBP-1 в группах больных РМЖ с различными гистологическими вариантами строения опухоли. Отметим, что при раке Педжета и протоковом инфильтративном РМЖ показатели IGFBP-1 были достоверно более высокими, тогда как при слизистом РМЖ, напротив, показатели маркера были ближе к значениям маркера в группе контроля.

**Таблица 29** — Содержание IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ Т1-2N0M0 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
М±σ	39,7±28,0	60,0±32,4	67,9±28,1	21,2±30,6	34,8±27,0
<b>Примечание:</b> 1vs2,3 p<0,001; 2vs4,5,6 p<0,01; 3vs4,5,6 p<0,001					

Следует отметить, что у больных раком Педжета, диагностическая чувствительность порогового значения IGFBP-1 в сыворотке крови равного 48,0 нг/мл, достигала приемлемого уровня в 84,4%. У больных со слизистым вариантом РМЖ диагностическая чувствительность порогового уровня маркера 20,0 нг/мл равнялась всего 40,0%, а порогового уровня 48,0 нг/мл была очень низкой — 20,0% (рисунок 14).



**Рисунок 14** — Частота выявления различных уровней IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ Т1-2N0M0 стадий с различным гистологическим строением опухоли

Полученные нами данные указывают на тот факт, что уровни сывороточного маркера IGFBP-1 тесно связаны с гистологической структурой РМЖ. При этом, диагностические характеристики маркера в распознавании РМЖ следует считать наиболее высокими при раке Педжета, тогда как слизистый вариант строения опухоли по уровню данного маркера отделить от группы контроля (здоровые женщины) не представлялся возможным.

Обнаружена тенденция к более низким уровням IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ со статусом опухоли РЭ+ по сравнению с таковым у пациенток с РЭ- опухолями (таблица 30). Не выявлено различий в содержания IGFBP-1 при изучении РП статуса опухоли. Чувствительность пороговых значений маркера также не была связана с рецепторным статусом опухоли.

**Таблица 30** — Содержание IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от статуса РЭ и РП опухоли

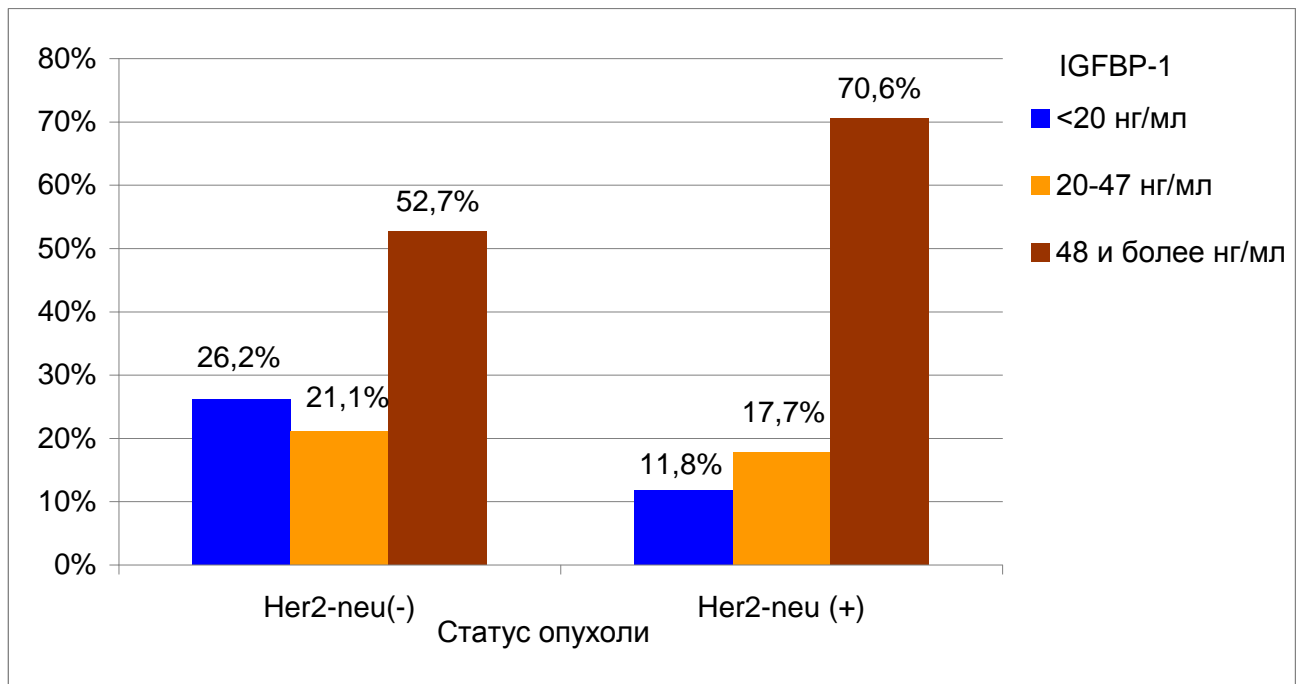
Уровень IGFBP-1, нг/мл	Рецепторный статус РМЖ			
	РЭ+ <sup>1</sup> N=234	РЭ- <sup>2</sup> N=54	РП+ <sup>3</sup> N=180	РП- <sup>4</sup> N=108
М±σ	48,6±32,7	53,0±32,9	49,8±33,0	48,8±32,3
<b>Примечание:</b> 1vs2 p>0,05				

Обнаружены достоверно меньшие значения IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий при отсутствии экспрессии рецепторного белка Her2-neu в опухоли. В таблице 31 представлены результаты данного раздела исследований.

**Таблица 31** — 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	Рецепторный статус РМЖ	
	Her2-neu- <sup>1</sup> N=237	Her2-neu+ <sup>2</sup> N=51
М±σ	47,5±33,3	58,5±28,2
<b>Примечание:</b> 1vs2 p=0,028		

Следует отметить достоверное ( $p < 0,05$ ) повышение информативности пороговых значений сывороточного маркера IGFBP-1 в группе пациенток с выявленной экспрессией белка Her2-neu в ткани опухоли. Так, чувствительность порогового значения сывороточного маркера IGFBP-1, равного 20,0 нг/мл, составила 88,2%, а при пороговом его уровне 48,0 нг/мл — 70,6% (рисунок 15).



**Рисунок 15** — Частота выявления различных уровней IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом экспрессии рецептора Her2-neu в ткани опухоли

Наиболее низкие значения IGFBP-1 выявлены в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с «люминальным А» подтипом опухоли (таблица 32). В этой группе больных диагностическая чувствительность порогового уровня IGFBP-1 равного 20,0 нг/мл в сыворотке крови составила 70,8%, а при пороговом уровне маркера 48,0 нг/мл была недостаточной и составила — 47,9%.

**Таблица 32** — Содержание IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ Т1-2N0M0 стадий в зависимости от биологического подтипа опухоли

	Биологический подтип РМЖ					
	<b>Luminal A<sup>1</sup></b> (ЭР+, ПР+, Her2-, Ki67 <20%) <b>N=94</b>	<b>Luminal B Her2-<sup>2</sup></b> (ЭР+, ПР+, Her2-, Ki67 ≥20%) <b>N=58</b>	<b>ЭР+, ПР-, Her2-<sup>3</sup></b> (Ki67 <20%) <b>N=54</b>	<b>Luminal B Her2+<sup>4</sup></b> (ЭР+, ПР+, Her2+, Ki67 любой) <b>N=28</b>	<b>Triple negative<sup>5</sup></b> (ЭР-, ПР-, Her2-, Ki67 любой) <b>N=31</b>	<b>HER2+ type<sup>6</sup></b> (ЭР-, ПР-, Her2+, Ki67 любой) <b>N=23</b>
<b>Уровень IGFBP-1, нг/мл</b>						
<b>М±σ</b>	44,0±33,7	52,5±33,1	44,6±31,5	63,7±25,9	53,5±36,2	52,3±30,1
<b>Примечание:</b> 1vs4 p=0,005; 3vs4 p=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 стадию РМЖ, и был достоверно выше только у больных раком Педжета;
- маркер IGFBP-1 не коррелировал рецепторный (РЭ и РП) статус 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.

Таким образом, сывороточный маркер IGFBP-1 отражал определенные клинические и биологические характеристики опухоли у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий.

### 3.7 Показатель IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в контроле

Показатель IGFBP-3 определяли в сыворотке крови 291 больной РМЖ T1-2N0M0 стадий до начала лечения. Полученные нами данные представлены в таблице 33.

**Таблица 33** — 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	95ДИ	
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		

Как следует из данных, представленных в таблице 33, содержание IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий было достоверно выше, чем в контроле (средние значения маркера IGFBP-3 составили 6,3±1,8 и 4,3±1,5 мкг/мл соответственно).

Кроме того, полученные нами данные исследования исходных уровней IGFBP-3 выявили определенную диагностическую способность этого маркера при подозрении на злокачественную опухоль молочной железы у женщин.

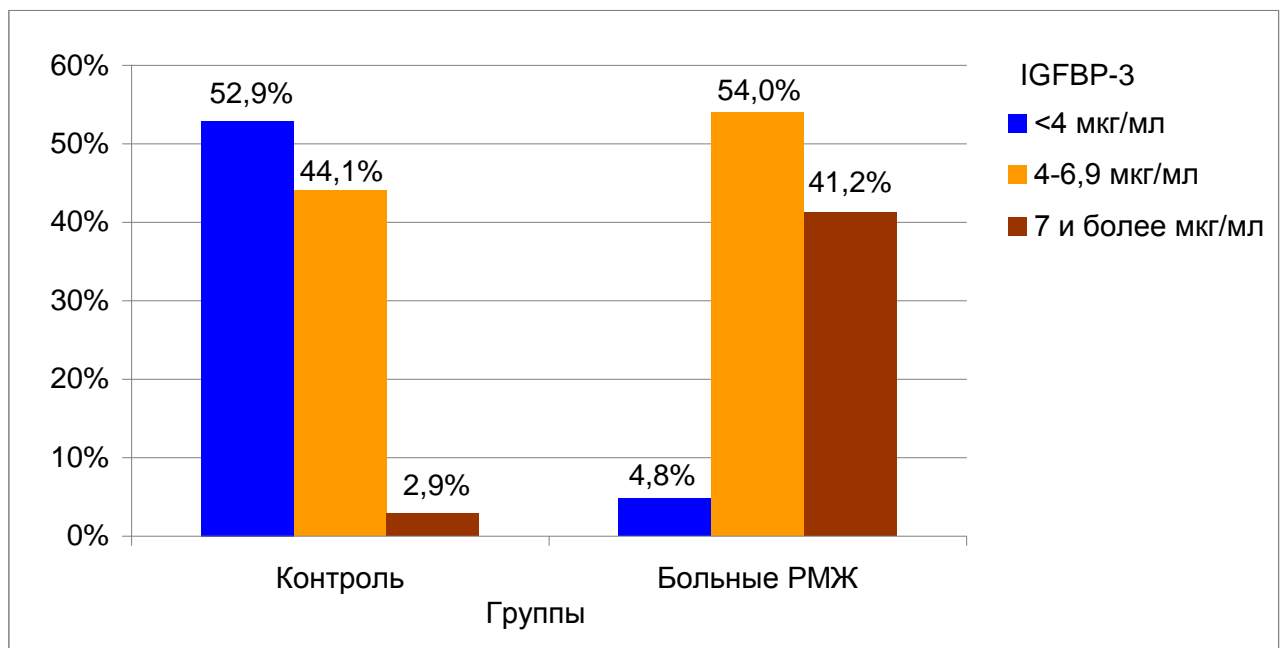
При разделении группы контроля и группы больных РМЖ T1-2N0M0 стадий по верхнему значению 95%ДИ показателя IGFBP-3 в контроле, равному 6,9 мкг/мл, чувствительность теста составила 41,2% (120 из 291), специфичность



97,1% (33 из 34). Значения с приемлемыми диагностическими характеристиками методом построения кривых ROC получить не представлялось возможным.

Таким образом, уровни IGFBP-3, определенные в сыворотке крови, не обладали необходимой диагностической ценностью при подозрении на РМЖ T1-2N0M0 стадий у женщин.

Анализ распределения IGFBP-3 в контроле и в группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий выявил высокосущественные различия ( $p < 0,0001$ ). Так, при значениях сывороточного маркера IGFBP-3 от 7,0 мкг/мл и более вероятность РМЖ многократно превышала вероятность его отсутствия (41,2% против 2,9%). При значении IGFBP-3 менее 4,0 мкг/мл, вероятность выявления РМЖ была очень низкой (4,8%), тогда как область значений показателя от 4,0 до 7,0 мкг/мл была наименее информативной. Эти значения одинаково характерны, как у здоровых женщинам (44,1%), так и у больных РМЖ (54%) (рисунок 16).



**Рисунок 16** — Частота выявления различных уровней IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и в группе контроля

Таким образом, маркер IGFBP-3 позволяет с высокой вероятностью отделить больных РМЖ от здоровых примерно у половины (47,1%) обследованных женщин обеих групп.

### 3.8 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. В таблице 34 представлены данные о содержании сывороточного IGFBP-3 в разных возрастных группах больных РМЖ.

**Таблица 34** — 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
<b>Примечание:</b> p>0,05					

Как видно из данных, представленных в таблице 34, значения IGFBP-3 не было значимо связано с возрастом больных РМЖ T1-2N0M0 стадий. Чувствительность порогового значения IGFBP-3, равного 6,9 мкг/мл в группе больных РМЖ в возрасте до 40 лет снижалась в 2 раза до 20,0%.

В таблице 35 представлены данные о содержании IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ с учетом стадии опухолевого процесса.

**Таблица 35** — 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
<b>Примечание:</b> p>0,05		

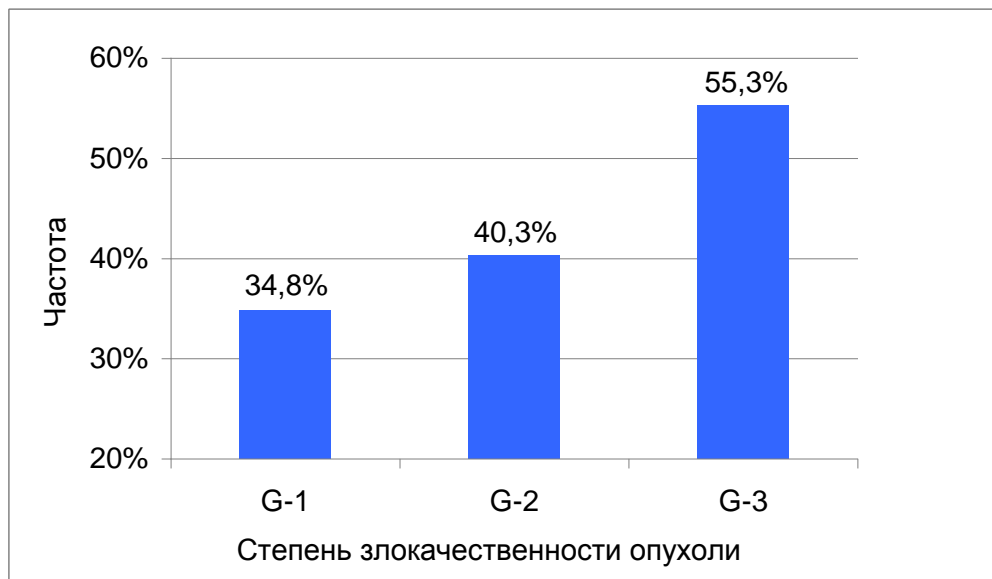
В таблице 36 представлены данные по содержанию IGFBP-3 в сыворотке крови общей группы больных РМЖ до лечения с учетом степени злокачественности опухоли.

**Таблица 36** — 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
<b>Примечание:</b> 1vs3 p=0,03			

У больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий обнаружено сопоставимое содержание IGFBP-3, как и чувствительность маркера по порогу 6,9 мкг/мл (рисунок 17). Таким образом, маркер IGFBP-3 не отражал стадию заболевания.

Из данных таблицы 36 следует, что значения IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий были достоверно выше при G-3 опухоли. Кроме того, диагностическая чувствительность в выявлении РМЖ при пороговом значении маркера IGFBP-3, равном 6,9 мкг/мл, также повышалась с 34,8% при G-1 до 40,3% — при G-2 и до 55,3% — при G-3 опухоли (рисунок 17).



**Рисунок 17** — Диагностическая чувствительность порогового уровня IGFBP-3, равного 6,9 мкг/мл в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от степени злокачественности опухоли

В таблице 37 представлены данные о содержании маркера IGFBR-3 в группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом гистологического строения опухоли. Уровни данного маркера не коррелировали с гистологическим вариантом строения опухоли.

**Таблица 37** — Содержание IGFBR-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от гистологического строения опухоли

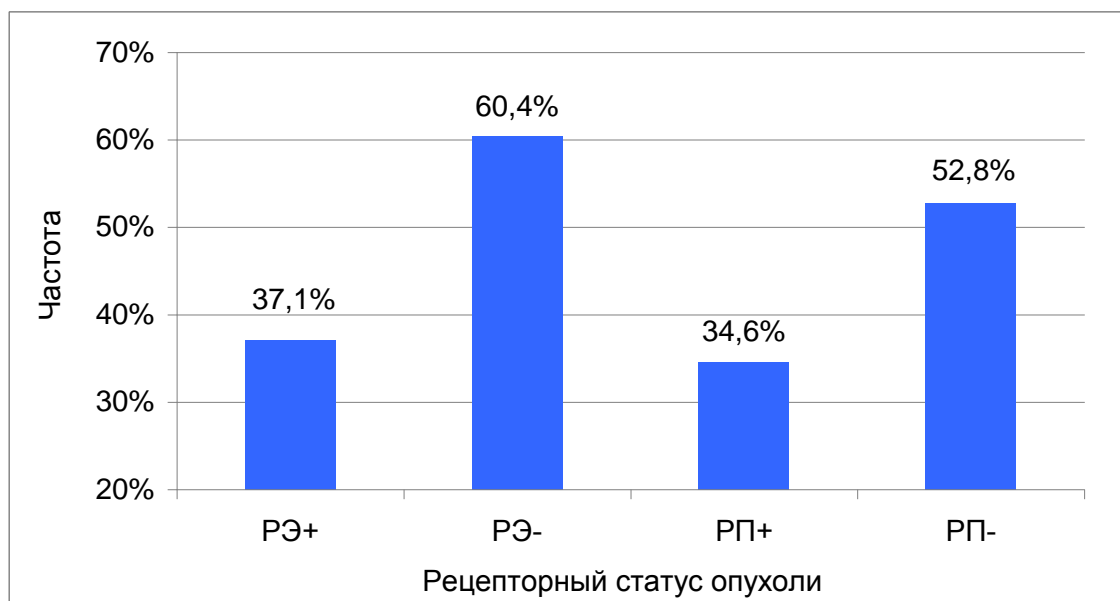
Уровень IGFBR-3, мкг/мл	Гистологический вариант строения РМЖ				
	дольковый N=32	протоковый N=127	Педжета N=32	слизистый N=7	смешанный N=93
М±σ	6,4±1,7	6,3±1,7	6,6±1,9	6,0±2,0	6,3±1,8
<b>Примечание:</b> p>0,05					

Не обнаружено достоверных различий в содержании сывороточного IGFBR-3 у больных РМЖ с РЭ+ и РЭ- опухолями (таблица 38). Значимо меньшее содержание сывороточного IGFBR-3 выявлено у больных с РП- статусом опухоли.

**Таблица 38** — Содержание IGFBR-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от статуса РЭ и РП опухоли

Уровень IGFBR-3, мкг/мл	Рецепторный статус РМЖ			
	РЭ+ <sup>1</sup> N=237	РЭ- <sup>2</sup> N=54	РП+ <sup>3</sup> N=182	РП- <sup>4</sup> N=109
М±σ	6,2±1,8	6,7±1,6	6,1±1,8	6,6±1,7
<b>Примечание:</b> 1vs2 p=0,056; 3vs4 p=0,037				

В то же время, частота выявления повышенных сывороточных уровней IGFBR-3 у больных РМЖ относительно контроля достоверно (p=0,001) повышалась как с РЭ-, так и с РП- опухолями. Данные этого раздела исследований представлены на рисунке 18.



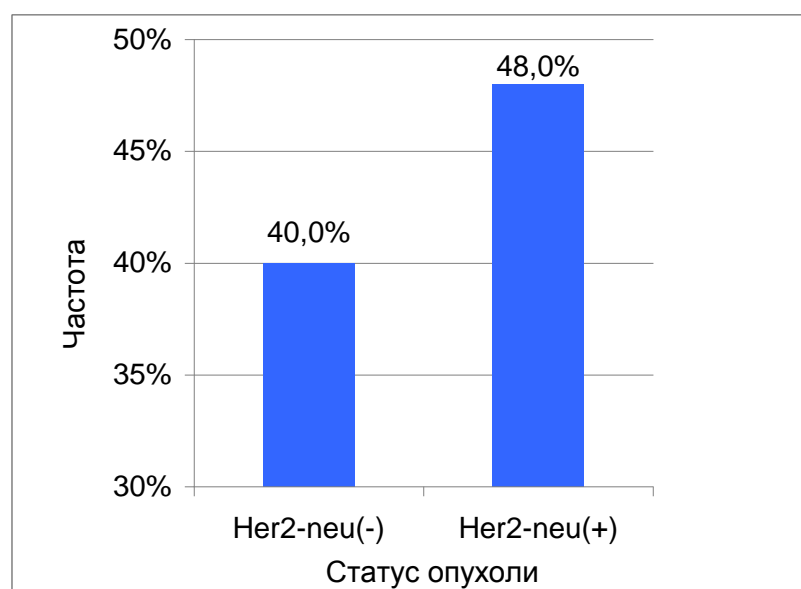
**Рисунок 18** — Частота превышения порогового уровня IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий относительно контроля (6,9 мкг/мл) в зависимости от рецепторного статуса опухоли

Сывороточные уровни IGFBP-3 не были связаны с экспрессией Her2-neu в первичной опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий (таблица 39).

**Таблица 39** — Содержание IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом выявления экспрессии Her2-neu в опухоли

Уровень IGFBP-3, мкг/мл	Рецепторный статус РМЖ Her2-neu	
	не выявлен N=240	выявлен N=51
M±σ	6,3±1,8	6,5±1,8
<b>Примечание:</b> p>0,05		

Следует отметить незначимое увеличение частоты повышенных значений маркера в группе пациенток с выявленной экспрессией Her2-neu в опухоли (48% против 40% без такового) (рисунок 19).



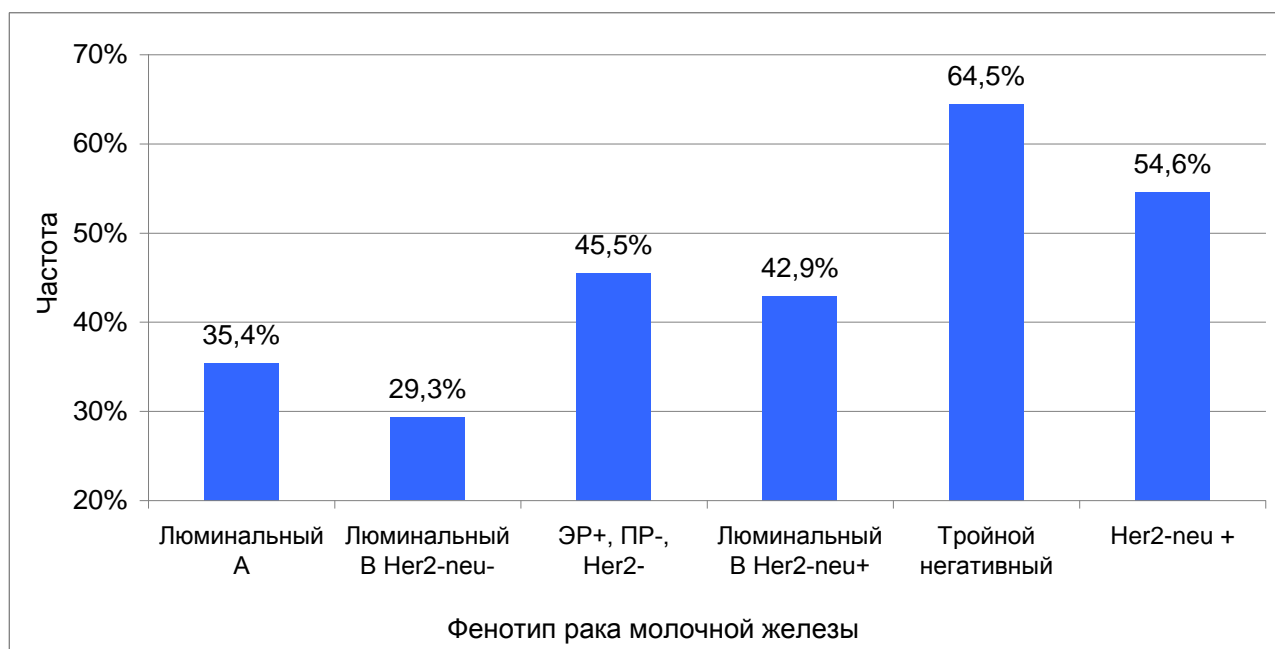
**Рисунок 19** — Частота превышения порогового уровня IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий относительно контроля (6,9 мкг/мл) в зависимости от Her2-neu статуса опухоли

Наиболее низкие значения IGFBP-3 обнаружены в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с «люминальным А» подтипом опухоли, тогда как наибольшие — при неблагоприятном биологическом подтипе «тройном негативном» РМЖ, различия статистически значимы (таблица 40).

**Таблица 40** — Содержание IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от биологического подтипа опухоли

Уровень IGFBP-3, мкг/мл	Биологический подтип РМЖ					
	Luminal A <sup>1</sup> (ЭР+, ПР+, Her2-, Ki67<20%) N=96	Luminal B Her2 <sup>-2</sup> (ЭР+, ПР+, Her2-, Ki67≥20%) N=58	<sup>3</sup> ЭР+, ПР-, Her2- (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	6,1±1,8	6,2±1,7	6,5±1,9	6,3±1,9	6,8±1,6	6,6±1,6
<b>Примечание:</b> 1vs5 p=0,039						

Достоверно выше была частота превышения содержания сывороточного IGFBR-3 у больных РМЖ относительно контроля при «тройном негативном» (64,5%) и «Her2-neu+» (54,6%) РМЖ. Тогда как при подтипах РМЖ «люминальный А» и «люминальный В Her2-neu-» частота превышения данного маркера была примерно в 2 раза ниже (35,4% и 29,3% соответственно) (рисунок 20).



**Рисунок 20** — Частота превышения порогового уровня IGFBR-3, равного 6,9 мкг/мл, в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от биологического подтипа опухоли

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

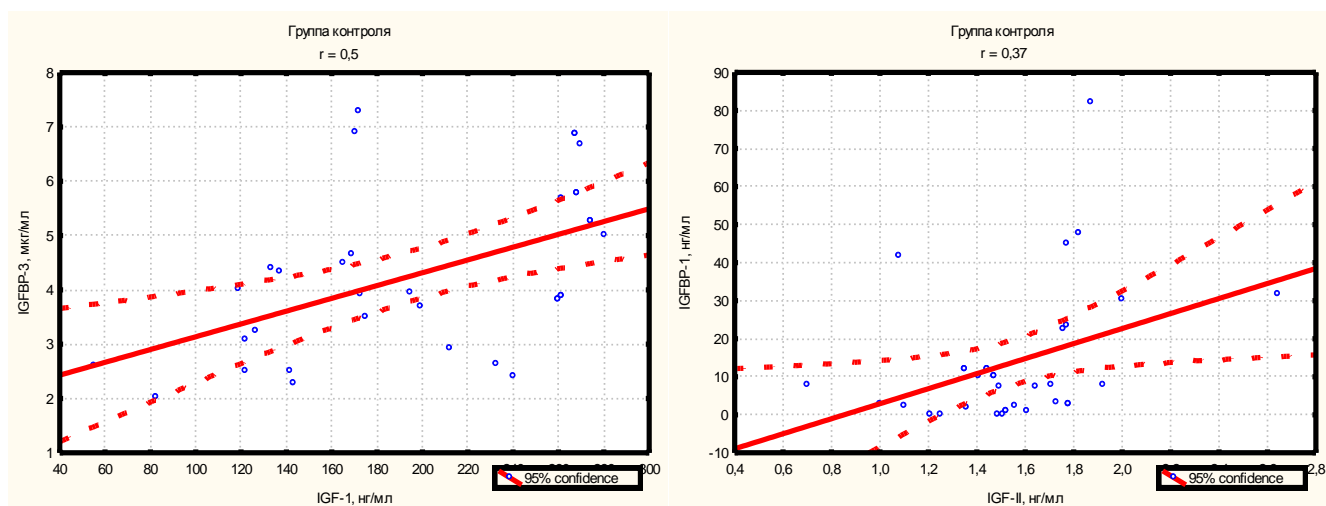
- показатель IGFBR-3 достоверно повышен у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий по сравнению с контролем. Предложено диагностическое пороговое значения маркера, 6,9 мкг/мл (чувствительность — 41,2%, специфичность — 97,1%);
- уровень маркера IGFBR-3 не коррелировал со стадией РМЖ, с гистологическим вариантом опухоли, с рецепторным статусом (PЭ, PП, 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 отражает определенные клиничко-морфологические и биологические характеристики опухоли, но не может быть использован в диагностике этого заболевания.

### 3.9 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 корреляционных зависимостей между всеми параметрами маркеров. В то же время, 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 ( $r=0,37$ ;  $p=0,037$ ) (рисунок 21).



**Рисунок 21** — Корреляционные зависимости между показателями системы IGF в сыворотке крови здоровых женщин группы контроля



Дискриминантный анализ с использованием всех 4-х сывороточных маркеров системы IGF показал хорошую распознаваемость как здоровых женщин (специфичность 88,2%), так и больных РМЖ (чувствительность 84,7%). Общая точность классификации составила 85,1%.

В таблице 41 представлено решающее правило для распознавания РМЖ по значениям белков IGF-1, IGF-2 и IGFBP-1, IGFBP-3, исследованных одновременно в сыворотке крови.

**Таблица 41** — Решающее правило для распознавания РМЖ по значениям IGF-I, IGF-II, IGFBP-1 и IGFBP-3, исследованных одновременно в сыворотке крови

Предикторы	Весовые коэффициенты	
	1 класс (нет РМЖ)	2 класс (есть РМЖ)
IGF-I, нг/мл	0,0508	0,0411
IGF-II, мкг/мл	4,5437	6,6992
IGFBP-1, нг/мл	0,0144	0,0467
IGFBP-3, мкг/мл	1,2315	1,8044
Постоянная	-12,0016	-18,5193

Для выявления вероятности отнесения обследуемой больной с подозрением на злокачественную опухоль молочной железы к тому или иному классу необходимо:

- 1) значения каждого из 4-х маркеров умножить на соответствующий весовой коэффициент;
- 2) сложить полученные суммы по каждому классу в отдельности, и сложить с постоянной этого класса;
- 3) после чего сравнить полученные суммы в 1-м и 2-м классах.

Большая сумма одного из классов указывает на большую вероятность отнесения пациентки к этому классу. При равенстве сумм решение не принимается.

Таким образом, нами показано, что при РМЖ наблюдаются существенные изменения в концентрациях маркеров системы-IGF, что может в дальнейшем использоваться в клинических диагностических исследованиях. Определение в сыворотке крови показателей системы-IGF помимо стандартных клинико-лабораторных методов обследования молочных желез у женщин может оказаться перспективным для дооперационного отбора пациенток с неблагоприятным клиническим течением болезни.

Дополнительно больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с одновременно измеренными исходными (до лечения) значениями IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-3 в сыворотке крови разделили на две подгруппы:

1) **группа женщин** — правильно распознанных дискриминантным анализом с РМЖ;

2) **группа женщин** — ошибочно распознанных как здоровых. Проанализирована частота ошибок при различных факторах РМЖ T1-2N0M0 стадий (таблица 42).

**Таблица 42** — Частота выявления ошибочной классификации больных РМЖ в общей группе и в зависимости от некоторых факторов

Признак	Градация	Н	Частота ошибок, %	Р
Общая	—	279	15,3	—
Возраст	до 30 лет	10	20,0	>0,05
	30-39 лет	73	11,3	
	40-59 лет	73	14,3	
	60-69 лет	86	16,5	
	70 лет и более	37	21,6	
Стадия	T1N0M0	87	13,1	>0,05
	T2N0M0	192	16,4	

## Окончание таблицы 42

Признак	Градация	N	Частота ошибок, %	P
Степень злокачественности опухоли	G-1	31	13,6	>0,05
	G-2	194	11,6	
	G-3	54	11,8	
Гистологическая структура опухоли	дольковый	32	20,0	0,03
	протоковый	123	11,0	
	Педжета	31	3,2	
	слизистый	6	40,0	
	смешанный	87	20,9	
РЭ статус	РЭ+	227	17,5	0,04
	РЭ-	52	6	
РП статус	РП+	174	17,5	>0,05
	РП-	105	11,8	
Her2-neu статус	Her2-neu-	231	17,3	0,06
	Her2-neu+	48	6,4	
Биологический подтип РМЖ	люминальный А	91	28,1	<0,001
	люминальный В	56	7,3	
	ЭР+, ПР-, Her2-, Ki67<20%	53	17,3	
	люминальный В	27	3,7	
	тройной негативный	31	3,3	
	Her2-neu+	21	10,0	

Стадия заболевания и степень злокачественности опухоли незначительно изменяли частоту ошибок распознавания РМЖ T1-2N0M0 стадий у женщин. Недостоверно большая частота ошибок классификации выявлена у пациенток в возрасте старше 70 лет (21,6%). При этом, достоверно чаще выявляли ошибки при слизистом варианте РМЖ — 40,0% ( $p=0,03$ ). Достоверно чаще (в 2,7 раза) ошибочная классификация допущена при благоприятном РЭ+ статусе опухоли ( $p=0,04$ ) и недостоверно чаще (в 1,5 раза) при РП+ статусе опухоли. Кроме того, выявлена тенденция к большей частоте ошибок при благоприятном Her2-neu статусе опухоли — отсутствие экспрессии рецепторного белка Her2-neu в первичной опухоли (в 2,7 раза,  $p=0,06$ ).

Биологический подтип опухоли достоверно связан с частотой ошибочной классификации РМЖ ( $p<0,001$ ). Так, при благоприятном биологическом типе «люминальный А» раке, частота ошибок была наибольшей (28,1% — или у каждой четвертой пациентки с этим подтипом). В то же время, при неблагоприятном подтипе «тройной негативный» рак частота ошибочной классификации составила всего 3,3%.

Подводя итоги оценке результатов теста по 4-м маркерам системы-IGF, полученным с помощью дискриминантного анализа, можно заключить, что на частоту ошибок влияли те же факторы, что и по индивидуальному маркеру. Однако чувствительность распознавания РМЖ по 4-м маркерам не достигала необходимого уровня только при 2-х факторах: слизистом варианте РМЖ (60%) и при биологическом подтипе опухоли «люминальный А» рак (71,9%), составивших более трети всех наблюдений.

Полученные результаты показывают, 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. По уровням маркеров еще до начала лечения, возможно, заподозрить наличие неблагоприятных клинических и биологических факторов РМЖ T1-2N0M0 стадий.

Ранее все 4 маркера были разбиты на интервалы по пороговым их значениям, позволяющим заподозрить наличие РМЖ T1-2N0M0 стадий. Провели анализ различных сочетаний маркеров в группе контроля и у больных РМЖ с целью выбора наиболее удачных их сочетаний по диагностическим оценкам.

Эффективным оказалось сочетание 2-х изученных маркеров системы-IGF, а именно, маркер IGF-II по пороговому уровню в сыворотке крови равному 2,0 мкг/мл и IGFBP-1 — по пороговому уровню 48,0 нг/мл. Так, при благоприятных низких значениях обоих маркеров специфичность теста оказалась равной 88,2% (30 из 34), а при наличии хотя бы одного из неблагоприятных высоких значений показателей чувствительность составила 86,2% (237 из 275).

Сочетание других 2-х маркеров системы-IGF: IGF-II по пороговому уровню в сыворотке крови 2,0 мкг/мл и IGFBP-3 — по пороговому уровню 6,9 мкг/мл показало высокую специфичность 96,9% (31 из 34), но меньшую чувствительность — 82,7%, (230 из 278). Следовательно, применение данного теста позволяет минимизировать до 3,1% такой вид ошибки диагностики как ложное заключение о наличии РМЖ у здоровой женщины.

Тест с использованием только сывороточных уровней IGFBP-1 и IGFBP-3 при высокой специфичности в 96,9% показал недостаточную чувствительность — 71,8%.

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 43 представлены показатели специфичности и чувствительности каждого маркера в отдельности, решающего правила по исследованным нами 4-м маркерам системы-IGF и их сочетаний.

**Таблица 43** — 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

Как следует из данных, приведенных в таблице 43, наилучшими диагностическими характеристиками в распознавании у женщин РМЖ T1-2N0M0 стадий обладал сывороточный маркер IGF-II. 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.

Подводя итоги настоящего раздела исследований, необходимо сделать ключевой крайне важный в онкологической клинике вывод о том, что сывороточные маркеры IGF-II <2,0 мкг/мл и IGFBP-1 <48,0 нг/мл показали наилучшие результаты в распознавания у женщин РМЖ T1-2N0M0 стадий.

## Глава 4

**СЫВОРОТОЧНЫЕ И ТКАНЕВЫЕ МАРКЕРЫ (ММР-2, uPA, IL-6, sFas)  
У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

**T1N0M0 И T2N0M0 СТАДИЙ**

**(результаты собственных исследований)**

**4.1 Показатель ММР-2 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0  
стадий и в контроле**

Проведен анализ исходных уровней ММР-2, измеренных в сыворотке крови 293 больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий. Значения ММР-2 у пациенток колебались в широких 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 ММР-2 не отличались значимо от уровня маркера у здоровых женщин (группа контроля) (таблица 44).

Сравнительный анализ уровней ММР-2 выявил, что в сыворотке крови больных РМЖ с T2N0M0 стадией показатели маркера были значимо выше, чем у больных РМЖ с T1N0M0 стадией ( $258 \pm 5,1$  против  $216 \pm 5,3$  нг/мл) (таблица 44).

**Таблица 44** — Сравнительный анализ содержания ММР-2 в сыворотке крови больных РМЖ T1N0M0, T2N0M0 стадий и группе контроля

Группы	N	Содержание ММР-2 в сыворотке крови, нг/мл		
		пределы	медиана, квартили	M±m
Контроль <sup>0</sup>	35	161-375	221 (172-265)	224±7,6
Общая группа больных РМЖ <sup>1</sup>	293	140-395	236 (188-289)	245±4,0
Стадия				
T1N0M0 <sup>2</sup>	93	140-300	195 (176-267)	216±5,3
T2N0M0 <sup>3</sup>	200	140-395	248 (200-300)	258±5,1
<b>Примечание:</b> 2vs3 p=0,0001; 0vs1 p>0,05				

При этом анализ распределения исходных концентраций MMP-2 в сыворотке крови общей группы больных РМЖ T1-2N0M0 стадий показал, что низкое содержание маркера менее 150 нг/мл выявлено только у 5,1% пациенток. Одинаково часто выявляли сывороточные значения MMP-2 в следующих трех интервалах: 151-200, 201-250, 251-300 нг/мл (30,0, 21,2 и 27,3% соответственно). Очень высокие значения MMP-2 в интервалах 301-350 и 351-400 нг/мл выявляли значительно реже — в 5,5% и 10,9% наблюдений.

Таким образом, нами обнаружена большая частота низких уровней MMP-2 (менее 150 нг/мл) в сыворотке крови больных РМЖ с T1N0M0 стадией — 8,6% против 3,5% в группе больных РМЖ с T2N0M0 стадией и, напротив, меньшая частота высоких значений (>300 нг/мл) в крови больных с T1N0M0 стадией РМЖ, по сравнению T2N0M0 стадией (0% и 24% соответственно).

Таким образом, у больных РМЖ с T2N0M0 стадией у четверти больных выявлены высокие исходные значения MMP-2, которые, вероятно, отражали распространенность опухолевого процесса у данной категории пациенток.

Проанализировали связь содержания MMP-2 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с гистологическим строением опухоли (таблица 45). Наибольшее содержание MMP-2 выявлено в сыворотке крови больных с протоковым инфильтративным РМЖ ( $258,0 \pm 6,2$  нг/мл) и значительно меньшее при смешанном варианте строения опухоли ( $227,0 \pm 6,6$  нг/мл). При этом, наиболее часто высокие показатели MMP-2 выявляли при дольковом инфильтративном раке (22,8%) и у больных раком Педжета (21,9%). В целом, исходные концентрации сывороточного MMP-2 незначимо изменялись в зависимости от гистологического строения варианта опухоли.

Проанализировали связь содержания MMP-2 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий со степенью злокачественности опухоли. Не выявили достоверных различий в исходных сывороточных показателях MMP-2 в соответствующих группах (таблица 46). Однако следует отметить низкую частоту обнаружения высоких сывороточных значений MMP-2 у больных с G-1 опухоли (8,7%).



**Таблица 45** — 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±13,3	15,6%
Протоковый	127	256 (195-298)	258±6,2*	22,8%
Педжета	32	248 (186-294)	250±12,3	21,9%
Слизистый	8	210 (170-275)	224±21,2	12,5%
Смешанный	94	210 (178-275)	227±6,6**	12,9%
P			<b>0,02</b>	0,4
<b>Примечание: *vs** p=0,02</b>				

**Таблица 46** — Содержание MMP-2 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от степени злокачественности опухоли

Степень злокачественности РМЖ	N	Содержание MMP-2 в сыворотке крови, нг/мл		
		медиана, квартили	M±m	>300
G-1	31	245 (181-269)	237±12,2	8,7%
G-2	208	245 (190-296)	252±5,6	20,8%
G-3	54	240 (193-279)	238±9,8	15,0%
P			0,4	0,3

**Многофакторный** анализ показал, что уровни сывороточного MMP-2 в большей степени отражали стадию заболевания ( $p=0,007$ ) и в меньшей степени степень злокачественности опухоли ( $p=0,03$ ), но не были связаны с гистологическим строением опухоли ( $p=0,5$ ). Так, в группе больных с дольковым РМЖ концентрация MMP-2 составила при T1N0M0 и T2N0M0  $214\pm 51,8$  и  $267\pm 80,9$  нг/мл соответственно ( $p=0,03$ ); в группе больных с протоковым РМЖ  $220\pm 48,2$  и  $278\pm 70,8$  нг/мл соответственно ( $p=0,0001$ ); не различалась значимо в группе больных раком Педжета  $242\pm 54,1$  и  $254\pm 76,1$  нг/мл соответственно ( $p>0,05$ ); и в группе больных со смешанным вариантом РМЖ  $205\pm 52,8$  и  $235\pm 66,1$  нг/мл соответственно ( $p=0,04$ ); не проводили сравнений MMP-2 в

группе больных со слизистым вариантом в виду её малочисленности. Таким образом, при T2N0M0 маркер ММР-2 был выше независимо от гистологической структуры опухоли.

Исследовали связь исходного содержания ММР-2 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с рецепторным статусом опухоли. Данные этого раздела исследований представлены в таблице 47.

**Таблица 47** — Содержание ММР-2 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от рецепторного статуса опухоли

РЭ и РП статус	N	Содержание ММР-2 в сыворотке крови, нг/мл		
		медиана, квантили	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>

Нами выявлено значимо высокое содержание ММР-2 в сыворотке крови больных РМЖ с неблагоприятным рецепторным статусом первичной опухоли как по РЭ-, так и по РП-. Следует отметить, что различия в сывороточных уровнях ММР-2 отмечены в большей степени при РЭ статусе первичной опухоли.

Еще более существенные различия нами выявлены при анализе исходных уровней ММР-2 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий при различном биологическом подтипе опухоли. Так, необходимо указать, что значимо отличался только благоприятный «люминальный А» подтип меньшим содержанием этого маркера от всех прочих подтипов опухолей молочной железы ( $p < 0,0001$ ). При остальных биологических подтипах РМЖ различия в содержании ММР-2 в сыворотке крови больных РМЖ были статистически незначимы (таблица 48).

**Таблица 48** — Содержание MMP-2 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от подтипа опухоли

Биологические подтипы РМЖ <sup>^</sup>	N	Содержание MMP-2 в сыворотке крови, нг/мл		
		медиана, квартили	M±m	>300
Люминальный A <sup>1</sup> (ЭР+, ПР+, Her2-, Ki67<20%)	98	200 (172-246)	214±5,4	5,2%
Люминальный B 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 B 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 <0,0001	<0,001

При этом, частота высоких значений MMP-2 в сыворотке крови пациенток с подтипом «люминальный А» РМЖ составила всего 5,2%, но была многократно большей при неблагоприятных подтипах «тройной негативном» — 35,5% и «Her2-neu+» — 34,8%. При прочих биологических подтипах РМЖ высокие показатели маркера были выявлены от 16,4% до 27,6% наблюдений.

Таким образом, концентрации MMP-2 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий не отличалось от таковых у здоровых женщин группы контроля, однако повышенные значения маркера значимо чаще выявляли при неблагоприятных подтипах РМЖ и рецепторном статусе опухоли, а также при T2N0M0 стадии РМЖ и, следовательно, показатель может обладать выраженной прогностической ценностью.

Нами не установлено корреляционной зависимости между исходными уровнями MMP-2 и 4-мя изучаемыми маркерами системы ИФР в сыворотке крови больных РМЖ ( $r=0$ ). Не обнаружили также зависимости между содержанием в сыворотке крови MMP-2 и IL-6 ( $r_s=0,22$ ), связь MMP-2 с уровнями uPA и sFas отсутствовала ( $r=0$ ). Полученные нами данные указывают, что при T1-2N0M0 стадиях РМЖ не отмечено согласованного изменения всех исследованных маркеров в сыворотке крови.

#### 4.2 Содержание MMP-2 в ткани опухоли больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий

Оценили уровни MMP-2, измеренные в ткани опухоли 293 больных с T1-2N0M0 стадиями РМЖ. Значения маркера колебались от 4,0 до 112 нг/мг белка и в среднем составили  $54,3 \pm 2,1$  нг/мг белка. При этом, в неизменной ткани содержание MMP-2 было значимо ниже и составило  $47,8 \pm 1,4$  (таблица 49). Следует отметить, что уровни маркера в опухоли значимо выше у больных РМЖ с T2N0M0 стадией по сравнению с T1N0M0 стадией ( $60,7 \pm 2,6$  против  $40,5 \pm 2,8$  нг/мг белка).

**Таблица 49** — 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
<b>Примечание:</b> 2vs3 p=0,0001; 0vs1 p<0,0001; 0vs3 p<0,0001				

При этом 95%ДИ содержания MMP-2 в неизменной ткани молочной железы равнялся 77,0 нг/мг белка и это значение выбрано за пороговое. Превышение этого значения в опухоли выявлено у 98 из 293 (33,4%) пациенток, при этом в группе больных РМЖ с T1N0M0 стадией частота превышения маркера равнялась 0%, и 49% в группе больных РМЖ с T2N0M0 стадией ( $p < 0,0001$ ).

Таким образом, в ткани РМЖ при T2N0M0 стадии у половины больных выявлено превышение маркера MMP-2 относительно его уровня в окружающей опухоли неизменной ткани молочной железы.

Проанализировали связь содержания MMP-2 в опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом морфологического строения новообразования. Наибольшее содержание MMP-2 обнаружено в опухоли больных с протоковым вариантом строения РМЖ ( $61,6 \pm 3,1$  нг/мг белка), значительно меньше при смешанном гистологическом варианте рака ( $42,7 \pm 3,6$  нг/мг белка;  $p < 0,005$ ) (таблица 50).

**Таблица 50** — 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)	$54,7 \pm 6,2$	37,5%
Протоковый <sup>2</sup>	127	69 (23-94)	$61,6 \pm 3,1$	39,4%
Рак Педжета <sup>3</sup>	32	67 (26,5-89)	$57,8 \pm 6,1$	34,4%
Слизистый <sup>4</sup>	8	79 (21,5-94,5)	$62,6 \pm 13,5$	50,0%
Смешанный <sup>5</sup>	94	26 (15-74)	$42,7 \pm 3,6$	22,6%
P		2vs5 $p < 0,005$		0,09

Проанализировали связь содержания MMP-2 в опухолях больных РМЖ T1-2N0M0 стадий со степенью их злокачественности. Нами не отмечено

статистически значимых различий содержания MMP-2 в опухолях молочной железы различной степени злокачественности (таблица 51).

**Таблица 51** — Содержание MMP-2 в ткани опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от степени злокачественности опухоли

Степень злокачественности РМЖ	N	Содержание MMP-2 в ткани опухоли, нг/мг белка		
		медиана, квартили	M±m	>77
G-1	31	67 (16-89)	55,8±7,3	34,8%
G-2	208	67 (22-94)	57,4±2,9	34,4%
G-3	54	54 (24-79)	54,1±5,5	37,5%
P			0,9	0,8

Проведен анализ связи содержания MMP-2 в ткани опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом обнаружения рецепторов стероидных гормонов (РЭ, РП) опухоли. Значимо большее содержание MMP-2 выявлено в опухолях больных РМЖ с прогностически неблагоприятным статусом как по РЭ-, так и по РП- (таблица 52).

**Таблица 52** — Содержание MMP-2 в ткани опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от рецепторного статуса опухоли

РЭ и РП статус	N	Содержание MMP-2 в ткани опухоли, нг/мг белка		
		медиана, квартили	M±m	>77
РЭ+	239	40,5 (19-78)	49,9±2,2	28,2%
РЭ-	54	83,0 (56-99)	74,2±4,6	57,4%
P			<b>&lt;0,0001</b>	<b>&lt;0,001</b>
РП+	184	36 (19-79)	49,7±2,6	29,5%
РП-	109	70 (26-96)	62,4±3,4	40,4%
P			<b>0,003</b>	<b>0,06</b>

Еще более существенные различия выявлены нами при анализе содержания MMP-2 в ткани РМЖ при различном биологическом подтипе опухоли. При этом следует отметить, что статистически значимо отличался только благоприятный «люминальный А» подтип РМЖ меньшим содержанием показателя по сравнению со всеми прочими ( $p < 0,0001$ ). Различия в содержании MMP-2 между другими подтипами РМЖ были статистически незначимыми.

Частота превышения значений MMP-2 в ткани опухоли по сравнению с неизменной тканью молочной железы при подтипе РМЖ «люминальный А» составила 17,5%, но была многократно большей при неблагоприятных подтипах «тройном негативном» (54,9%) и «Her2-neu+» (60,9%). При прочих биологических подтипах РМЖ показатели MMP-2 в опухоли превышали таковые в неизменной ткани молочной железы в 24-55% (таблица 53).

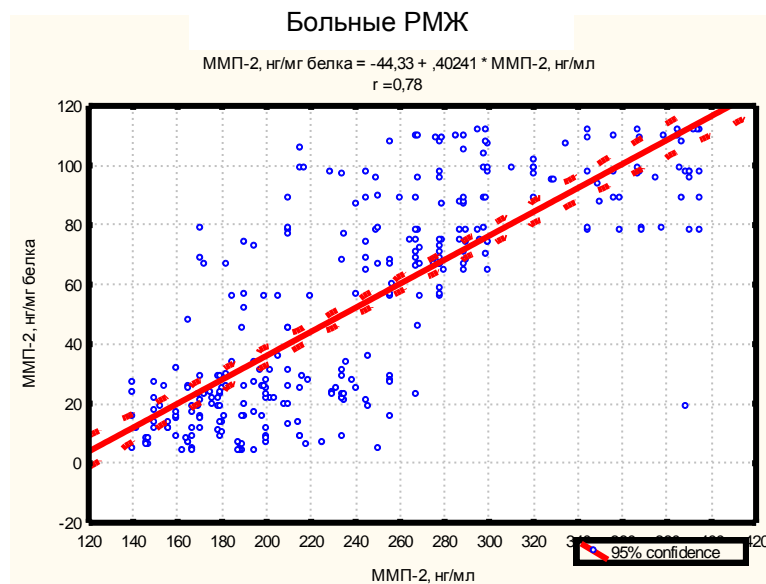
**Таблица 53** — Содержание MMP-2 в ткани опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от биологического подтипа опухоли

Биологические подтипы РМЖ	N	Содержание MMP-2 в ткани опухоли, нг/мг белка		
		медиана, квантили	M±m	>300
Люминальный А <sup>1</sup> (ЭР+, ПР+, Her2-, Ki67<20%)	98	25,0 (14-67)	36,6±3,2	17,5%
Люминальный В 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 В 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		1 vs 2,3,4,5,6 $p < 0,0001$		

Таким образом, содержание MMP-2 в опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий было значимо выше такового в неизменной ткани молочной железы. При этом, повышенные уровни маркера значимо чаще обнаруживали при неблагоприятных биологических подтипах РМЖ и рецепторном статусе (РЭ, РП) опухоли, а также при T2N0M0 стадии РМЖ.

Следовательно, изученный нами показатель MMP-2 в первичной опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий может обладать прогностической значимостью.

Установлена прямая достоверная корреляционная зависимость высокой степени тесноты связанности между уровнем MMP-2 в сыворотке крови и ткани опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий (рисунок 22;  $r_s=0,79$ ;  $p<0,0001$ ).



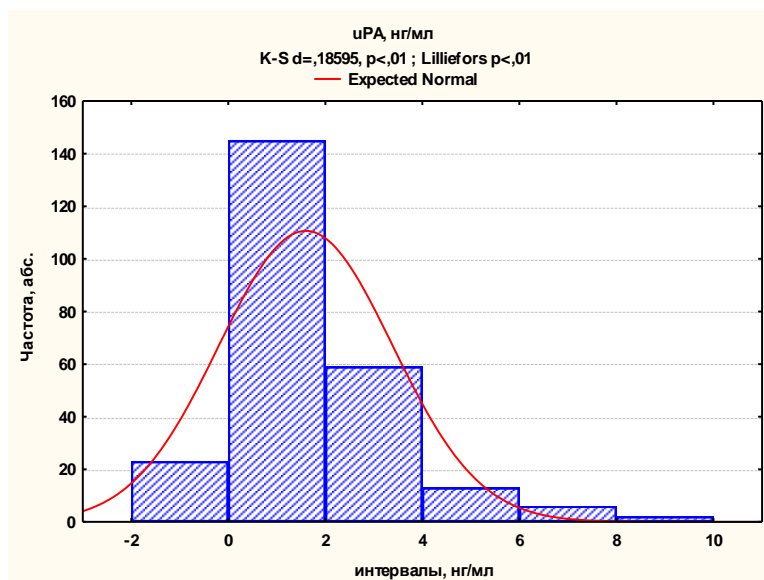
**Рисунок 22** — Корреляционная зависимость между содержанием MMP-2 в сыворотке крови и ткани опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий

Также нами выявлена прямая значимая корреляционная зависимость высокой степени тесноты связанности между содержанием MMP-2 в ткани опухоли и неизменной ткани молочной железы у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий ( $r_s=0,78$ ;  $p<0,0001$ ).



### 4.3 Содержание uPA в ткани опухоли больных РМЖ

Содержание uPA исследовали в ткани опухоли 248 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий. Распределение изученного показателя в гомогенатах опухоли представлено на рисунке 23.



**Рисунок 23** — Распределение больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом содержания uPA в ткани опухоли

Следует отметить, что содержание uPA в образцах тканей первичных опухолей молочной железы колебалось в широких пределах от 0 до 8,9 нг/мг белка. Среднее содержание uPA в ткани опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий составило  $1,6 \pm 0,11$  нг/мг белка (медиана — 1,0 нг/мг белка), а максимальное значение составило 8,9 нг/мг белка.

При этом, у 23 (9,3%) больных РМЖ uPA не был выявлен в ткани опухоли. У большинства пациенток — 146 (58,9%) его содержание было от 0,1 до 2,0 нг/мг белка, у 58 (23,4%) больных — от 2,0 до 4,0 нг/мг белка, у 21 (8,5%) — от 4,0 и более нг/мг белка.

В таблице 54 представлены данные сравнительного содержания uPA в ткани опухоли больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий и в непораженной опухолевым процессом ткани молочной железы.

**Таблица 54** — 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
<b>Примечание:</b> различия в показателях uPA в образцах ткани РМЖ между больными с T1N0M0 и T2N0M0 стадиями (p=0,035); в образцах ткани РМЖ и образцах неизменной ткани молочной железы (группа контроля; p<0,001)				

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±0,1 и 1,2±0,2 нг/мг белка соответственно).

Содержание uPA, выявленное в образцах тканей неизменной молочной железы, было значимо ниже, чем в ткани опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий.

Общую группу 248 больных РМЖ разделили на 2 подгруппы с учетом содержания uPA в ткани первичной опухоли относительно медианы этого маркера («больше» —  $\geq 1,0$  нг/мг белка и «меньше» —  $< 1,0$  нг/мг белка).

Так, частота выявления значений uPA  $\geq 1,0$  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.

Оценили корреляционную зависимость между возрастом больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и содержанием uPA в ткани опухоли. Никакой зависимости между вышеуказанными факторами нами не было выявлено, как в общей группе пациенток, так и у больных РМЖ с T1N0M0 и T2N0M0 стадиями болезни по отдельности.

Дисперсионный анализ в различных возрастных группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий также не выявил значимых различий в содержании uPA в ткани опухоли (таблица 55).

**Таблица 55** — Содержание uPA в ткани опухоли больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий с учетом возраста пациенток

<b>РМЖ (группы сравнения)</b>	<b>N</b>	<b>Частота значений uPA <math>\geq 1,0</math> нг/мг белка</b>	<b>uPA, нг/мг белка M<math>\pm</math>m (медиана)</b>	<b>Пределы колебаний uPA, нг/мг белка</b>
T1N0M0 стадия				
до 50 лет	21	9 (42,9%)	1,0 $\pm$ 0,3 (0,3)	0-3,2
от 50 до 60 лет	22	7 (31,8%)	1,0 $\pm$ 0,3 (0,3)	0,1-4,9
60 и более лет	35	18 (51,4%)	1,5 $\pm$ 0,3 (1,0)	0-8,9
T2N0M0 стадия				
до 50 лет	48	21 (43,8%)	1,5 $\pm$ 0,3 (0,5)	0-6,5
от 50 до 60 лет	45	21 (46,7%)	1,5 $\pm$ 0,3 (0,8)	0-8,6
60 и более лет	77	49 (63,6%)	2,0 $\pm$ 0,2 (1,6)	0-7,8

Так, частота обнаружения значений uPA в ткани первичной опухоли больных РМЖ  $\geq 1,0$  нг/мг белка с T1N0M0 стадией составила: 42,9% (9 из 21) в группе пациенток в возрасте до 50 лет; 31,8% (7 из 22) — в группе больных в возрасте от 50 до 59 лет; 51,4% (18 из 35) — в группе больных в возрасте от 60 лет и старше ( $p=0,3$ ).

Частота выявленных значений uPA  $\geq 1,0$  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) ( $p=0,05$ ).

Таким образом, повышенные значения uPA, определенные в ткани опухоли больных РМЖ, чаще выявляли у пациенток в возрасте старше 60 лет и, особенно, при T2N0M0 стадии опухолевого процесса.

Исследовали содержание uPA в опухоли больных РМЖ с учетом ее гистологического строения, данные этого раздела исследований представлены в таблице 56. 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 56** — 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)
<b>Примечание:</b> 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						

При этом, частота обнаружения значений uPA  $\geq 1,0$  нг/мг белка в опухоли общей группы больных РМЖ T1-2N0M0 стадий была наибольшей в группе пациенток с дольковым инфильтративным раком — 67,9% (19 из 28); в группе больных с протоковым инфильтративным раком она составила 49,3% (67 из 136); в группе больных со смешанным РМЖ — 49,3% (37 из 75), и была минимальной — 22,2% (2 из 9) в группе больных со слизистым раком (тенденция к различию частот;  $p=0,09$ ).

У больных РМЖ с T1N0M0 стадией частота выявления значений uPA более медианы ( $\geq 1,0$  нг/мг белка в ткани первичной опухоли) составили: 66,7% — при дольковом инфильтративном раке, 42,2% — при протоковом инфильтративном раке, 42,9% — при смешанном раке, 0% — при слизистом РМЖ.

У больных РМЖ с T2N0M0 стадией частота выявления значений uPA более медианы ( $\geq 1,0$  нг/мг белка в ткани первичной опухоли) равнялась: при дольковом инфильтративном раке — 68,4%, при протоковом инфильтративном раке — 52,8%, при смешанном — 51,9% и при слизистом РМЖ — 33,3%.

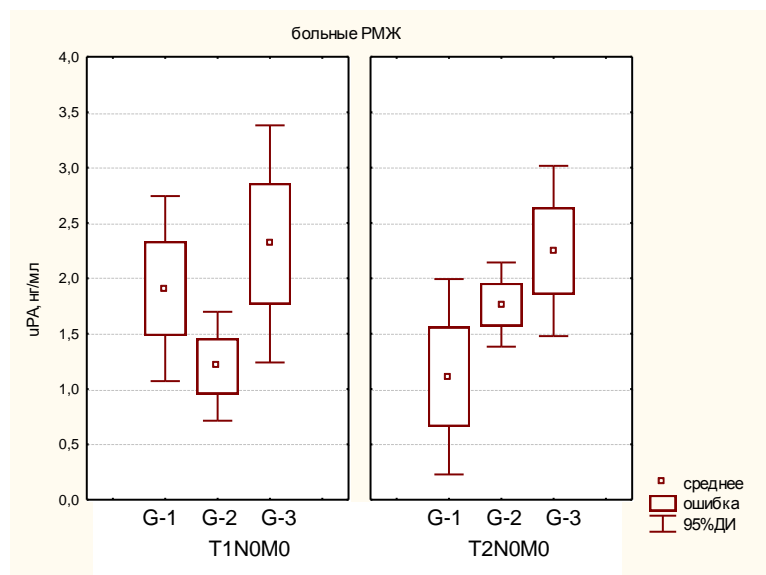
Таким образом, проведенный нами сравнительный анализ данных о содержании uPA в опухоли только в общей группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий выявил зависимость уровня этого маркера от гистологического варианта строения новообразования.

С увеличением степени злокачественности опухоли молочной железы отмечено повышение содержания uPA в ткани новообразования у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий. При этом, значимо отличалась только группа больных с G-3 ( $2,4 \pm 0,3$  нг/мг белка) независимо от стадии опухолевого процесса ( $p=0,0001$ ). Данные этого раздела исследований представлены в таблице 57 и более наглядно на рисунке 24.

**Таблица 57** — 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: 1vs3 p=0,08 и 2vs3 p=0,04;  
T1N0M0 стадия: 2vs3 p=0,088; T2N0M0 стадия: 1vs3 p=0,057



**Рисунок 24** — Содержание uPA в ткани опухоли больных РМЖ с учетом степени ее злокачественности и стадии заболевания

Частота выявления значений uPA более медианы ( $\geq 1,0$  нг/мг белка в ткани опухоли) больных РМЖ в группе пациенток с G-1 — 52,4% (11 из 21); в группе больных с G-2 — 53,9% (69 из 128); несколько увеличивалась в группе из 34 больных с G-3 — 61,1% (22 из 36) ( $p=0,7$ ).

Частота выявления значений uPA  $\geq 1$  нг/мг белка в ткани опухоли больных РМЖ с G-3: T1N0M0 стадией заболевания составила 75,0%, с T2N0M0 стадией — 61,5%.

Нами не установлено различий в частоте выявления высоких значений uPA в группах больных РМЖ с G-1, G-2, G-3 как у больных с T1N0M0 стадией — 75%, 41,9%, 66,7% соответственно, так и у больных с T2N0M0 стадией — 38,5%, 60,0%, 59,3% соответственно.

Не обнаружено значимых различий в содержании uPA в опухоли в группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом рецепторного статуса (РЭ, РП) новообразования (таблица 58).

**Таблица 58** — Содержание uPA в ткани опухоли больных РМЖ с учетом ее рецепторного статуса и стадии заболевания

Рецепторный статус опухоли	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)
РЭ+РП+	49	1,2±0,24 (0,7)	106	1,8±0,3 (1,2)	155	1,6±0,1 (1,0)
РЭ+РП-	17	1,6±0,6 (0,3)	31	1,9±0,3 (1,6)	48	1,8±0,3 (1,3)
РЭ-РП+	—		—		—	
РЭ-РП-	10	0,9±0,3 (0,4)	35	1,4±0,3 (0,7)	45	1,3±0,2 (0,8)
<b>Примечание:</b> все различия недостоверны						

Так, частота выявления значений uPA  $\geq 1$  нг/мг белка в ткани опухоли больных РМЖ в группе пациенток с положительным рецепторным статусом опухоли составила 49,3% (74 из 150); в группе больных с отрицательным рецепторным статусом опухоли — 43,2% (19 из 44); в группе из 47 больных со смешанным рецепторным статусом — 26 (55,3%) (различия статистически незначимы,  $p > 0,05$ ).

Не обнаружено статистически значимых различий в содержании uPA в ткани РМЖ у больных T1-2N0M0 стадий в группах пациенток с различным уровнем экспрессии белка Her2-neu в первичной опухоли.

Так, у 203 больных РМЖ с отсутствием экспрессии Her2-neu в опухоли среднее содержание uPA в опухоли составило  $1,6 \pm 0,1$  нг/мл (медиана — 1,0 нг/мл

белка), у 45 больных с выявленной экспрессией маркера Her2-neu+ —  $1,5 \pm 0,2$  нг/мг белка (медиана — 1,2 нг/мг белка), все различия статистически незначимы.

Не выявлено значимой связи между содержанием uPA в опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и биологическим подтипом новообразования ( $p > 0,05$ ). Однако следует отметить, что медиана uPA была наименьшей в группе с подтипом «люминальный А» РМЖ (1,1 нг/мг белка) и наибольшей в группе пациенток с подтипом Her2-neu+ (2,3 нг/мг белка) и подтипом «тройной негативный» РМЖ (1,9 нг/мг белка).

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

- маркера uPA значимо выше в ткани первичной опухоли, по сравнению с неизменной тканью молочной железы;
- маркер uPA значимо выше в ткани опухоли больных РМЖ при T2N0M0 стадии заболевания по сравнению с T1N0M0 стадией;
- содержание uPA значимо повышено в ткани РМЖ с G-3 степенью злокачественности;
- уровень uPA значимо выше в дольковом инфильтративном РМЖ и недостоверно выше при неблагоприятных биологических подтипах опухолей.

#### **4.4 Содержание IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ**

##### **T1-2N0M0 стадий и в контроле**

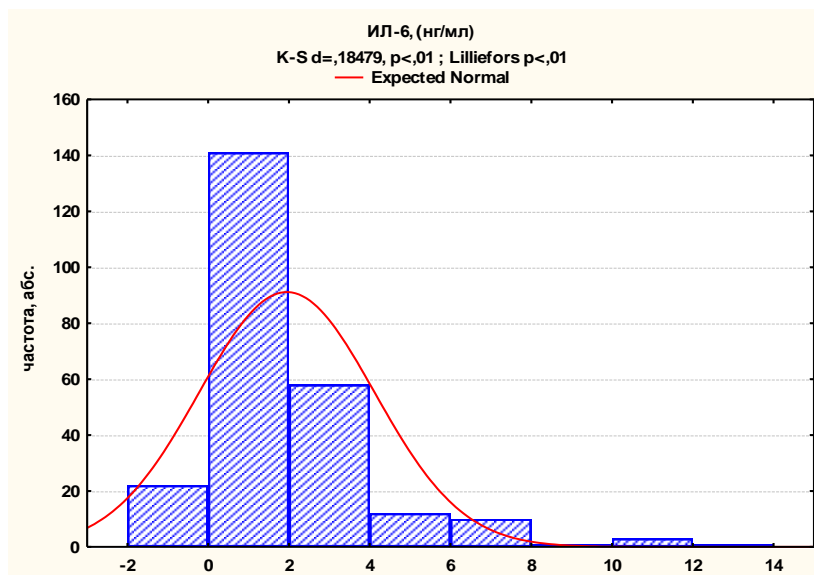
Исходную концентрацию IL-6 исследовали в сыворотке крови 248 первичных больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий.

Концентрация IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ колебалась в широких пределах: от 0 до 14 нг/мл, а среднее содержание цитокина составило  $1,95 \pm 0,14$  нг/мл (медиана — 1,3 нг/мл).

При этом, у 22 из 248 (8,9%) больных РМЖ IL-6 в сыворотке крови не был выявлен. У подавляющего большинства больных РМЖ 141 (56,9%) содержание



IL-6 не превышало 2,0 нг/мл в сыворотке крови, у 58 (23,4%) пациенток концентрация цитокина находилась в пределах от 2,0 до 4,0 нг/мл и у 27 из 248 (10,9%) больных сывороточные уровни IL-6 превышали 4,0 нг/мл. Данные о распределении уровней IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий представлены на рисунке 25.



**Рисунок 25** — Распределение уровней IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий

В контрольной группе (здоровые женщины) содержание IL-6 в сыворотке крови в среднем составило  $1,01 \pm 0,12$  нг/мл (медиана — 0,9 нг/мл), уровни цитокина колебались в пределах от 0,01 до 1,98 нг/мл. При этом, у большинства (72,0%) женщин контрольной группы уровни IL-6 находились в пределах от 0,01 до 1,0 нг/мл, у 24% — от 1,0 до 2,0 нг/мл, значения показателя цитокина в сыворотке крови выше 3,0 нг/мл — отсутствовали (таблица 59).

Верхняя граница референсного интервала (пороговое значение) содержания IL-6 в сыворотке крови в группе контроля равнялась 1,8 нг/мл.

При сопоставлении показателей IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с таковыми в группе контроля (таблица 59) обнаружены статистически значимые различия. Однако, следует отметить, что только у 30,8% больных РМЖ с T1N0M0 стадией и у 42,9% больных РМЖ с T2N0M0 стадией

содержание показателя этого цитокина в сыворотке крови превышало пороговое его значение равное 1,8 нг/мл, что указывает на недостаточную диагностическую информативность IL-6 у больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий.

**Таблица 59** — Содержание IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ T1N0M0, T2N0M0 стадий и в контроле

Группы сравнения	Число наблюдений	Частота значений IL-6 ≥ 1,8 нг/мл	IL-6, нг/мл M ± m (медиана)	IL-6, нг/мл пределы колебания
Контроль	55	3 (5,5%)	1,01 ± 0,12 (0,9)*	0,01-1,98
Стадия				
T1-2N0M0 (всего)	248	53 (21,4%)	1,95 ± 0,14 (1,3)**	0-14
T1N0M0	78	24 (30,8%)	1,47 ± 0,14 (1,15)	0-6,4
T2N0M0	170	73 (42,9%)	2,17 ± 0,19 (1,4)	0-14
<b>Примечание:</b> *vs** p=0,0001; T1N0M0-T2N0M0 стадии: p=0,02; T1N0M0 стадия-контроль: p=0,001; T2N0M0 стадия-контроль: p=0,0001				

При сопоставлении уровней IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий нами выявлены значимые различия (p=0,02). Вместе с тем, анализ частоты обнаружения значений маркера выше порогового его уровня в этих группах, показал только тенденцию к различию (p=0,06).

Нами не выявлено корреляционной зависимости между содержанием IL-6 в сыворотке крови и возрастом больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий.

Дисперсионный сравнительный анализ содержания IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ T1N0M0 и T2N0M0 стадий также не установил значимых различий между этими группами. Так, в группе из 69 больных РМЖ в возрасте до 50 лет среднее содержание IL-6 в сыворотке крови составило 2,0 ± 0,3 нг/мл (медиана — 1,4 нг/мл); в группе из 67 больных в возрасте от 50 до 60 лет — 1,8 ± 0,2 нг/мл (медиана — 1,3 нг/мл); в группе из 112 больных в возрасте от 60 лет и более — 2,0 ± 0,2 нг/мл (медиана — 1,3 нг/мл).

Не установлено также различий в показателях сывороточного уровня IL-6 в группах пациенток с учетом возраста и стадии РМЖ ( $p>0,05$ ).

Проведенный 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  $2,6\pm 0,4$  и  $1,6\pm 0,1$  нг/мл) (таблица 60).

**Таблица 60** — 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±m (медиана)	N	IL-6, нг/мл M±m (медиана)	N	IL-6, нг/мл M±m (медиана)
Дольковый <sup>1</sup>	8	2,3±0,6 (2,1)	19	2,7±0,6 (1,8)	27	2,6±0,4* (2,0)
Протоковый <sup>2</sup>	35	1,3±0,2 (1,0)	72	1,8±0,2 (1,4)	107	1,6±0,1* (1,3)
Педжета <sup>3</sup>	9	1,3±0,4 (1,2)	21	3,0±0,9 (1,3)	30	2,5±0,6 (1,3)
Слизистый <sup>4</sup>	1	2,0*	7	1,7±0,3 (2,1)	8	1,7±0,3 (2,1)
Смешанный <sup>5</sup>	23	1,5±0,3 (1,0)	53	2,2±0,4 (1,2)	76	2,0±0,3 (1,2)
<b>Примечание:</b> <i>общая группа 1vs2 p=0,035; T2N0M0 стадия: 2vs3 p=0,04</i>						

Отметим также, что концентрация IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ со слизистым строением опухоли была наименьшей ( $1,7\pm 0,3$  нг/мл).

В то же время частота выявления значений IL-6 выше порогового уровня цитокина в сыворотке крови, равного 1,8 нг/мл, составила 55,6% в группе больных с дольковым вариантом, 39,8% — с протоковым, 40% — раком Педжета, 62,5% — со слизистым, 35,5% — со смешанным вариантом строения РМЖ, различия между обследованными группами статистически незначимы ( $p=0,3$ ).

Следует отметить, что в группе больных РМЖ с T1N0M0 стадией и с дольковым инфильтративным раком частота выявления в сыворотке крови значений IL-6 более 1,8 нг/мл была в 2 раза выше, чем в группе пациенток с протоковым, слизистым и смешанным гистологическими вариантами строения опухоли и составила соответственно 62,5%, 31,4%, 33,3% и 26,1% (p=0,2).

В то же время частота выявления IL-6 выше порогового уровня в сыворотке крови у больных РМЖ T2N0M0 стадии была сопоставима в указанных выше группах с различным гистологическим строением опухоли и равнялась соответственно 52,6%, 43,8%, 42,9 и 39,6%.

Таким образом, исходное (до лечения) среднее содержание IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ было наименьшим при протоковом инфильтративном строении опухоли.

Обнаружено значимое 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. Данные этого раздела исследований представлены в таблице 61.

**Таблица 61** — 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)
<b>Примечание:</b> <i>общая группа:</i> 1vs3 p=0,034; 2vs3 p=0,011; <i>T2N0M0 стадия:</i> 1vs3 p=0,02; 2vs3 p=0,005						

Частота выявления значений IL-6 выше его порогового уровня составила 38,1% у больных с I степенью злокачественности (G-1), 35,9% — у больных с II степенью (G-2) и была наибольшей 52,8% — у пациенток с III степенью (G-3) злокачественности РМЖ ( $p=0,19$ ).

При этом, в группе больных РМЖ с T1N0M0 стадией частота выявления в сыворотке крови IL-6  $>1,8$  нг/мл не различалась значимо при различных степенях злокачественности опухоли и составила соответственно при G-1, G-2, G-3: 50,0%, 32,6% и 33,3%.

У больных РМЖ с T2N0M0 стадией различия в показателях маркера IL-6 были более выражены, однако также незначимы ( $p=0,07$ ). Так, у больных РМЖ в T2N0M0 стадии в группах с G-1, G-2 и G-3 степенью злокачественности опухоли частота выявления в сыворотке крови уровней IL-6  $>1,8$  нг/мл составила соответственно: 30,7%, 41,2% и 63%.

Таким образом, у больных РМЖ T2N0M0 стадии с G-3 — диагностическая ценность исходных (до лечения) показателей IL-6 в сыворотке крови возрастала до 63%.

Нами не обнаружено связи между содержанием IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий и рецепторным статусом (РЭ, РП) опухоли. Так, в группе из 155 больных РМЖ с РЭ+РП+ опухолями среднее содержание IL-6 в сыворотке крови составило  $1,8 \pm 0,2$  нг/мл (медиана — 1,2 нг/мл). В группе из 45 больных РМЖ с РЭ-РП- опухолями концентрация цитокина равнялась  $2,5 \pm 0,4$  нг/мл (медиана — 2,0 нг/мл). В группе из 48 больных РЭ+РП- среднее содержание IL-6 в сыворотке крови составило соответственно  $1,9 \pm 0,2$  нг/мл, а медиана цитокина равнялась 1,6 нг/мл ( $p>0,05$ ).

Частота выявления значений IL-6 выше его порогового уровня в указанных группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий также не различалась и составила 36,5% (57 из 156) при РЭ+РП+ опухолях, 51,1% (23 из 45) — при РЭ-РП- опухолях, 45,8% (22 из 48) — при РЭ+РП- опухолях ( $p=0,13$ ), то есть была минимальна при благоприятном рецепторном статусе опухоли.

В группах с учетом стадии и рецепторного статуса РМЖ различия в показателях цитокина в сыворотке крови также нами не выявлены ( $p>0,05$ ).

В группе из 203 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с отсутствием экспрессии белка Her2-neu в первичной опухоли содержание IL-6 в сыворотке крови в среднем составило  $1,9\pm 0,2$  нг/мл (медиана — 1,3 нг/мл).

В группе из 45 больных РМЖ с T1-2N0M0 стадией с выявленной экспрессией белка Her2-neu+ в ткани опухоли содержание IL-6 в сыворотке крови составило  $2,3\pm 0,3$  нг/мл (медиана — 1,4 нг/мл). Все выявленные нами различия статистически незначимы.

В группах с учетом стадии и наличия экспрессии белка Her2-neu в опухоли различий в содержании IL-6 в сыворотке крови пациенток также не установлено ( $p>0,05$ ).

Частота выявления значений IL-6 выше его порогового уровня в сыворотке крови в указанных группах больных РМЖ составила: 39,4% — при отрицательном статусе Her2-neu в опухоли и 48,9% — при наличии экспрессии белка Her2-neu в опухоли ( $p=0,4$ ).

Следует отметить, что у больных РМЖ с T1N0M0 стадией и с отсутствием экспрессии белка Her2-neu в первичной опухоли частота выявления сывороточного IL-6 выше порогового уровня цитокина составила всего 32,3% и не отличалась значимо у пациентов при выявлении экспрессии Her2-neu в первичной опухоли — 42,9% ( $p=0,4$ ). У больных РМЖ с T2N0M0 стадией частота выявления IL-6 выше порогового уровня при наличии и отсутствии экспрессии белка Her2-neu в первичной опухоли не различалась и составили 42,3% и 51,6% соответственно ( $p=0,3$ ).

Нами не обнаружено достоверных различий в исходных концентрациях сывороточного IL-6 в группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом биологического подтипа опухоли ( $p>0,05$ ). Так, при подтипе РМЖ «люминальный А» медиана цитокина равнялась 0,8 нг/мл, при неблагоприятном подтипе «тройной негативный рак» — 0,9 нг/мл.

Подводя итоги исследования исходного содержания IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, отметим, что маркер отражал основные клинические признаки опухоли, а именно — стадию заболевания, степень злокачественности опухоли, и не был значимо связан с морфологическим строением и биологическим подтипом опухоли.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что IL-6, как и любой другой цитокин не может быть использован в диагностике начальных стадий РМЖ. Вероятно, его концентрация в крови дает информацию о функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток и тяжести опухолевого процесса, его переходе на системный уровень и о прогнозе заболевания .

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

Исходную концентрацию sFas исследовали в образцах сыворотки крови у 248 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий. При этом у 105 (42,3%) пациенток sFas не был выявлен в сыворотке крови, у 116 (46,8%) концентрация sFas находилась в пределах от 0,3 до 2,0 нг/мл и у 27 (10,9%) больных РМЖ уровни маркера были от 2,0 нг/мл и более.

В дальнейшем, 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  $1,7 \pm 0,2$  нг/мл (медиана — 1,1 нг/мл).

В группе контроля (здоровые женщины) частота выявления sFas в сыворотке крови составила 48,1% и была незначимо ниже таковой в группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий ( $p=0,23$ ).

В то же время среднее содержание sFas в сыворотке крови обследованных здоровых женщин группы контроля составило  $0,73 \pm 0,1$  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 ( $p=0,001$ ).

Как видно из данных, представленных в таблице 62, у больных РМЖ T2N0M0 стадии выявлено незначимое повышение среднего содержания и медиан sFas в сыворотке крови по сравнению с группой больных РМЖ с T1N0M0 стадией заболевания. Частота выявления sFas в этих группах различалась также незначимо (на 6%).

**Таблица 62** — 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 $M \pm m$ (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
<b>Примечание:</b> T1-2N0M0 стадии (общая группа) vs контроль $p=0,0001$ ; T1N0M0-T2N0M0 стадии: $p=0,48$ ; T1N0M0-контроль: $p=0,001$ ; T2N0M0-контроль: $p=0,0015$				

Частота выявления и концентрации sFas в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий не были связаны с возрастом пациенток корреляционной зависимостью. Дисперсионный анализ не выявил статистически значимых различий маркера в возрастных группах. Так, в группе из 37 больных с выявленным sFas до 50 лет содержание показателя составило  $2,0 \pm 0,5$  нг/мл, медиана 1,2 нг/мл; в группе из 42 больных в возрасте от 50 до 59 лет —



1,5±0,2 нг/мл, медиана 1,0 нг/мл; в группе из 64 больных от 60 лет и старше — 1,6±0,2 нг/мл, медиана 1,1 нг/мл.

Нами проведен анализ связи исходных показателей sFas в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом гистологического строения первичной опухоли. Данные представлены в таблице 63.

**Таблица 63** — 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)
<b>Примечание:</b> 1vs2 p=0,03; 2vs5 p=0,04; T2N0M0 стадия: 2vs5 p=0,04						

Частота выявления sFas в группе больных РМЖ с низкой степенью злокачественности опухоли (G-1) составила 24% (11 из 47), в группе пациенток с умеренной степенью злокачественности (G-2) — уже 58,9% (89 из 151) и была значимо наибольшей в группе больных с высокой степенью злокачественности (G-3) — 86% (43 из 50) (p=0,0001). Следовательно, степень злокачественности РМЖ в значительно большей степени, чем стадия, определяла частоту выявления sFas в сыворотке крови пациенток.

Обнаружили значимое повышение содержания sFas в сыворотке крови 143 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий при увеличении степени злокачественности

опухоли ( $p=0,004$ ). Данные этого раздела исследований представлены в таблице 64.

**Таблица 64** — Концентрация sFas у больных РМЖ с учетом степени злокачественности опухоли и стадии 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)***
<b>Примечание:</b> <i>общая группа:</i> *vs*** $p=0,02$ ; **vs*** $p=0,0002$ ; <i>T2N0M0 стадия:</i> **vs*** $p=0,0001$						

Таким образом, sFas как по частоте выявления, так и по концентрации в сыворотке крови, отражает степень злокачественности РМЖ и может быть полезным для оценки биологической характеристики опухоли.

Не обнаружили связи между содержанием sFas в сыворотке крови больных РМЖ и рецепторным статусом (РЭ, РП) опухоли. Так, в группе пациенток РЭ+РП+ опухолью содержание маркера составило  $0,68±0,2$  нг/мл, в группе больных с РЭ-РП- опухолями —  $0,78±0,2$  нг/мл, в группе больных с РЭ+РП- опухолями  $0,55±0,2$  нг/мл, а в группе пациенток с РЭ-РП+ опухолями —  $1,29±0,4$  нг/мл ( $p=0,5$ ). Различия статистически не значимы.

Содержание sFas в сыворотке крови у больных с отсутствием и наличием экспрессии Her2-neu в опухоли не различалось (медианы sFas составили 0,5 и 0,6 нг/мл;  $p=0,6$ ).

Не обнаружено значимых различий в частоте обнаружения и содержании sFas в сыворотке крови больных с разным биологическим подтипом опухоли ( $p>0,5$ ). Так, например, в группе пациенток с благоприятным биологическим

подтипом РМЖ «люминальный А» среднее содержание sFas составило  $0,9 \pm 0,2$  нг/мл; при подтипе «люминальный В Her2-neu-» —  $1,2 \pm 0,3$  нг/мл, при подтипе «ЭР+, ПР-, Her2-, Ki67<20%» —  $0,9 \pm 0,1$  нг/мл; при подтипе «люминальный В Her2-neu+» —  $1,3 \pm 0,4$  нг/мл, при подтипе «тройной негативный» рак —  $0,9 \pm 0,2$  нг/мл и при подтипе «Her2-neu+» —  $0,8 \pm 0,2$  нг/мл.

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.

## Глава 5

**ПОКАЗАТЕЛИ БЕЗРЕЦИДИВНОЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ  
БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ T1-2N0M0 СТАДИЙ  
С УЧЕТОМ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ  
И УРОВНЯ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ  
(результаты собственных исследований)**

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 либо продолженного роста опухоли.

В таблице 65 представлены данные безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от ключевых клинических, морфологических и молекулярно-биологических факторов, характеризующих РМЖ, и общепринятых на сегодняшний день в практической онкологии. Наибольшие различия результатов лечения этой группы больных РМЖ отмечены при анализе рецепторного статуса опухоли, Her2-neu статуса новообразования и биологического подтипа опухоли, а также степени ее злокачественности и гистологического варианта строения РМЖ.

**Таблица 65** — Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом клинических, морфологических и биологических характеристик опухолевого процесса

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	

Окончание таблицы 65

Фактор	Градация	N	Безрецидивная выживаемость, %			P
			2-летняя	5-летняя	10-летняя	
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 выше 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

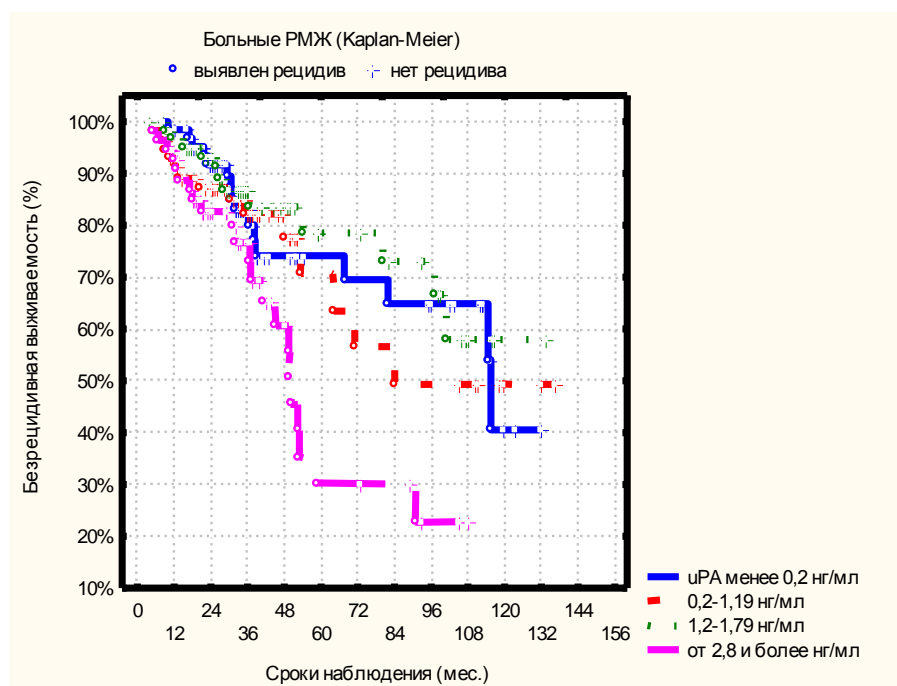
и T2N0M0 стадий. Полученные данные указывают на тот факт, что прогнозирование развития рецидива опухолевого процесса у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий возможно после хирургического удаления первичной опухоли и исследования биологических характеристик новообразования.

### 5.1 Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ

#### T1-2N0M0 стадий в зависимости от содержания uPA в ткани опухоли

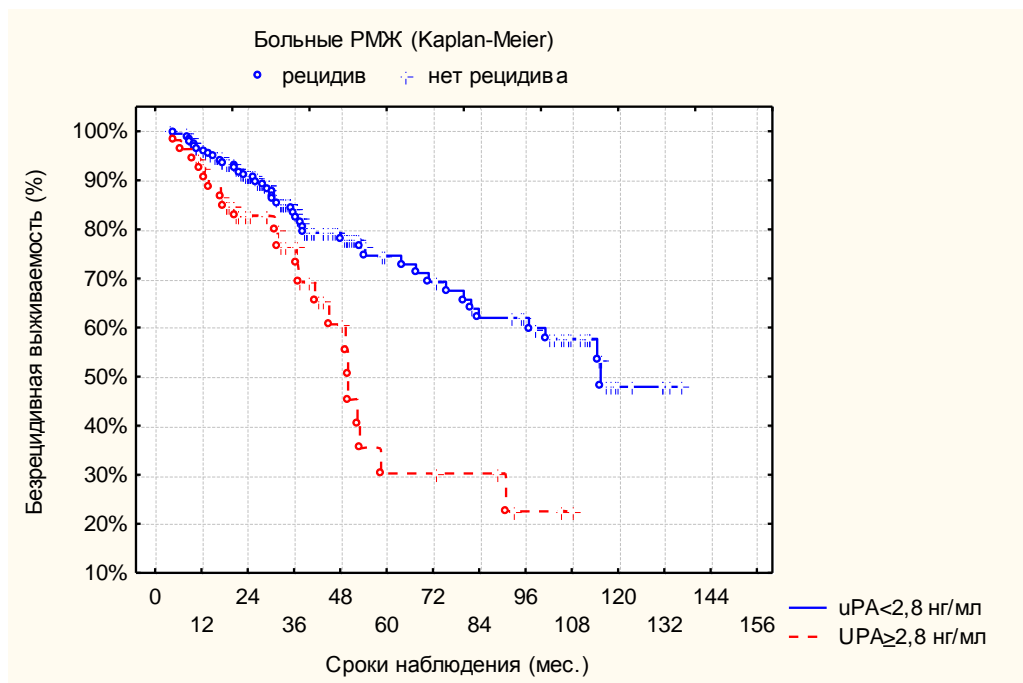
Рассчитали показатели безрецидивной выживаемости в группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, разделенных на 4 интервала по квартилям содержания uPA в ткани опухоли, определенного у прослеженных пациенток.

Нами выявлена выраженная тенденция ( $p=0,09$ ) к значительному ухудшению безрецидивной выживаемости у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий при «высоких» значениях uPA в ткани опухоли от 2,8 нг/мг белка и более. В тоже время, у больных РМЖ с меньшими значениями (интервалами) uPA в ткани опухоли молочной железы показатели безрецидивной выживаемости были сопоставимыми (рисунок 26).



**Рисунок 26** — Показатели безрецидивной выживаемости у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий при различном содержании uPA в ткани опухоли

Содержание uPA в ткани РМЖ, равное 2,8 нг/мг белка, было выбрано нами за пороговый уровень маркера при определении прогноза развития рецидива опухолевого процесса у этой категории пациенток (рисунок 27).



**Рисунок 27** — График показателей безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий при значениях uPA в ткани опухоли ниже и выше порогового значения маркера равного 2,8 нг/мг белка

Как следует из приведенных данных, различия в показателях безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом порогового содержания uPA в первичной ткани опухоли проявили себя при сроке наблюдения от 5 лет и более. Так, показатель безрецидивной выживаемости составил 75,0% при «низких» (<2,8 нг/мг белка) значениях uPA и 30,0% — при «высоких» (≥2,8 нг/мг белка) уровнях маркера. Следовательно, показатели безрецидивной выживаемости у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в 2,5 раза ниже при «высоком» содержании uPA (≥2,8 нг/мг белка) в ткани опухоли. Медианы длительности безрецидивного периода в группах больных РМЖ с «низким» и «высоким» содержанием маркера составили соответственно 115 и 50 мес. соответственно.

Проанализированы частоты выявления «низких» и «высоких» значений uPA в опухоли у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с выявленными в различные сроки рецидивами РМЖ. У больных РМЖ T1-2N0M0 стадий частота выявления ранних (в первые 2 года от начала лечения) рецидивов не связана с содержанием uPA в ткани первичной опухоли. Напротив, частота обнаружения рецидивов опухолевого процесса («отдаленные рецидивы») у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий после 5 лет от начала лечения составила в указанных выше группах с «высокими» и «низкими» уровнями uPA равнялась соответственно 23,8% и 4,6%.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что «высокое» содержание маркера uPA в ткани первичной опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий может указывать на неблагоприятный долгосрочный прогноз клинического течения болезни. После 5 лет наблюдения от начала лечения при исходно «высоких» значениях тканевого маркера uPA рецидивы опухолевого процесса выявлялись более, чем в 5 раз чаще, чем при «низких» показателях uPA.

Следует отметить, что число больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с неблагоприятным по uPA содержанием маркера в опухоли ( $\geq 2,8$  нг/мг белка) с 5-летним прогнозом заболевания составила 22,8% (55 из 241).

При T1N0M0 стадии РМЖ частота таких пациенток равнялась 15,3%, и повышалась до 25,9% у больных РМЖ с T2N0M0 стадией. Несколько реже «высокие» прогностически неблагоприятные уровни uPA выявлены в группе больных с G-1 и G-2 опухолями (16,7% и 20,0% соответственно). При G-3 степени злокачественности РМЖ в ткани опухоли в 2 раза чаще выявляли «высокие» значения uPA.

## **5.2 Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом уровня IL-6 в сыворотке крови**

Рассчитали показатели безрецидивной выживаемости в группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, разделенных на 4 интервала по значениям квартилей цитокина IL-6, определенных исходно в сыворотке крови у прослеженных пациенток.



Нами установлено, что значимо ( $p=0,004$ ) худшие показатели безрецидивной выживаемости выявлены среди больных РМЖ T1-2N0M0 стадий при «высоких» концентрациях сывороточного ИЛ-6 (от 2,4 нг/мл и более), чем при низких значениях цитокина (менее 2,4 нг/мл).

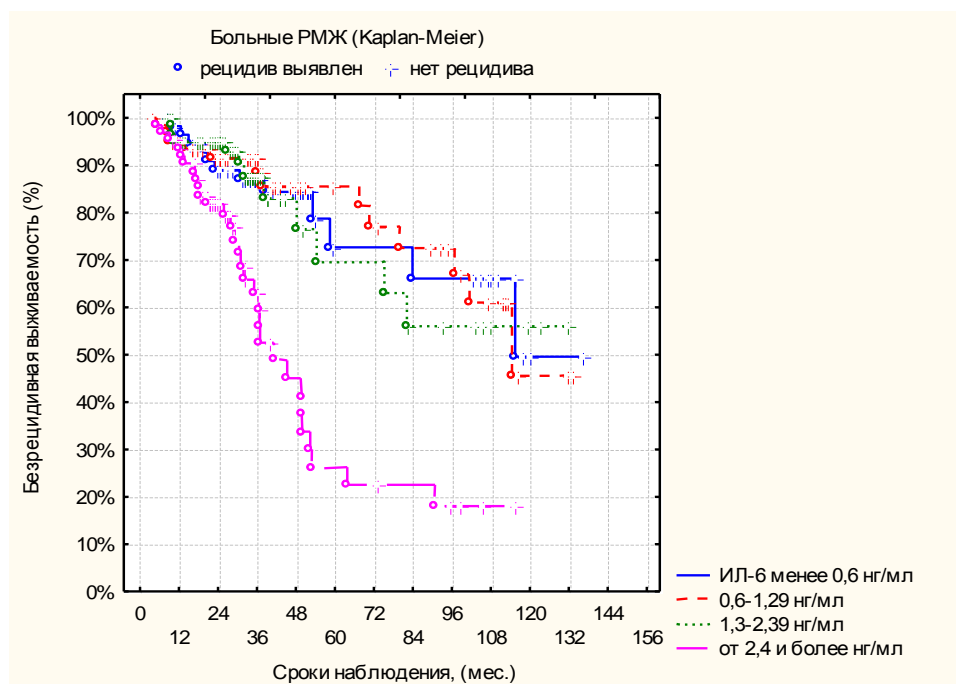
Вместе с тем, у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с меньшими значениями сывороточных уровней ИЛ-6 (менее 2,4 нг/мл) показатели безрецидивной выживаемости в трех группах пациенток в следующих трех интервалах цитокина:

**I интервал** — от 1,3 до 2,29 нг/мл;

**II интервал** — от 0,6 до 1,29 нг/мл;

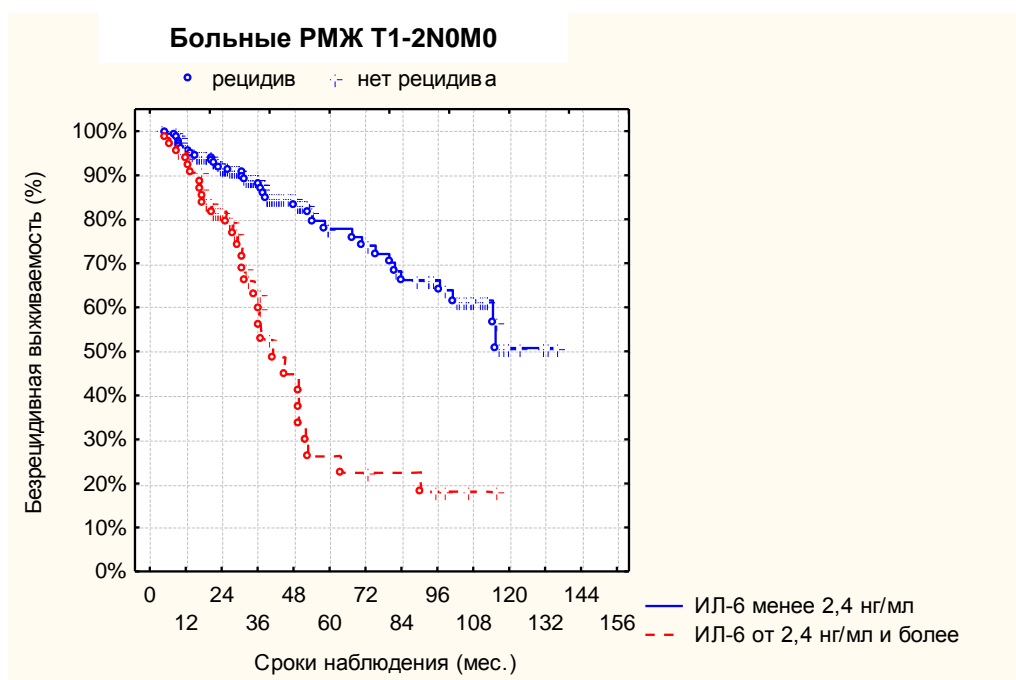
**III интервал** — менее 0,6 нг/мл

не различались и были практически одинаковыми в этих группах пациенток (рисунок 28).



**Рисунок 28** — Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий при различных исходных значениях ИЛ-6 в сыворотке крови

Следовательно, нами было определено исходное значение сывороточного ИЛ-6 равное 2,4 нг/мл как пороговый уровень цитокина в оценке прогноза развития раннего рецидива у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий (рисунок 29; таблица 66).



**Рисунок 29** — Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом исходных концентраций сывороточного ИЛ-6 ниже и выше порогового уровня маркера равного 2,4 нг/мл

**Таблица 66** — Сравнительный анализ показателей безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом исходных сывороточных уровней ИЛ-6 ниже и выше порогового значения маркера равного 2,4 нг/мл

ИЛ-6, нг/мл	N	Медиана жизни без рецидива	Показатели безрецидивной выживаемости, %				
			1 год	2 года	3 года	5 лет	10 лет
<2,4	184	не достиг.	96,1±1,4	91,9±2,1	88,8±2,5	77,8±4,4	50,8±8,6
≥2,4	64	39,8 мес.	93,7±3,1	81,8±5,0	62,3±7,4	26,3±8,1	18,0±7,4
P	<0,0001						

Так, в группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий со значениями концентраций ИЛ-6 в сыворотке крови ниже и выше порогового уровня цитокина отмечены высокозначимые отличия в показателях безрецидивной выживаемости ( $p < 0,00001$ ).

Как видно из данных, представленных в таблице 66, различия в показателях выживаемости проявились в период наблюдения от 2-х лет и более.

Так, медиана длительности безрецидивного периода в группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с «низкими» значениями IL-6 не достигнута при 10-летнем периоде наблюдения. В то же время в группе с «высокими» значениями цитокина, медиана срока выявления рецидива составила чуть более 3-х лет (39,8 месяцев).

Показатель 5-летней безрецидивной выживаемости равнялся 78% при «низких» исходных уровнях IL-6 и только 26% — при «высоких» уровнях маркера. Следовательно, отдаленный прогноз безрецидивной выживаемости у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в 3 раза хуже среди пациенток с исходно высокими сывороточными концентрациями IL-6.

Таким образом, исходные показатели сывороточного маркера IL-6 у больных РМЖ могут указывать на неблагоприятный прогноз течения заболевания среди пациенток с T1N0M0 и T2N0M0 стадиями.

Число больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с неблагоприятным по IL-6 прогнозом заболевания составила при T1N0M0 стадии 13,0%, но повышалась до 31,2% у больных РМЖ с T2N0M0 стадией.

Реже «высокие» прогностически неблагоприятные уровни IL-6 были выявлены нами в группе больных РМЖ с G-1 и G-2 степенью дифференцировки опухоли (15,0% и 24,2% соответственно), но в 2 раза чаще при G-3 степени (42,9%).

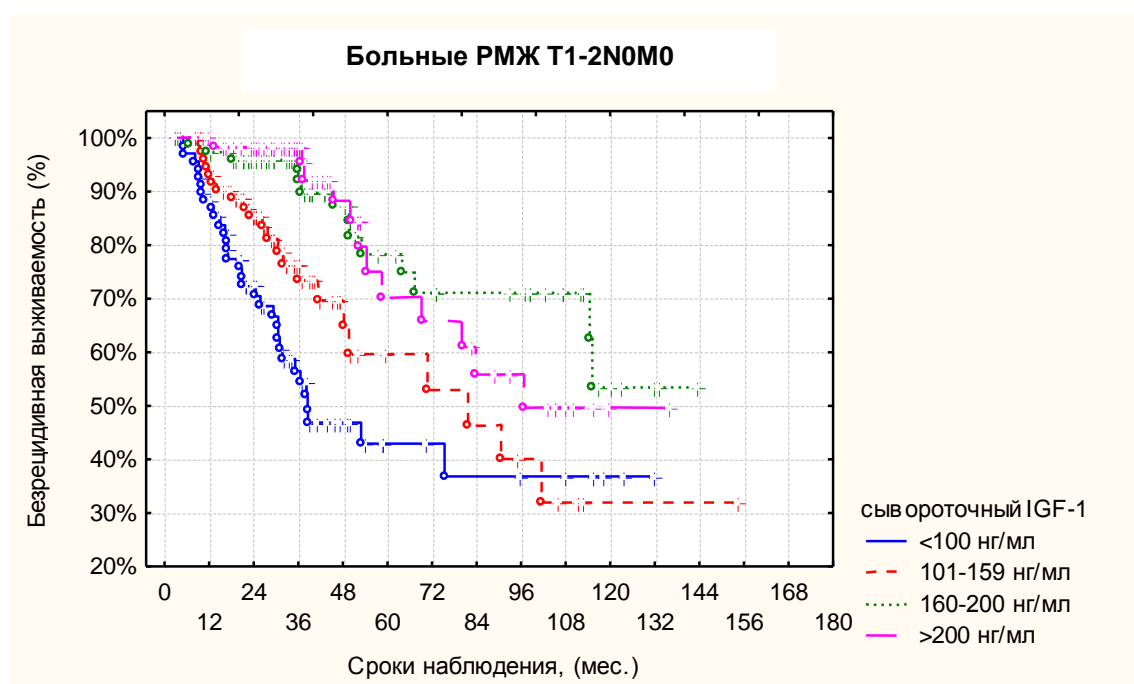
Полученные нами данные по анализу исходных до лечения уровней IL-6 в сыворотке крови убедительно указывают на перспективность определения концентрации IL-6 в последующем мониторинге за больными РМЖ T1-2N0M0 стадий.

### **5.3 Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ**

#### **T1-2N0M0 стадий с учетом исходного уровня IGF-I в сыворотке крови**

Для выявления связи отдаленных результатов лечения больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с содержанием исходного уровня сывороточного IGF-I, показатели исследуемого маркера разделили на 4 интервала, ориентируясь на его

медиану и квантили. С учетом этих интервалов IGF-I подсчитали показатели безрецидивной выживаемости в каждой группе больных (рисунок 30). Как следует из представленных данных, различия в показателях отдаленных результатов лечения больных РМЖ T1-2N0M0 стадий наиболее выражены в течение первых 5 лет от начала лечения. При этом, показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с исходными концентрациями сывороточного IGF-I от 160 до 200 нг/мл и  $\geq 200$  нг/мл при выше указанных на рисунке 29 сроках наблюдения практически не различались.

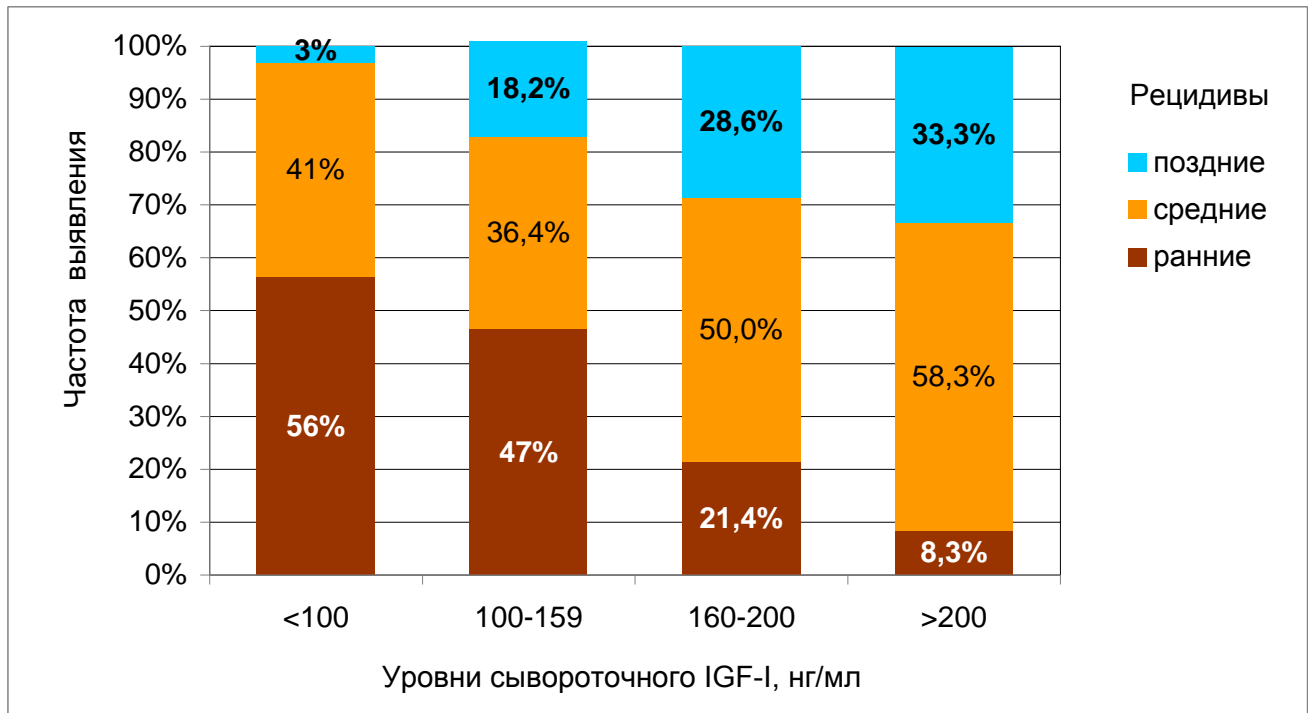


**Рисунок 30** — График показателей безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий при различных уровнях сывороточного IGF-I

Прогностически благоприятными следует считать исходные уровни сывороточных концентраций IGF-I от 160 нг/мл и более у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий. Исходные уровни маркера IGF-I в сыворотке крови пациенток с РМЖ T1-2N0M0 стадий менее 100 нг/мл следует считать прогностически неблагоприятными.

Частота обнаружения ранних рецидивов опухолевого процесса значимо ( $p=0,02$ ) различалась между группами больных РМЖ T1-2N0M0 стадий,

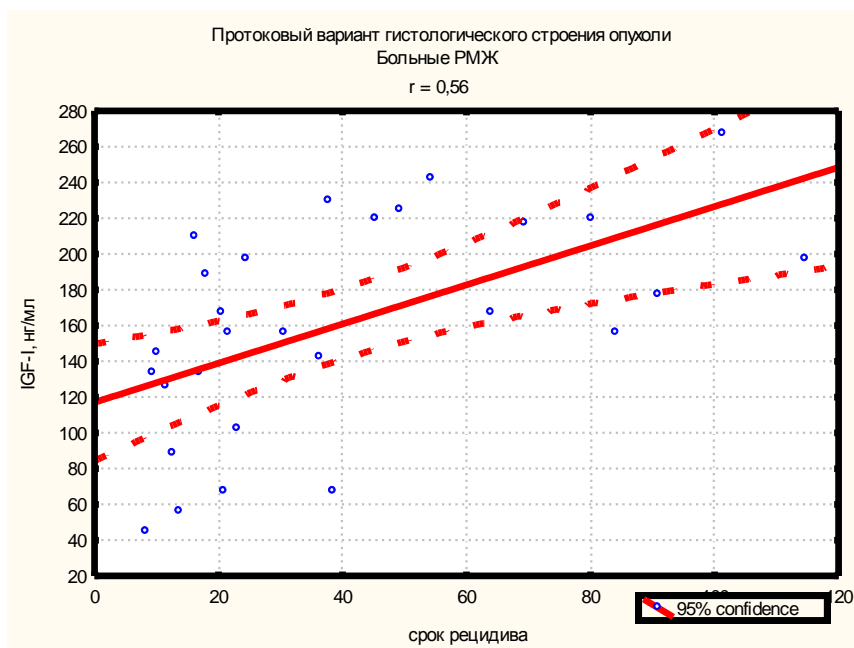
разделенных по уровню исходных концентраций маркера IGF-I в сыворотке крови (рисунок 31).



**Рисунок 31** — Частота распределения ранних и поздних рецидивов опухолевого процесса у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от уровней сывороточного IGF-I

Таким образом, для оценки прогноза раннего рецидива опухолевого процесса у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий целесообразно использовать исходные показатели сывороточных IGF-I равных и ниже 100 нг/мл.

Кроме того, в общей группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий нами установлена прямая корреляционная зависимость между временем развития рецидива и исходным уровнем IGF-I в сыворотке крови ( $r=0,37$ ;  $p=0,001$ ). При этом, зависимость была более выражена в группе пациенток с T1N0M0 стадией РМЖ ( $r=0,54$ ;  $p=0,01$ ); при G1-G2 степени злокачественности опухоли ( $r=0,49$ ;  $p=0,001$ ); при протоковом инфильтративном РМЖ ( $r=0,56$ ;  $p=0,002$ ) (рисунок 32).



**Рисунок 32** — Корреляционная зависимость между временем развития рецидива и исходным уровнем IGF-I в сыворотке крови больных протоковым РМЖ T1-2N0M0 стадий

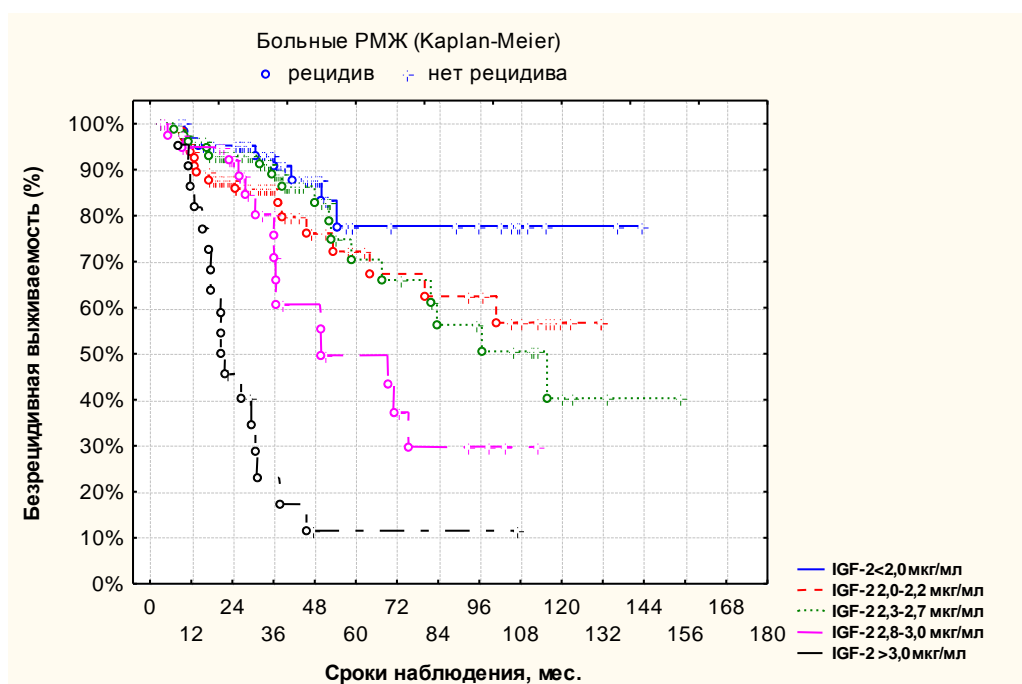
Таким образом, представленные и проанализированные нами результаты исходных показателей IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом основных клинических и морфологических характеристик опухолевого процесса позволяют сделать следующее заключение. Исходный показатель IGF-I, определенный в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий обладает значимой прогностической ценностью у больных РМЖ при вышеуказанных стадиях болезни и может быть использован в качестве маркера в оценке прогнозирования раннего рецидива у этой категории больных.

#### **5.4 Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом уровня IGF-II в сыворотке крови**

Проведен анализ связи отдаленных результатов лечения больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с содержанием исходного сывороточного уровня IGF-II. Значения показателей этого маркера с учетом распределения его уровней у практически здоровых женщин (группа контроля) и у больных РМЖ разделили на 5 групп:

- 1 — в пределах нормы — менее 2,0 мкг/мл (n=66);
- 2 — менее медианы в группе больных РМЖ — от 2,0 до 2,3 мкг/мл (n=67);
- 3 — со значениями среди больных РМЖ — от 2,3 по 2,7 мкг/мл (n=82);
- 4 — со значениями от 2,7 по 3,0 мкг/мл (n=44);
- 5 — значимо повышен — более 3,0 мкг/мл (n=22).

На основании разделения исходных уровней сывороточного IGF-II в выше указанных группах проведен по отдельности анализ показателей безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий (рисунок 33).



**Рисунок 33** — Графики показателей безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом различных исходных уровней IGF-II в сыворотке крови

Как видно из полученных нами данных, исходные значения концентраций IGF-II в сыворотке крови более 3,0 мкг/мл у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий следует считать крайне неблагоприятными в прогнозе безрецидивной выживаемости. Так, например, уже ко 2-му году более чем у половины больных РМЖ T1-2N0M0 стадий со значениями маркера IGF-II более 3,0 мкг/мл был выявлен рецидив. К 3-му году рецидив выявлен в 77% наблюдений, к 5-му году — в 88,5%. В то же время, исходные значения IGF-II в сыворотке крови больных

PMЖ T1-2N0M0 стадий менее 3,0 мкг/мл не позволили выделить группу пациенток с ранними рецидивами (в первые 2 года от начала лечения), а 2-летняя безрецидивная выживаемость при этих значениях колебалась в узком диапазоне от 87,8 до 95,2%.

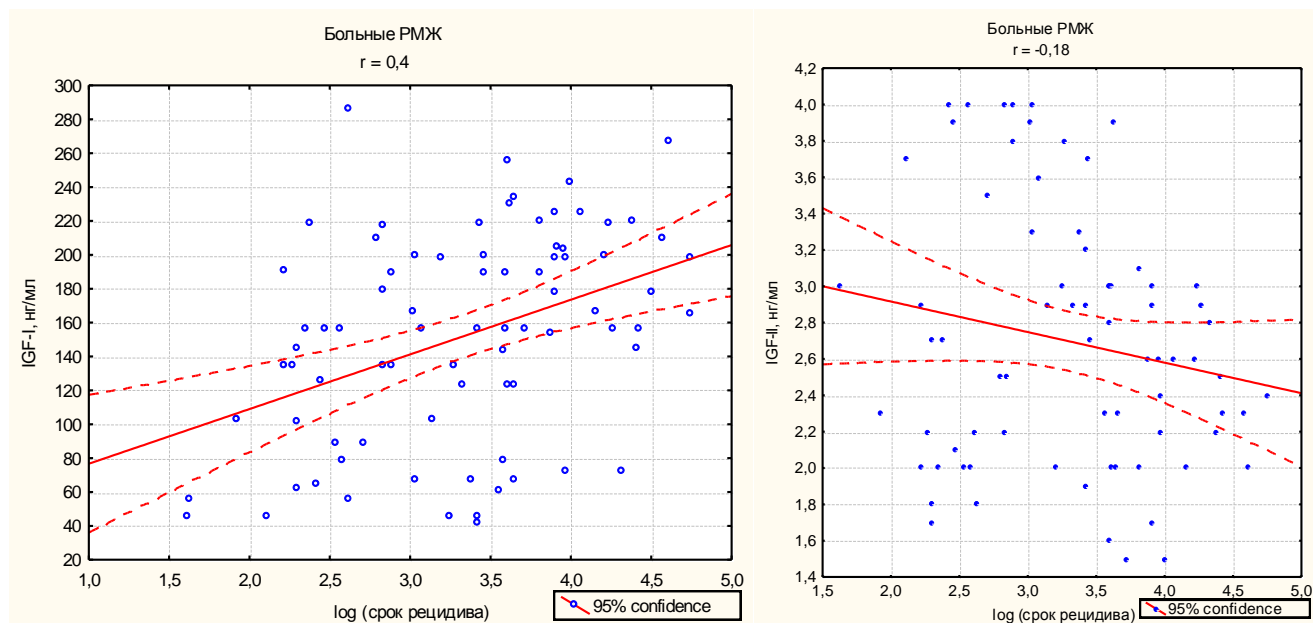
Следует указать, что различия в показателях безрецидивной выживаемости между группами больных PMЖ T1-2N0M0 стадий становились более отчетливыми через 5 лет наблюдения от начала лечения и были наибольшими через 10 лет от начала проведенной терапии.

Таким образом, при оценке прогноза раннего рецидива (в сроки наблюдения менее 2-х от начала лечения) у больных PMЖ T1-2N0M0 стадий необходимо использовать пороговый уровень маркера IGF-II > 3,0 мкг/мл. Однако следует отметить малочисленность данной группы больных PMЖ T1-2N0M0 стадий (7,8%).

Для оценки прогноза рецидива опухоли в сроки менее 5 лет — пороговый уровень IGF-II > 2,7 мкг/мл; для оценки прогноза рецидива опухолевого процесса в период наблюдения до 10 лет — полезно использовать пороговый уровень IGF-II < 2,0 мкг/мл, при котором вероятность рецидива болезни крайне мала (в первые 3 года наблюдения) от начала проведенной терапии — 6,7%, а после 5-ти лет — этот показатель составил 22,2%.

Анализ связи времени выявленных рецидивов опухолевого процесса с исходными уровнями сывороточного IGF-II у больных PMЖ T1-2N0M0 выявил отсутствие значимой корреляционной зависимости между этими показателями ( $r = -0,22$ ;  $p = 0,05$ ) (рисунок 34). Следовательно, для оценки прогноза рецидива у больных PMЖ T1-2N0M0 стадий целесообразнее использовать интервалы уровней сывороточного IGF-II, указанные нами ранее. При этом, у части пациенток индивидуальное значение показателя IGF-II в сыворотке крови до лечения может не только предполагать, но даже указывать на возможный срок выявления рецидива опухоли.





**Рисунок 34** — Корреляционные зависимости между временем выявления рецидива и уровнями IGF-I и IGF-II, определенных в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 до проводимого лечения

Полученные нами данные показали существенно большую связь отдаленных результатов лечения больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с исходными уровнями сывороточного IGF-II, чем с общепринятыми в клинической практике, такими прогностическими факторами как: стадия заболевания, степень злокачественности опухоли и ее гистологический вариант, рецепторный статус (РЭ, РП) и статус Her2-neu опухоли.

**Многофакторный** анализ связи отдаленных результатов лечения с уровнями как IGF-I, так и IGF-II, измеренных в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий показал, что оба маркера наряду с клиническими и морфологическими факторами, характеризующими опухоль, можно считать значимыми независимыми факторами прогноза безрецидивной выживаемости ( $p < 0,001$ ).

Представляло интерес оценить связь с показателями безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий исходных уровней IGF-I и IGF-II, исследованных в сыворотке крови (таблица 67).

**Таблица 67** — Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом одновременного определения уровней IGF-I и IGF-II в сыворотке крови до лечения

IGF-I; IGF-II (нг/мл; мкг/мл)	N	Медиана, мес.	Показатели безрецидивной выживаемости, %			
			2-летняя	3-летняя	5-летняя	10-летняя
<100; <2,0	16	–	93,8±6,1	93,8±6,1	93,8±6,1	–
<100; ≥2,0	50	30,6	64,4±7,2	41,0±9,0	28,2±7,8	22,5±8,0
<100; ≥2,8	17	20,8	47,4±12,9	6,8±6,5	6,8±6,5	0
100-159; <2,0	19	–	88,9±7,4	82,1±9,5	62,5±14,1	–
100-159; ≥2,0	34	82,8.	82,4±5,7	75,7±6,9	67,3±10,5	40,4±13,6
≥160; <2,0	30	–	100	100	81,5±11,9	81,5±11,9
≥160; ≥2,0	108	107,7	96,1±1,9	94,5±2,5	71,9±6,4	46,7±9,9

Как следует из данных, представленных в таблице 67, наихудшие показатели безрецидивной выживаемости были отмечены в группе из 50 больных РМЖ с неблагоприятными значениями обоих маркеров. Так, показатели 10-летней выживаемости составили 22,5±8,0%, медиана срока жизни без рецидива не достигла 3-х лет. Поэтому данную группу пациенток с РМЖ отнесли к группе с неблагоприятным прогнозом. Частота больных с неблагоприятным прогнозом по показателям сывороточных маркеров IGF-I и IGF-II составила 50 из 257 (19,5%) больных.

При сочетании следующих уровней сывороточных маркеров IGF-I<100 нг/мл и IGF-II≥2,7 нг/мл у 93% больных РМЖ T1-2N0M0 стадий рецидив опухоли развился в первые 3 года от начала лечения.

Напротив, лучшие результаты лечения отмечены в группе из 30 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с благоприятными значениями обоих маркеров. Так, например, показатель 10-летней безрецидивной выживаемости в этой группе больных равнялся 81,5±11,9%. Частота больных РМЖ с благоприятным

прогнозом по уровню сывороточных маркеров IGF-I и IGF-II составила 30 из 257 (11,7%), то есть каждая 9-я пациентка с T1-2N0M0 стадией РМЖ имела низкий риск развития рецидива опухолевого процесса.

При разнонаправленных значениях сывороточных IGF-I и IGF-II («благоприятный» уровень IGF-I при «неблагоприятном» IGF-II и, наоборот) результаты лечения были в целом сопоставимы.

Таким образом, при измерении сывороточных уровней IGF-I и IGF-II возможно уточнение прогноза безрецидивной выживаемости у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий еще до проведения лечения

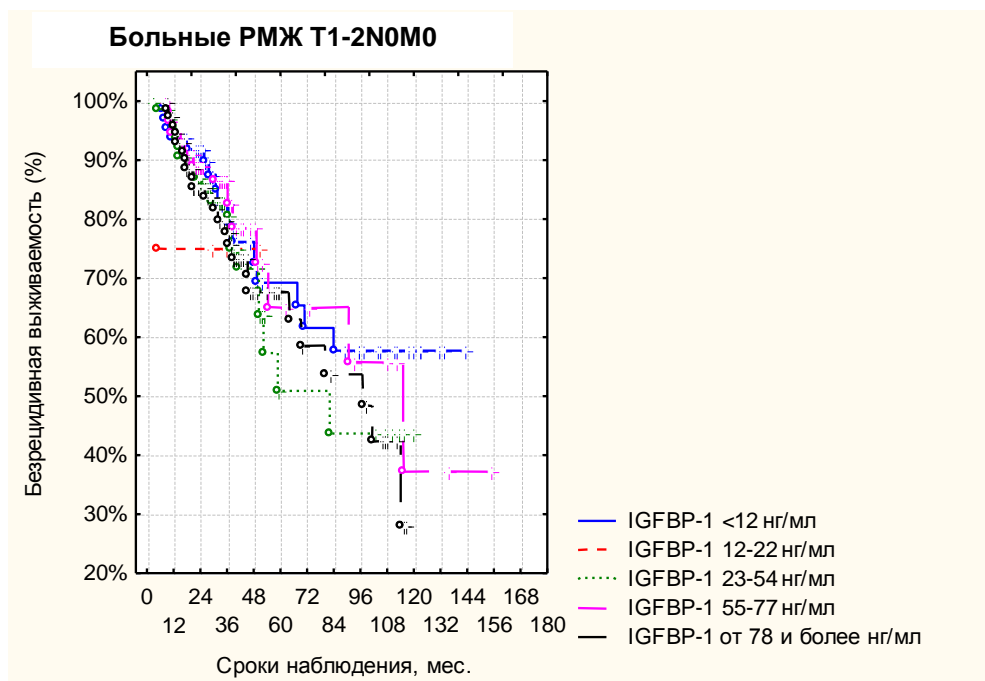
### **5.5 Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом уровней IGFBP-1, определенных в сыворотке крови**

Всех обследованных больных РМЖ T1-2N0M0 стадий разделили на 5 групп в зависимости от исходных значений IGFBP-1 в сыворотке крови:

- 1** — менее порогового уровня маркера в группе контроля (здоровые женщины), равного 12 нг/мл;
- 2** — меньше значений нижней квантили, равные 12-22 нг/мл;
- 3** — меньше медианы, равные 23-54 нг/мл;
- 4** — менее верхней квантили, равные 55-77 нг/мл;
- 5** — в пределах значений верхней квантили, равные 78-99 нг/мл.

Нами не выявлено значимой связи исходных концентраций IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с отдаленными результатами лечения ( $p=0,85$ ; рисунок 35).

Как следует из данных, представленных на рисунке 35, исходные показатели IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий не позволили выделить не только «ранние» (до 2-х лет), но и «поздние» рецидивы опухолевого процесса, развившиеся в сроки наблюдения более 5-ти лет от начала лечения.



**Рисунок 35** — Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом исходных уровней IGFBP-1 в сыворотке крови

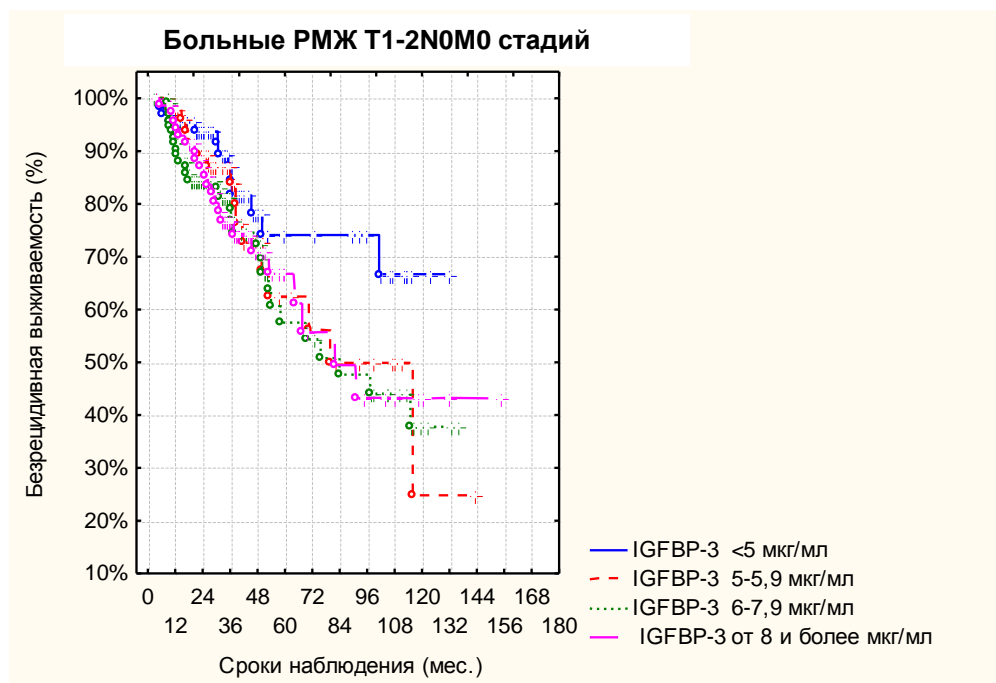
Анализ полученных нами результатов исследования IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий не выявил значимой связи с показателями безрецидивной выживаемости больных. Следовательно, данный маркер IGFBP-1 не обладал прогностической ценностью.

### **5.6 Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом исходных уровней IGFBP-3, определенных в сыворотке крови**

Нами проведен анализ показателей безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом различных значений сывороточного IGFBP-3, исследованных в сыворотке крови до проведения терапии. С учетом уровней IGFBP-3 все пациентки были разделены на 4 группы:

- 1** — менее нижней четверти, равной 5,0 мкг/мл;
- 2** — менее медианы, равные 5,0-5,9 мкг/мл;
- 3** — менее верхней четверти, равные 6,0-7,9 мкг/мл;
- 4** — в пределах верхней четверти, равные 8,0-9,9 мкг/мл.

На основании вышеуказанных показателей IGFBP-3 в 4-х вышеуказанных группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий рассчитали показатели безрецидивной выживаемости. Данные этого раздела исследований представлены на рисунке 36.



**Рисунок 36** — Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом исходных уровней IGFBP-3 в сыворотке крови

Из данных рисунка 36 следует, что прогностическим свойством обладали только исходные значения сывороточного IGFBP-3 менее 5,0 мкг/мл. Однако прогностическая способность исследованного нами маркера IGFBP-3, проявила себя только после 5-летнего периода наблюдения от начала лечения. Следовательно, изученный нами показатель отражал долгосрочный прогноз (поздние рецидивы) у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий.

**Многофакторный анализ** выявления ведущих факторов из 4-х изученных нами биохимических маркеров системы-IGF (IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-3) также показал, что высоко значимыми независимыми факторами прогноза рецидива у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий следует считать исходные (до лечения) уровни сывороточного IGF-I и IGF-II ( $p < 0,0001$ ). Представленные нами данные убедительно доказывают несомненную ценность определения IGF-I и IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в прогнозе развития рецидива.

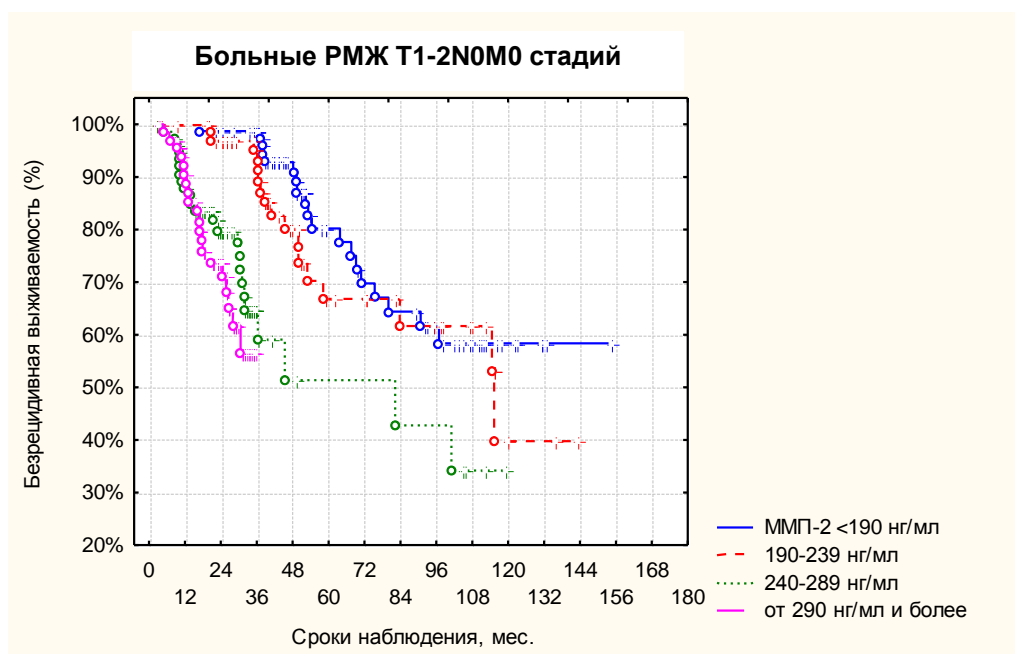
## 5.7 Связь показателя MMP-2 в сыворотке крови и ткани опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с отдаленными результатами лечения

### 5.7.1 Связь показателя MMP-2 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с показателями безрецидивной выживаемости

Нами проведен анализ исходных уровней MMP-2 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с показателями безрецидивной выживаемости. Для проведения этого анализа все больные РМЖ были разделены на 4 группы с учетом исходных сывороточных уровней MMP-2:

- 1 группа — менее 190 нг/мл;
- 2 группа — 190-239 нг/мл;
- 3 группа — 240-289 нг/мл;
- 4 группа — от 290 нг/мл и более.

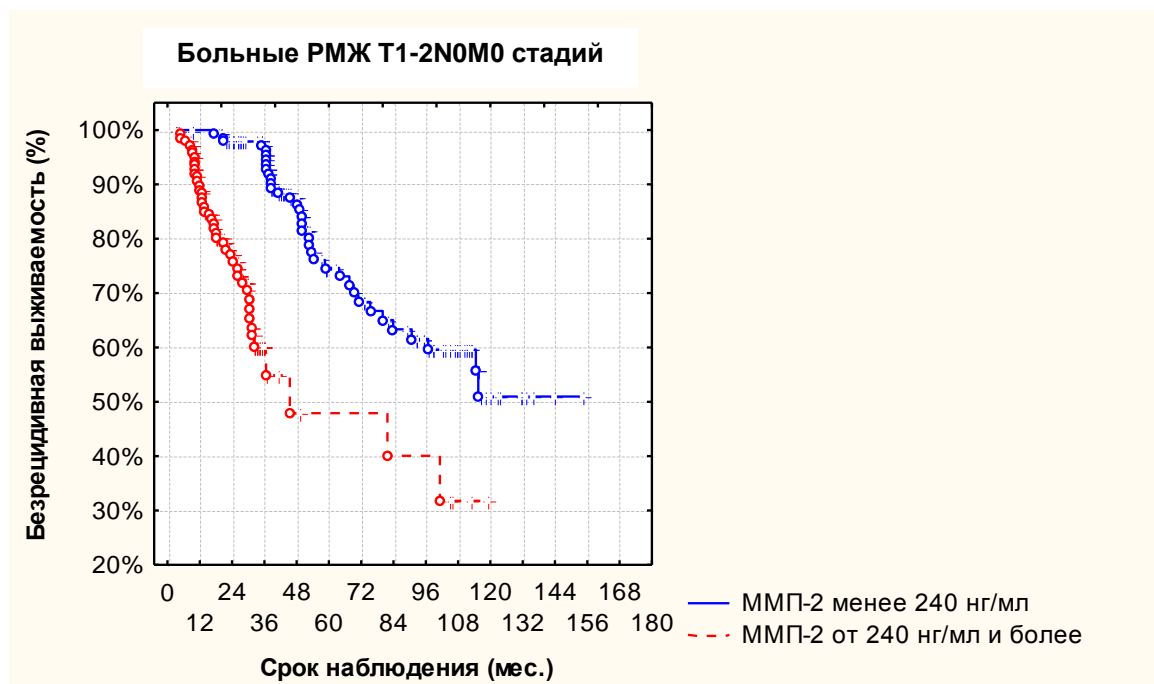
Наилучшие показатели безрецидивной выживаемости выявлены нами в группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с наименьшими значениями сывороточного MMP-2 и, напротив, наихудшие — при наибольших уровнях показателя, различия высокозначимы (рисунок 37).



**Рисунок 37** — Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от уровней MMP-2 в сыворотке крови

Анализ полученных нами результатов не выявил значимых различий в показателях безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий как между 1 и 2 группами, как и между 3 и 4 группами пациенток.

Поэтому в качестве прогностического порогового уровня было принято исходное значение MMP-2 равное медиане содержания MMP-2 в сыворотке крови больных РМЖ (240 нг/мл) (рисунок 38).



**Рисунок 38** — Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом порогового уровня MMP-2 в сыворотке крови, равного 240 нг/мл

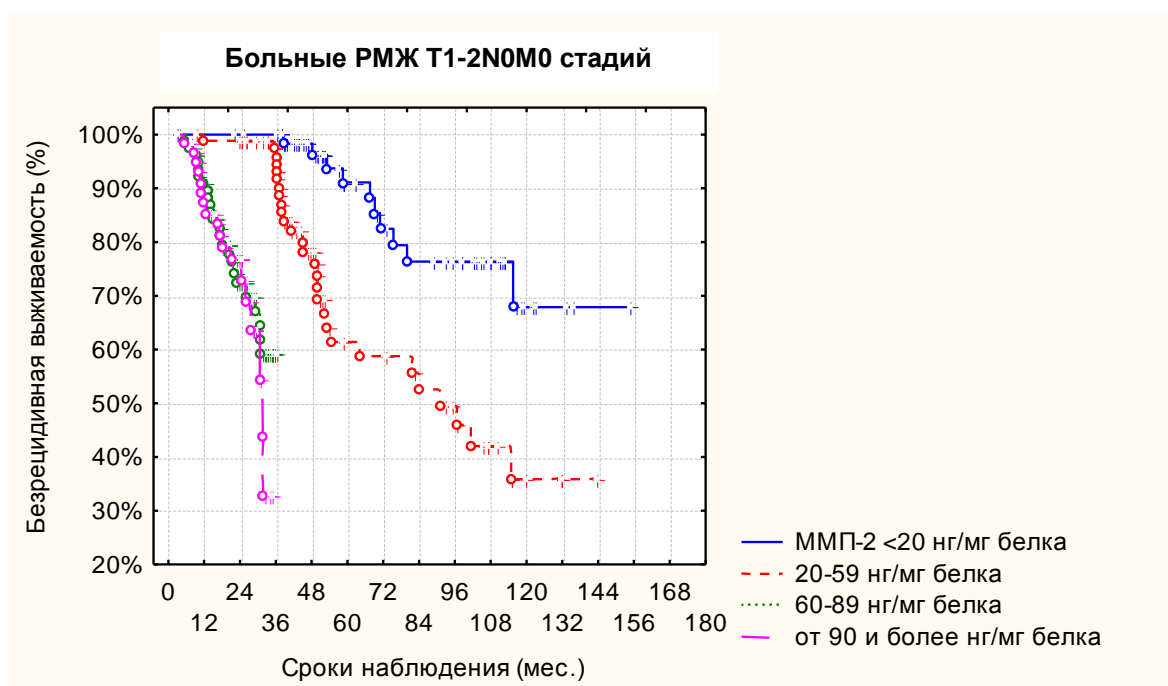
На основании анализа полученных результатов нами сделано заключение, что показатель 5-летней безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий снижался при неблагоприятных высоких исходных уровнях MMP-2 в сыворотке крови на 26,6%.

### 5.7.2 Связь уровней MMP-2 в ткани опухоли с показателями безрецидивной выживаемости у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий

Закономерно предположить, что уровни MMP-2 в ткани опухоли также будут отражать сроки развития рецидива, как и значения этого маркера, измеренные в сыворотке крови.

Для анализа этой зависимости исходные значения MMP-2 в ткани опухоли молочной железы у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий были разделены на 4 группы, ориентируясь на медианы и квартили этого показателя у обследованной нами группы пациенток.

Как следует из данных, представленных на рисунке 39, показатель 3-летней безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий при уровнях маркера менее 60,0 нг/мг белка был очень высоким (97-100%). Однако уже 5-летняя безрецидивная выживаемость при уровнях маркера 20-59 нг/мг белка снижалась на 30%.



**Рисунок 39** — Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом уровней MMP-2 в ткани опухоли



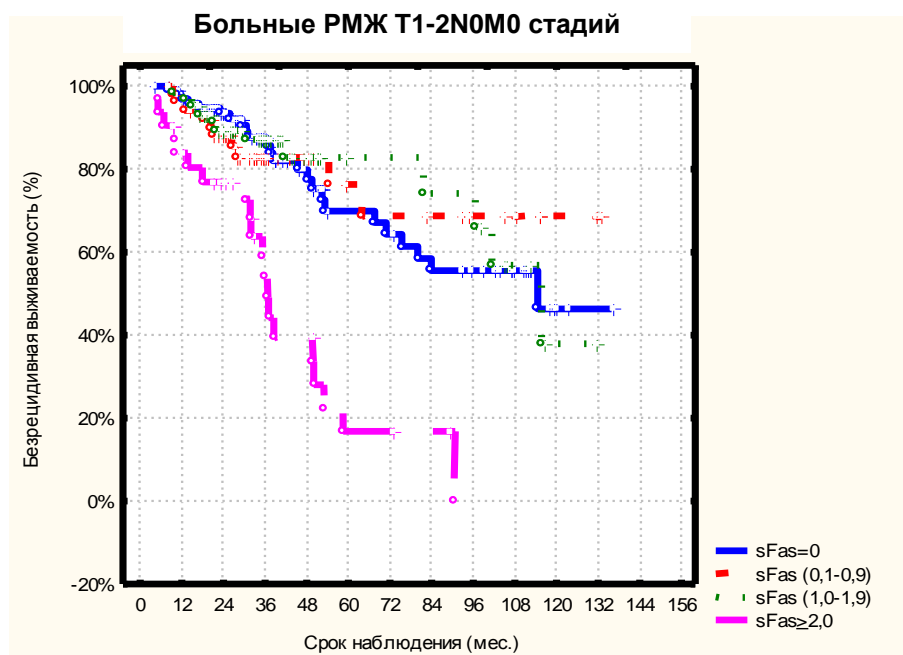
В тоже время, у больных с минимальными значениями MMP-2 в ткани опухоли равными менее 20,0 нг/мг белка показатель безрецидивной выживаемости оставался достаточно высоким —  $61,3 \pm 7,0\%$ .

Однако, анализ проведенных результатов исследования убеждает нас в том, что уровни MMP-2 в первичной опухоли больных РМЖ T1-2N0M0 60,0 нг/мг белка, следует считать прогностически неблагоприятными.

Проведенный **многофакторный анализ** связи отдаленных результатов лечения больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с ведущими клинико- биологическими факторами (биологический подтип опухоли и степень ее злокачественности), а также всех сывороточных маркеров (uPA, MMP-2, IL-6 и IGF-I, IGF-II) показал, что на время появления рецидива более всего влияет подтип опухоли ( $p < 0,0001$ ). Маркеры IGF-I, IGF-II, MMP-2 также можно считать значимыми независимыми факторами прогноза безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий ( $p < 0,01$ ).

### **5.8 Безрецидивная выживаемость больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от уровней sFas в сыворотке крови**

Для исследования связи отдаленных результатов лечения больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с уровнями sFas, определенных в сыворотке крови, больные были разделены на группы: 1) с нулевым содержанием показателя, 2) менее 0,9 нг/мл, 3) 1,0-1,9 нг/мл, 4) значения от 2,0 нг/мл и более. При таком разделении уровней сывороточных sFas установлено, что только значения sFas от 2,0 и более нг/мл следует считать прогностически неблагоприятными, тогда как при меньших значениях показателя безрецидивная выживаемость была сопоставимой (рисунок 40). При этом различия отдаленных результатов проявились к 3-м годам наблюдения после лечения (таблица 68). Следует отметить, что только у 12,9% больных РМЖ T1-2N0M0 стадий выявлены прогностически неблагоприятные уровни sFas  $\geq 2$  нг/мл.



**Рисунок 40** — Безрецидивная выживаемость больных РМЖ Т1-2N0M0 стадий при различных сывороточных уровнях sFas

**Таблица 68** — Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ Т1-2N0M0 стадий с учетом исходных уровней sFas

sFas	N	Медиана срока жизни без рецидива, мес	Безрецидивная выживаемость, %		
			3-летняя	5-летняя	10-летняя
<2 нг/мл	216	115	86,3±2,6	74,0±4,3	48,4±8,0
≥2 нг/мл	32	36,7	63,8±9,4	16,8±8,6	0
P	<0,0001				

Проведенный **многофакторный анализ** связи всех сывороточных маркеров (sFas, uPA, IL-6 и IGF-I, IGF-II) с отдаленными результатами лечения больных РМЖ Т1-2N0M0 стадий показал, что наиболее значимо сроки рецидива определял IGF-I (таблица 69).

Результаты многофакторного анализа связи уровней маркеров с безрецидивной выживаемостью больных РМЖ Т1-2N0M0 стадий представлены в таблице 69.

**Таблица 69** — Результаты многофакторного анализа связи уровней маркеров с безрецидивной выживаемостью больных РМЖ T1-2N0M0 стадий

Маркеры	Вета	P
IGF-I	-0,52±0,1	<0,0001
IGF-II	1,02±0,4	0,007
sFas	0,86±0,3	0,01
IL-6	0,75±0,3	0,01
uPA	0,05±0,3	0,9

Таким образом, у каждой восьмой больной РМЖ T1-2N0M0 стадий выявлено прогностически неблагоприятное значение sFas  $\geq 2,0$  нг/мл с очень высокой вероятностью рецидива в течении 5 лет после лечения (83%).

Проанализировали частоту сочетаний неблагоприятных сывороточных уровней sFas, uPA и IL-6. Так, при благоприятных и неблагоприятных уровнях uPA по порогу 2,8 нг/мл частота выявления неблагоприятных значений sFas  $\geq 2,0$  нг/мл равнялась 6,4% и 34,6%, то есть в 5,4 раза чаще. При благоприятных и неблагоприятных уровнях IL-6 по порогу 2,4 нг/мл частота выявления неблагоприятных значений sFas  $\geq 2,0$  нг/мл равнялась 7,0% и 29,7%, то есть в 4,2 раза чаще. Таким образом, неблагоприятные уровни sFas согласованно чаще выявлялись при неблагоприятных уровнях uPA и IL-6 ( $p < 0,0001$ ).

### **5.9 Связь отдаленных результатов лечения больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в сочетании с некоторыми исследованными сывороточными и тканевыми маркерами**

Нами исследованы 7 сывороточных и 5 тканевых маркеров, неблагоприятные уровни некоторых из них (при индивидуальном однофакторном и многофакторном анализе) были тесно связаны с показателями низкой безрецидивной выживаемости у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий.

Для оценки перспективы их использования в клинической практике нами также была исследована связь показателей безрецидивной выживаемости больных

PMЖ T1-2N0M0 стадий, но при парных сочетаниях неблагоприятных уровней выше изученных сывороточных маркеров, а также частота выявления их сочетаний. Данные этого раздела исследований представлены в таблице 70.

**Таблица 70** — Показатели безрецидивной выживаемости больных PMЖ T1-2N0M0 стадий в группах с различными парными сочетаниями биохимических маркеров

Сочетание маркеров		N	Медиана срока рецидива, мес	Показатели безрецидивной выживаемости, %		
				2-летняя	3-летняя	5-летняя
<b>IGF-I</b> <b>&lt;100</b> нг/мл	<b>IGF-II</b> <b>≥2,8</b> мкг/мл	50	30,6	64,4±7,2	40,1±8,0	28,2±7,8
	<b>MMP-2</b> <b>≥240</b> нг/мл	37	24,6	55,5±8,7	18,9±8,8	—
	<b>uPA</b> <b>≥2,8</b> нг/мг белка	11	30,8	66,3±16,3	49,7±18,8	16,6±14,9
	<b>sFas</b> <b>≥2,0</b> нг/мл	8	31,3	75±15,3	30,0±17,5	0
	<b>IL-6</b> <b>≥2,4</b> нг/мл	16	27,9	64,8±12,9	18,5±11,9	9,3±8,8
<b>IGF-II</b> <b>≥2,8</b> мкг/мл	<b>MMP-2</b> <b>≥240</b> нг/мл	110	40,1	73,6±4,6	54,8±6,5	31,3±10,9
	<b>uPA</b> <b>≥2,8</b> нг/мг белка	51	49,8	83,1±5,5	30,1±10,7	22,6±10,3
	<b>sFas</b> <b>≥2,0</b> нг/мл	24	36,3	77,4±8,9	58,2±11,8	9,1±8,5
	<b>IL-6</b> <b>≥2,4</b> нг/мл	54	39,0	80,4±5,6	60,6±8,3	25,6±9,3

## Окончание таблицы 70

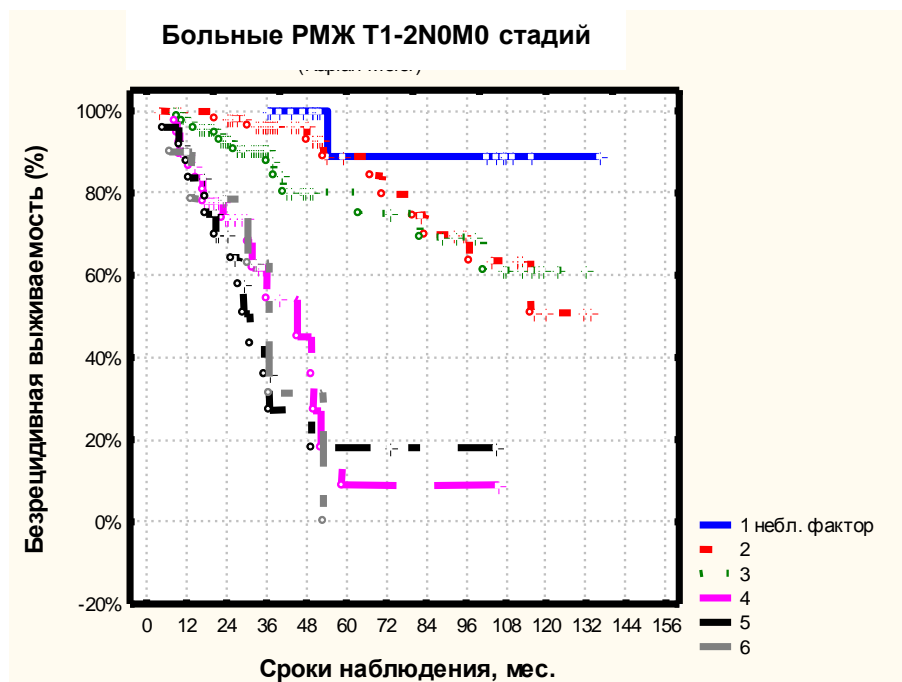
Сочетание маркеров		N	Медиана срока рецидива, мес	Показатели безрецидивной выживаемости, %		
				2-летняя	3-летняя	5-летняя
<b>MMP-2</b> ≥240 нг/мл	<b>uPA</b> ≥2,8 нг/мл	34	Не дост.	73,1±8,3	55,7±12,5	55,7±12,5
	<b>sFas</b> ≥2,0 нг/мл	18	27,1	58,4±12,2	17,5±14,4	–
	<b>IL-6</b> ≥2,4 нг/мл	37	29,9	70,3±8,0	31,8±11,6	21,2±11,6
<b>uPA</b> ≥2,8 нг/мл белка	<b>sFas</b> ≥2,0 нг/мл	20	46,5	79,1±9,4	71,9±10,9	24,0±11,9
	<b>IL-6</b> ≥2,4 нг/мл	35	40,7	75,7±7,5	66,5±9,0	12,3±8,0

Как видно из данных, представленных в таблице 70, вероятность предсказания ранних рецидивов у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий высока при сочетании неблагоприятных исходных (до лечения) концентраций IGF-I и MMP-2, а также MMP-2 в сыворотке крови. Анализ полученных результатов позволил нам выявить тот факт, что показатели 5-летней безрецидивной выживаемости у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий были довольно низкими практически при всех неблагоприятных парных сочетаниях этих маркеров.

Следует отметить, что только у 7,8% больных РМЖ T1-2N0M0 стадий все 5 одновременно измеренных сывороточных маркеров и тканевой uPA по своим исходным уровням были прогностически благоприятными. Отметим, что наиболее частым было сочетание неблагоприятных уровней IGF-I и MMP-2 (38 из 230, 18,5%), а также неблагоприятный низкий IGF-I при 5 других благоприятных маркерах (41 из 230, 17,8%).

У остальных 92,2% пациенток какой-либо один из вышеуказанных 6 маркеров либо сразу несколько из них были в области прогностически неблагоприятных значений.

Проведен анализ показателей безрецидивной выживаемости в группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с различным сочетанием изученных неблагоприятных маркеров, измеренных одновременно в сыворотке крови, результаты этого анализа представлены на рисунке 41.



**Рисунок 41** — Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в зависимости от количества неблагоприятных биохимических маркеров, измеренных в сыворотке крови

Так, наилучшие показатели 5- и 10-летней безрецидивной выживаемости, равные  $88,9 \pm 10,5\%$  выявлены в группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, у которых все 6 изученных маркеров имели соответствующие «благоприятные» значения (группа с наиболее благоприятным прогнозом заболевания и низкой вероятностью развития раннего рецидива).

Показатель 5-летней безрецидивной выживаемости у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в группе больных с каким-либо 1-м неблагоприятным уровнем маркера практически не отличался от такового в предыдущей группе ( $88,8 \pm 5,7\%$ ).

Показатель 5-летней безрецидивной выживаемости у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с двумя какими-либо неблагоприятными уровнями маркеров

был также достаточно высоким ( $80,2 \pm 6,6\%$ ), и этих пациенток также можно отнести к группе с благоприятным 5-летним прогнозом (таблица 71).

**Таблица 71** — Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ с учетом количества неблагоприятных биохимических маркеров в сыворотке крови

Количество неблагоприятных сывороточных маркеров	N	Медиана срока рецидива, мес	Показатели безрецидивной выживаемости, %			
			2-летняя	3-летняя	5-летняя	10-летняя
0	18	–	100	100	$88,9 \pm 10,5$	$88,9 \pm 10,5$
1	59	–	$98,2 \pm 1,8$	$96,2 \pm 2,6$	$88,8 \pm 5,7$	$50,7 \pm 14,2$
2	79	–	$92,8 \pm 3,1$	$90,9 \pm 3,6$	$80,2 \pm 6,6$	$61,4 \pm 11,0$
3 и более	73	35,7	$73,5 \pm 5,4$	$51,7 \pm 7,6$	$12,2 \pm 6,4$	–

Практически одинаковые низкие показатели безрецидивной выживаемости обнаружены в группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с 3-мя и более «неблагоприятными» уровнями маркеров одновременно (группа с неблагоприятным прогнозом относительно развития рецидива).

Таким образом, нами сделан вывод о том, что только сочетание неблагоприятных уровней 3-х маркеров приводило к существенному повышению риска развития раннего рецидива заболевания у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий. Эти данные показывают, что для уточнения прогноза желательно проведение комплексного измерения биохимических маркеров.

### **5.10 Показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий при различных биологических подтипах опухолей и уровнях биохимических маркеров**

Анализ полученных результатов показал, что в группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с подтипом «люминальный А» рак неблагоприятные уровни тканевого uPA и сывороточного IL-6 существенно снижали показатели 5-летней безрецидивной выживаемости (таблица 72).

**Таблица 72** — Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с подтипом «люминальный А» и различным уровнем сывороточных и тканевых маркеров

Уровень маркера	Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости, %				
	IGF-I	IGF-II	uPA	IL-6	MMP-2
Благоприятный	82,5±5,4	86,5±8,9	94,6±3,7	92,2±4,3	84,8±5,0
Неблагоприятный	100	83,4±5,8	41,5±15,7	46,9±16,8	96,0±21
P	>0,05	>0,05	0,0001	0,0001	>0,05

**Таблица 73** — Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости больных РМЖ с подтипом «Люминальный В Her2-» и различным уровнем сывороточных и тканевых маркеров

Уровень маркера	Показатель 5-летней безрецидивной выживаемости, %				
	IGF-I	IGF-II	uPA	IL-6	MMP-2
Благоприятный	70,8±12,3	84,4±10,2	68,9±11,7	73,9±11,1	69,7±11,9
Неблагоприятный	26,1±20,1	53,3±12,8	*	*	63,0±12,3
P	0,06	0,3			>0,05
<b>Примечание:</b> *небольшое число наблюдений					

Как следует из полученных нами данных, приведенных в таблице 73, неблагоприятные уровни сывороточных маркеров IGF-I и IGF-II могут быть тесно связаны с низкими показателями безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с подтипом «Люминальный В Her2-».

В связи с небольшим числом наблюдений и заметно худшими показателями безрецидивной выживаемости прочие биологические подтипы РМЖ были объединены в одну группу, в которой также проведен анализ связи показателей безрецидивной выживаемости с уровнями сывороточных и тканевых маркеров (таблица 74).



**Таблица 74** — Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с подтипами «ЭР+, ПР-, Her2-», «Люминальный В Her2-neu+», «Тройной негативный», «Her2-neu+» и различными уровнями сывороточных и тканевых маркеров

Уровень маркера	Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости, %				
	IGF-I	IGF-II	uPA	IL-6	MMP-2
Благоприятный	48,7±9,3	42,0±29,9	54,0±10,0	60,0±12,1	54,6±12,3
Неблагоприятный	18,3±14,0	40,8±8,1	31,9±16,9	22,6±10,6	31,1±11,1
P	0,01	>0,05	0,5	0,08	0,0001

Анализ результатов исследования, представленных в таблице 74, показал, что при неблагоприятных биологических вариантах РМЖ в качестве дополнительных маркеров, характеризующих биологическую агрессивность опухолевого процесса (а в клинике — для прогноза раннего рецидива болезни) полезными могут оказаться некоторые тканевые и сывороточные маркеры и, в частности, IGF-I, IL-6, MMP-2.

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

Нами проведен анализ уровней изученных сывороточных и тканевых маркеров с показателями безрецидивной выживаемости в нескольких группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом виде проводимого лечения.

а) В группе из 46 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, получивших **только хирургическое** вмешательство, показатель 10-летней безрецидивной выживаемости равнялся 62,0±10,4%.

При анализе связи показателей безрецидивной выживаемости пациенток этой группы больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с учетом уровня сывороточных маркеров системы IGF нами была выявлена следующая особенность. Так, обнаружены значимые различия в показателях 3-летней безрецидивной

выживаемости между группами больных с «низкими» и «высокими» уровнями IGF-I относительно его порогового показателя равного 100 нг/мл в 32% (таблица 75).

**Таблица 75** — 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 (p=0,03)</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 (p=0,1)</b>					
<2,0	–	100	100	100	–
≥2,0	–	86,1±6,5	81,3±7,7	60,0±12,2	60,0±12,2

Напротив, у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий 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) и проявились эти различия только после 5 лет от начала лечения пациенток (таблица 75).

В выделенной нами группе из 11 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с биологическим подтипом «люминальный А» рак показатели 10-летней безрецидивной выживаемости были на уровне 83,3±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 из 26 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с низкими исходными значениями MMP-2 в сыворотке крови <240 нг/мл равнялась 72,3±11,2%. В группе из 20 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с высокими уровнями этого маркера (≥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 ( $p=0,02$ ).

Одновременно тканевые уровни uPA и сывороточные уровни IL-6 были изучены у 21 больной РМЖ T1-2N0M0 стадий, получивших только хирургическое лечение. При этом, показатели 5-летней безрецидивной выживаемости при одновременно «низких» и «высоких» уровнях выше указанных маркеров составили  $74,4 \pm 9,4\%$  и  $0\%$ .

Таким образом, анализ биохимических маркеров у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий убеждает нас в том, что у пациенток, получивших только хирургическое лечение, прогноз заболевания неоднозначный и тесно связан не только с ключевыми клинико-морфологическими характеристиками опухолей, но и биологическим подтипом рака, а также неблагоприятными исходными уровнями биохимических маркеров в сыворотке крови.

б) В группе из 23 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, которым проводили **хирургическое удаление первичной опухоли, лучевую терапию и гормонотерапию**, достигнуты наилучшие отдаленные результаты. Так, показатель 3-летней безрецидивной выживаемости составил  $90,5 \pm 6,4\%$ , а показатель 10-летней безрецидивной выживаемости равнялся  $80,8 \pm 11,1\%$ . Неблагоприятные тканевые уровни uPA, как и сывороточные уровни IL-6 незначимо были связаны со снижением результатов лечения — только на 10%. Неблагоприятные исходные уровни сывороточного MMP-2 у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий также незначимо были связаны со снижением менее, чем на 5% показателя 5-летней безрецидивной выживаемости.

У больных этой группы связи показателей безрецидивной выживаемости с исходными значениями IGF-I в сыворотке крови нами не установлено ( $p=0,8$ ). В тоже 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  $77,8 \pm 15,2\%$ .

Таким образом, анализ показателей безрецидивной выживаемости больных РМЖ данной группы показал, что при данном виде терапии все изученные нами сывороточные маркеры не были связаны с результатом проведенного лечения, а стало быть, и с заметным ухудшением отдаленных результатов при неблагоприятных уровнях этих маркеров.

в) Группа из 90 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с проведенным лучевым и хирургическим лечением характеризовалась медианой срока жизни без рецидива равного 79,3 месяца, показателями 5-летней выживаемости —  $56,5 \pm 7,4\%$  и 10-летней —  $48,7 \pm 8,2\%$ .

Следует отметить, что показатели 5-летней безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий 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 ( $p < 0,0001$ ).

Одновременно уровни тканевого uPA и сывороточного IL-6 были изучены нами у 77 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, получивших хирургическое и лучевое лечение. Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости в этой группе пациенток при одновременно: 1) «низких», 2) рассогласованных и 3) одновременно «высоких» уровнях выше указанных маркеров составили  $68,8 \pm 8,9\%$ ;  $44,1 \pm 16,8\%$ ;  $14,3 \pm 13,3\%$ . Эти данные свидетельствуют о том, что показатели 5-летней безрецидивной выживаемости заметно снижались.

Следует отметить, что показатели безрецидивной выживаемости значительно различались между пациентками этой группы с исходно «низкими» и «высокими» уровнями IGF-I (на 40-45% после 3-х лет наблюдения) (таблица 76).

Значимые различия выявлены также и в группах больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с различными исходными значениями IGF-II в сыворотке крови. Так, показатель 10-летней безрецидивной выживаемости при благоприятных «низких» значениях маркера IGF-II ( $< 2,0$  мкг/мл) достигал 81,2%, но заметно снижался при неблагоприятных «высоких» ( $\geq 2,0$  мкг/мл) его уровнях на 43% (таблица 76).

**Таблица 76** — 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

Аналогичные значимые результаты отмечены нами и при анализе исходных уровней MMP-2 в сыворотке крови — менее и более 240 нг/мл (p=0,0001). Так, при «высоких» значениях маркера MMP-2 рецидивы болезни отмечены у половины больных, а показатель 3-летней безрецидивной выживаемости составил 46,8±9,5%. При этом, медиана длительности безрецидивного периода у этих пациенток равнялась 30,7 месяца. В тоже 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 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий (лучевая терапия и хирургическое удаление опухоли) более успешно, имеет благоприятный клинический прогноз относительно раннего развития рецидива опухолевого процесса, но при условии выявления у пациенток этой группы благоприятных значений сывороточных маркеров системы IGF (IGF-I, IGF-II) и MMP-2.

г) В группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, которым проводили комбинированное лечение: хирургическое удаление опухоли и химиотерапия по схеме CMF, медиана срока жизни равнялась 45,2 месяца. Показатель 5-летней

безрецидивной выживаемости составил  $49,1 \pm 19,2\%$ . Различия в показателях 5-летней безрецидивной выживаемости между больными с «высоким» и «низким» исходным содержанием IGF-I, IGF-II составили около 5%. «Высокие» значения тканевого маркера uPA и сывороточного IL-6 в этой группе больных отсутствовали, и сравнение выживаемости по этим маркерам в этой группе не проводили.

Различия в показателях 3-летней безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий отмечены нами при «низких» и «высоких» значениях MMP-2, эти различия составили около 40% ( $100\%$  и  $60 \pm 21,9\%$  соответственно).

д) Проведен анализ опухолевых маркеров в группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий ( $n=19$ ), которым проведено комбинированное лечение (хирургическое удаление опухоли и химиотерапия антрациклинами). Медиана длительности безрецидивного периода жизни у данной группы пациенток равнялась 45,2 месяца, а показатель 5-летней безрецидивной выживаемости составил  $65,1 \pm 13,6\%$ .

Различия в показателях 5-летней безрецидивной выживаемости у 16 пациенток с различными сочетаниями тканевых уровней uPA и сывороточных значений IL-6 не превышали 15%. В связи с недостаточным числом наблюдений с измеренными уровнями IGF в этой группе больных сравнение показателей безрецидивной выживаемости не проводили. Нами отмечены различия в показателях 5-летней безрецидивной выживаемости у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий при «низких» и «высоких» исходных сывороточных значениях MMP-2, которые составили около 35%.

е) Анализ уровней сывороточных и тканевых маркеров проведен нами у 43 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, которым выполнено хирургическое удаление опухоли и гормонотерапия. Показатель 5-летней безрецидивной выживаемости в этой группе пациенток составил  $52,7 \pm 22,6\%$ .

Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости составили в группе больных с одновременно неблагоприятными уровнями менее 3-х маркеров и более 3-х маркеров  $47,6 \pm 33,8\%$  и  $0\%$  соответственно ( $p=0,01$ ).

При этом, в группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с «низкими» значениями тканевого маркера uPA и сывороточного IL-6 показатель 5-летней безрецидивной выживаемости составил  $63,8 \pm 26,2\%$ , а с рассогласованными (разнонаправленными уровнями этих маркеров) он равнялся  $50,0 \pm 35,4\%$ , с «высокими» значения маркеров uPA и IL-6 он был равен 0%. Нами не установлено различий в показателях безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий при «низких» и «высоких» исходных значениях MMP-2 в сыворотке крови при 3-летнем сроке наблюдения.

Показатель 3-летней безрецидивной выживаемости был хуже на 33,0% при «низких» исходных концентрациях IGF-I в сыворотке крови относительно «высоких» значений маркера (таблица 77).

Следует указать, что большую значимость в оценке прогноза рецидива опухоли у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий при этом виде комбинированного лечения (хирургическое удаление опухоли 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 77).

**Таблица 77** — 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 (p=0,04)</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 (p=0,01)</b>					
<2,0	–	100	100	100	–
$\geq 2,0$	43,9	$92,0 \pm 5,4$	$82,8 \pm 10,0$	$36,2 \pm 26,4$	–

ж) В группе 17 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий было проведено комплексное лечение (хирургическое удаление опухоли, химиотерапия по схеме 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 78).

**Таблица 78** — 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	–	$85,7 \pm 13,2$	$85,7 \pm 13,2$	$51,4 \pm 20,4$	–
$\geq 100$	85,0	$88,9 \pm 10,5$	$88,9 \pm 10,5$	$88,9 \pm 10,5$	–
<b>IGF-II, мкг/мл (p=0,14)</b>					
<2,0	–	$85,7 \pm 13,2$	$85,7 \pm 13,2$	$85,7 \pm 13,2$	–
$\geq 2,0$	36,6	$75,0 \pm 15,3$	$75,0 \pm 15,3$	$49,6 \pm 22,8$	–

Анализ уровней исследованных маркеров в данной группе пациенток выявил, что при «низких» значениях тканевого uPA и сывороточного IL-6 показатель 5-летней безрецидивной выживаемости больных РМЖ T1-2N0M0 стадий составил 100%, при прочих —  $53,3 \pm 24,8\%$ .

Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости в этой группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий при неблагоприятных исходных уровнях IGF-I и IGF-II в сыворотке крови были незначимо ниже на 35% (таблица 78).

з) В группе 36 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий проведено комплексное лечение: хирургическое удаление опухоли, химиотерапия антрациклинами, лучевая терапия. Анализ отдаленных результатов лечения выявил, что медиана



длительности безрецидивного периода заболевания составила 77,2 месяцев, показатели 2-, 5- и 10-летней безрецидивной выживаемости составили соответственно  $85,4 \pm 6,0\%$ ,  $65,3 \pm 10,0\%$  и  $15,3 \pm 12,4\%$ .

Подводя итоги данного раздела исследований, отметим, что возможности ретроспективного анализа отдаленных результатов при различных схемах лечения у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий могут быть ограничены как количеством наблюдений в сопоставляемых группах, так и однородностью групп по важным клиническим, морфологическим и биологическим факторам, тесно связанным и влияющим на показатели безрецидивной выживаемости пациенток.

Тем не менее, анализ отдаленных результатов лечения больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, проведенный в настоящем исследовании, позволил нам выявить следующие наиболее важные закономерности. Так, наилучшие показатели безрецидивной выживаемости больных РМЖ, отмечены в группе: подвергнутых комбинированному хирургическому, лучевому и гормональному лечению. Показатель 10-летней безрецидивной выживаемости при данном объеме терапии составила  $79,2 \pm 12,0\%$ .

При этом, при благоприятных «низких» исходных значениях IGF-II в сыворотке крови показатель 10-летней безрецидивной выживаемости больных РМЖ этой группы достигал 100%.

Количество наблюдений с различными сочетаниями тканевого опухолевого маркера uPA и сывороточного провоспалительного цитокина IL-6 в сравниваемых группах с различным лечением было невелико. Однако при неблагоприятных «высоких» уровнях тканевого uPA и сывороточного IL-6, нами отмечена худшая безрецидивная выживаемость.

Удовлетворительные отдаленные 5-летние результаты лечения отмечены в группе больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, которым выполнили только хирургическое удаление опухоли при благоприятных «низких» уровнях тканевого uPA и сывороточного IL-6 ( $74,4 \pm 9,4\%$ ), а при благоприятных «низких» исходных значениях IGF-II в сыворотке крови пациенток, показатель 5-летней безрецидивной выживаемости этих больных достигал 100%.

Таким образом, полученные нами данные биохимических исследований 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 опухоли, (IL-6, MMP-2, IGF-I, IGF-II) — в сыворотке крови. При этом, исходные сывороточные уровни IGF-I преимущественно указывали на прогноз раннего рецидива опухолевого процесса, а уровни IGF-II в большей степени уточняли прогноз 5- и 10-летней безрецидивной выживаемости у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий.

Дальнейшее накопление данных с использованием биохимических маркеров позволит не только уточнить прогноз заболевания, но и оптимизировать объем и вид лечебных мероприятий при мониторинге и лечении больных РМЖ T1-2N0M0 стадий.

**ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ**

РМЖ лидирует в структуре смертности от рака среди женского населения России. Это подтверждают данные GLOBOCAN: в 2012 году от РМЖ умерло 24544 женщины. При этом, наиболее объективным статистическим показателем считают соотношение числа умерших от РМЖ на каждые 100 вновь выявленных случаев РМЖ. В России этот показатель равен 43 из 100 больных РМЖ [GLOBOGAN 2012; www].

Следует отметить, что актуальность проблемы РМЖ в России заключается в постоянном росте заболеваемости в течение последних трех десятилетий. Причем за последнее 10-летие отмечено ее увеличение на 19,9% [1; 33]. При этом, число больных РМЖ, выявленных в России в начальных стадиях, когда возможно оказать наиболее эффективную помощь этим пациенткам, крайне низкое и составляет всего 21,4%. Причины этого, прежде всего, связаны с отсутствием национальной программы ранней диагностики заболевания. И хотя, за последние два года отмечена тенденция к снижению показателя смертности от РМЖ до 15,9 на 100000 населения, объяснением этого факта служат результаты эффективного лечения заболевания [1; 33].

При этом, успех лечения и экономический выигрыш (снижение стоимости и быстрый период реабилитации) как в России, так и в других экономически развитых странах, имеют только начальные стадии РМЖ [225; 373; 375].

В нашей стране РМЖ начальных стадий T1-2N0M0 недостаточно хорошо изучен, прежде всего, ввиду небольшого числа пациенток с малыми опухолями в общей структуре заболеваемости (доля I стадии РМЖ в нашей стране составляет всего 21,4%). Оценка эффективности предоперационных методов верификации диагноза, значимости различных видов локального и системного лечения при малых опухолях, а главное, анализ биологических и прогностических факторов при РМЖ начальных стадий в отечественной литературе не представлены на достаточном клиническом материале. Так, например, для сравнения, в странах с

длительно существующими программами скрининга РМЖ (США, Нидерланды, Великобритания) доля неинвазивного рака и I стадии РМЖ достигает 60-80%. Вместе с тем, гетерогенность малых опухолей, их биологические особенности, а следовательно, и прогностические факторы, практически также недостаточно изучены.

В большинство крупных рандомизированных и популяционных исследований включают пациенток с I-II и даже III стадией РМЖ, это безусловно затрудняет интерпретацию полученных результатов исследований ввиду разнородности анализируемой когорты, включающей как пациенток с карциномами и негативным статусом регионарных лимфоузлов, так и женщин с крупными размерами опухолей и наличием метастатического поражения регионарных лимфоколлекторов. Вместе с тем, современное представление о биологической гетерогенности РМЖ основывается на анализе биологических подтипов опухоли, которые недостаточно изучены при РМЖ T1-2N0M0 стадиях. В России практически не оценивали структуру биологических подтипов и прогностическую роль биохимических, молекулярно-биологических маркеров инвазии, неоангиогенеза, апоптоза и метастазирования РМЖ в T1-2N0M0 стадиях.

В зарубежной литературе имеются единичные сообщения о более благоприятном течении болезни и высоких показателях выживаемости при опухолях размером T1a, а вместе с тем вопросы, как изменяются биологические характеристики опухоли с увеличением ее размера, как это отражается на прогнозе заболевания и выборе лечебной стратегии при РМЖ T1-2N0M0 стадий, остаются недостаточно изученными. Однако отмечены удовлетворительные показатели отдаленной выживаемости этих пациенток и вместе с тем, показано, что клиническое течение заболевания связано с высокими показателями рецидивирования и смертности даже при T1N0M0 стадии РМЖ [170].

Кроме того, среди российских авторов не представлено исследований по изучению клинической значимости ключевых маркеров сигнального пути системы-IGF, их связи с основными клинико-морфологическими характеристиками и прогнозом у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий.

Также остается недостаточно изученной проблема изменения биологического поведения опухоли при прогрессировании болезни, а именно, при увеличении ее размера, стадии процесса, и конечно большой интерес представляет анализ связи маркеров системы-IGF с клиническим течением заболевания и прогнозом РМЖ T1-2N0M0 стадий. Вместе с тем, в литературе уже представлены единичные работы по лабораторным исследованиям, в которых показано, что именно биологические характеристики опухоли и ее метастазов определяют клиническое течение и прогноз РМЖ [310; 330]. Это подтверждают исследования по выделению гетерогенных подгрупп пациенток в современной классификации биологических подтипов РМЖ и выработки лечебной стратегии.

Однако, биологическая разнородность РМЖ с T1-2N0M0 стадиями опухолевого процесса изучена недостаточно не только в России, но и в других зарубежных странах. В основном в исследования включаются больные РМЖ с I-III стадиями, и редко выделяется группа пациенток с небольшими локальными опухолями, что затрудняет анализ истинной значимости ряда опухолевых тканевых и сывороточных маркеров. Кроме того, метастатический потенциал и агрессивность некоторых биологических подтипов РМЖ, например, HER2-позитивного и «тройного негативного», проявляется уже при микрокарциномах и это настоятельно требует индивидуального лечебного подхода [214; 253; 330; 340].

В качестве примера, следует указать, что число опухолей с HER2+ подтипами РМЖ при I стадии (10-12%) свидетельствуют о высокой агрессии заболевания, ранних рецидивах и низких показателях отдаленной выживаемости, даже при, казалось бы, благоприятной клинической ситуации [147; 330; 340; 351]. При этом необходимо помнить о популяционной гетерогенности РМЖ. Например, для жителей стран Азии характерно большее число люминального B и HER2+ РМЖ [147; 297; 307; 349]. Это необходимо также учитывать при разработке национальных рекомендаций по диагностике и лечению РМЖ T1-2N0M0 стадий.

Важным и наиболее перспективным направлением исследований в современной клинической онкологии большинство ученых считают проблему своевременной или так называемой «ранней» диагностики злокачественных опухолей, в том числе и РМЖ. Это показали исследования опухолей у больных РМЖ с начальными стадиями заболевания с помощью молекулярно-биологических и генетических маркеров в ткани новообразования и сыворотке крови и, в частности, рецепторов Her2-неу, «тройного негативного» подтипа РМЖ [214]. При этом, научные исследования последних лет доказали прогностическую роль некоторых биохимических и молекулярно-генетических маркеров в оценке биологического поведения опухоли и ее метастатического потенциала. Значимость данного направления исследований подтверждена также рядом крупных рандомизированных исследований [154; 256]. Однако, результаты этих исследований немногочисленны и проведены для пациенток РМЖ I-III стадий, что затрудняет оценку истинной прогностической значимости ряда маркеров при РМЖ T1-2N0M0 стадий [69].

Поэтому анализ опухолей молочных желез с использованием современных высокочувствительных тканевых и сывороточных маркеров позволит выявить комплекс молекулярно-биологических показателей в диагностике T1-2N0M0 стадий РМЖ, а также оценить возможный риск возникновения раннего рецидива болезни и ее прогрессирования с целью оптимизации лечебной стратегии у данной категории пациенток.

В настоящем исследовании представлены данные по изучению одной из важнейших сигнальных систем (системы-IGF), а именно, ее ключевых маркеров (лигандов IGF-I, IGF-II и их связывающих белков в сыворотке крови — IGFBP-1, IGFBP-3) в диагностике, прогрессировании опухолевого процесса и предсказании развития раннего рецидива болезни среди больных РМЖ T1-2N0M0 стадий. Также в настоящей работе проведен многофакторный анализ связи маркеров системы-IGF с рядом тканевых и сывороточных биологических маркеров пролиферативной, инвазивной и метастатической активности опухоли.

Выбор изучения системы-IGF, а именно, комплекса вышеуказанных молекулярно-биологических маркеров у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий не случаен и имеет достаточно убедительную и обоснованную фундаментальную базу исследований [41; 47; 81; 176; 295]. Это подтверждено результатами последних экспериментальных, эпидемиологических и клинических исследований системы-IGF, которые свидетельствуют о ее важной роли в развитии злокачественных опухолей. При этом, гиперэкспрессия IGF и их рецепторов обеспечивает один из ключевых признаков злокачественной опухоли — неконтролируемую пролиферацию [195]. Кроме того, выбор для изучения вышеуказанных IGFBP системы-IGF вызван тем, что они обладают как активирующими, так и ингибирующими эффектами на их лиганды (IGF-I и IGF-II). Несмотря на то, что роль IGF и IGFBP в возникновении и прогрессии РМЖ неоднозначна, лиганды системы-IGF, связываясь со своими рецепторами на мембране опухолевых клеток влияют на ряд биологических процессов, таких как рост, пролиферация, инвазивная активность, неоангиогенез и апоптоз. По данным зарубежной литературы роль лигандов IGF-I и IGF-II как факторов риска РМЖ также неоднозначна. Что же касается роли лигандов IGF и IGFBP в диагностике и оценке прогноза развития раннего рецидива болезни при РМЖ T1-2N0M0 стадий, то эта проблема изучена недостаточно как в России, так и за рубежом.

В настоящей работе, представлены результаты проведенного иммуноферментного исследования ключевых компонентов системы-IGF, двух ее лигандов (IGF-I, IGF-II), и белков транспортирующих лиганды к тканям-мишеням (IGFBP-1, IGFBP-3) в сыворотке крови 293 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий: у 93 (31,7%) пациенток установлена T1N0M0 стадия заболевания, у 200 (68,3%) — T2N0M0 стадия (более подробные данные о пациентках и их заболевании представлены в главе 2 «Материалы и методы исследования»). У всех обследованных больных диагноз РМЖ был подтвержденным данными гистологического исследования опухоли согласно «Современной гистологической классификации опухолей молочных желез» (ВОЗ, 2013 год).

Наряду с компонентами системы-IGF, исследовали биологические маркеры в сыворотке крови MMP-2, IL-6 и опухоли MMP-2, uPA, PЭ, РП, Her-2, Ki-67, которые зарекомендовали себя как факторы, характеризующие биологическую гетерогенность опухоли, могут быть связаны с ее инвазивным и метастатическим потенциалом, имеют прогностическую значимость в предсказании возможного рецидива, и в выборе наиболее целенаправленной и эффективной лекарственной терапии. Все вышеуказанные маркеры наряду с основными клинико-морфологическими характеристиками РМЖ используют в течении последнего десятилетия в практической онкологии.

Кроме того, одной из важнейших причин для исследования роли компонентов сигнальной системы-IGF при РМЖ является возможность использования целенаправленных («таргетных») ингибиторов для подавления ее активности [103; 120; 371].

Остановимся на основных разделах проведенного исследования, которые имеют наиболее важное научное и практическое значение.

На основании результатов обследования больных РМЖ T1-2N0M0, нами установлено, что эти новообразования представляют гетерогенное заболевание с биологическими особенностями. Диагностируется преимущественно 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 в T2N0M0 стадии, с преобладанием умеренно и низкодифференцированных опухолей (81,6%), и по данным морфологического исследования опухолей, представляют протоковый инфильтративный рак в 43,8% наблюдений. Это подтверждают работы И.В. Колядиной (2015) [35] и W.J. Jr. Irvin et al. (2008) [214].

Одной из основных задач настоящей работы была характеристика и выявление возможной роли комплексного исследования биологических сывороточных маркеров системы-IGF (IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-3) у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий в диагностике и предсказании раннего рецидива заболевания с учетом основных клинико-морфологических характеристик опухолевого процесса.



Нами выявлено, что исходные (до лечения) уровни IGF-I в сыворотке крови общей группы больных РМЖ (T1-2N0M0 стадий) были значимо ниже, чем у здоровых женщин (группа контроля). Этот маркер не отражал стадию опухолевого процесса, степень злокачественности и гистологическое строение опухоли, а также не обладал теми показателями чувствительности и специфичности, которые приемлемы для диагностики РМЖ T1-2N0M0 стадий.

Не все исследователи подтверждают представленные нами результаты. Некоторые авторы, наоборот, выявили повышенные уровни IGF-I в сыворотке крови больных РМЖ [223]. Так например, по данным некоторых исследований, уровни циркулирующих IGF-I, по-видимому, не имеют однозначной ассоциации с риском РМЖ у женщин в пременопаузе, и более важны для женщин в постменопаузе [99; 226; 305; 308; 321].

Кроме того, полагают, что роль IGF-I как фактора риска РМЖ может зависеть от возраста больных. По мнению H.Johansson et al. (2004), повышенный сывороточный уровень IGF-I является независимым фактором риска РМЖ у женщин в пременопаузе и при высоком уровне маркера канцерогенез в молочной железе выявлялся у женщин в пременопаузе в 2,33 раза чаще, чем при низком уровне этого лиганда [223]. Однако другие исследователи полагают, что исходные уровни IGF-I наряду с IGFBP-1 и IGFBP-3 не имеют однозначной ассоциации с риском РМЖ у женщин в пременопаузе, и более важны для женщин в постменопаузе [99; 226; 305; 308; 321].

Выше приведенные литературные данные по исследованию сывороточного IGF-I как фактора риска РМЖ согласуются с результатами проведенного нами исследования в том, что у большинства больных РМЖ T1-2N0M0 стадий уровень маркера был значимо ниже, чем у здоровых, и не зависел от возраста пациенток. Следует отметить экспериментальную работу [379], в которой авторы путем трансгенных модуляций синтеза IGF-I у животных доказали, что злокачественная трансформация клеток молочной железы чаще развивалась среди животных с повышенными уровнями лиганда. Хотя авторы данной работы полагают, что развитие этих опухолей молочных железы не связано с прямым результатом

локального или эндокринного воздействия повышенного уровня IGF-I, а его эффекты носят вторичный характер в процессах бластомогенеза, и рекомендуют для выяснения механизма установления полного злокачественного фенотипа этих опухолей исследовать другие более значимые факторы.

Исследования последних лет показали, что как эстрогены, так и IGF-I оказывают стимулирующий эффект на пролиферацию эпителиальных клеток молочной железы и эстроген-зависимых клеток РМЖ. Речь идет о кооперативном взаимодействии (эстроген-зависимых и IGF-I-сигнальных путей), которое играет ключевую роль в канцерогенезе молочной железы, пролиферации раковых клеток, а также клеточной дифференцировке. Полученные нами результаты находятся в русле таких утверждений. Так, у больных с отсутствием экспрессии РЭ в первичных опухолях отмечено сниженное содержание IGF-I, тогда как у пациенток с «люминальным А» типом РМЖ, напротив, регистрировали увеличение содержания этого фактора. Некоторые авторы также показали, что РЭ значимо усиливали и экспрессию IGF-I, его рецептора IGF-IR и субстрат инсулинового рецептора IRS-1, тогда как в РЭ-негативных клетках РМЖ их уровни были значительно снижены [Surmacz E. et al., 2004]. Более того, было показано, что для усиления пролиферации клеток-мишеней эстрогены, связываясь с РЭ, активируют его взаимодействие с эстроген-зависимыми элементами (ERE) генов-мишеней или взаимодействуют с другими транскрипционными факторами, такими, как SP1. Авторы идентифицировали несколько потенциальных ERE в гене *IGF-I* экспериментальных животных, с которыми могут связываться РЭ. Эти результаты, демонстрирующие механизм активации IGF-I эстрогенами, требуют дальнейших исследований для их подтверждения на клетках РМЖ человека.

Полученные нами результаты также показали снижение концентрации белка IGFBP-1 в сыворотке крови больных РМЖ по сравнению со здоровыми женщинами. В большей степени этот эффект был характерен для РЭ-позитивного РМЖ. Эти данные согласуются с результатами других исследований, выявивших снижение этого транспортного белка в опухоли трансформированных тканях молочной железы.

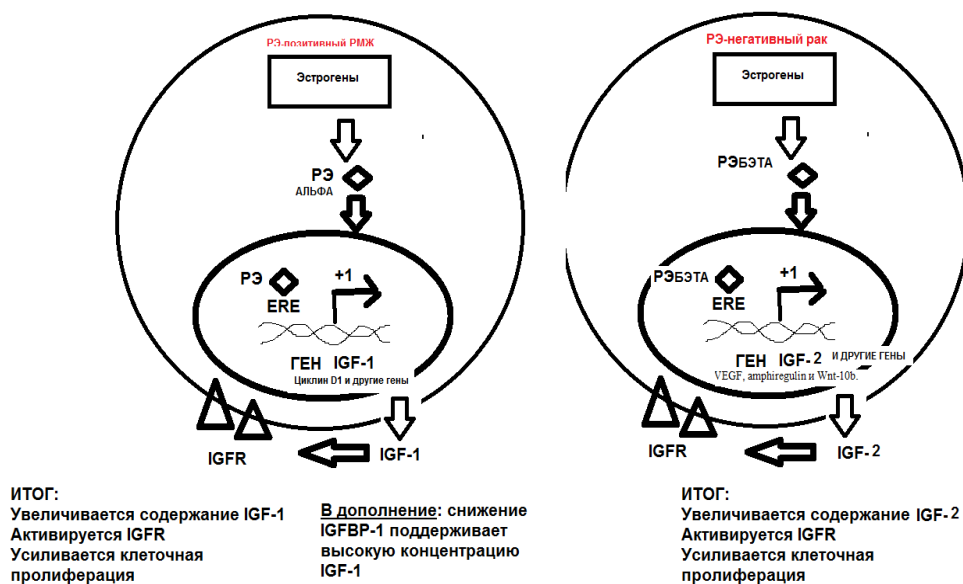
Анализируя исходные уровни другого лиганда системы-IGF — IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий нами выявлена противоположная закономерность в уровнях маркера относительно IGF-I, хотя известно, что эти лиганды обладают сходными пролиферативными и антипролиферативными эффектами. В отличие от IGF-I, который снижен у больных РМЖ относительно контроля, нами обнаружено значимое повышение показателя IGF-II в сыворотке крови пациенток РМЖ T1-2N0M0 стадий по сравнению с здоровыми женщинами. Прежде всего, это свидетельствует о нарушении продукции IGF-I и IGF-II у больных РМЖ в отличие от здоровых женщин, что подтверждают исследования многих авторов [99; 187; 188; 321].

Однако, несмотря на то, что исходные сывороточные уровни IGF-II у больных значимо отличались от здоровых женщин, они не отражали стадию опухолевого процесса, гистологическую структуру опухоли, не были связаны с рецепторным статусом (РЭ, РП) опухоли, были минимальными при G-I опухоли, но были значимо выше у пациенток с Her2-neu+ опухолью и значимо ниже при «люминальном А» РМЖ. Также необходимо особо подчеркнуть, что все исходные значения IGF-II в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с «тройным негативным» раком превышали содержание маркера в контрольной группе.

Таким образом, полученные нами данные убедительно доказывают высокую диагностическую роль сывороточного IGF-II в выявлении РМЖ T1-2N0M0 стадий, а также свидетельствуют о тесной связи маркера с ключевыми клиническими и биологическими характеристиками опухоли. При этом чувствительность маркера в распознавании РМЖ T1-2N0M0 стадий существенно повышалась при неблагоприятных клинических факторах и биологических характеристиках опухоли.

Вместе с тем, полученные результаты, вероятно, указывают на тот факт, что экспрессия IGF-II слабо регулируется РЭ. В пользу этого предположения свидетельствуют данные других авторов, которые показали, что IGF-II регулируется РЭ-β, который усиленно экспрессируется в клетках «тройного

негативного» РМЖ. Наряду с этим усиливается секреция таких белков, как VEGF, амфирегулин и Wnt-10b. На основе полученных результатов нами предложена гипотетическая схема взаимодействий гормональных и IGF-зависимых сигнальных путей (рисунок 42), что может найти применение в дифференциальной диагностике РМЖ.



**Рисунок 42** — Гипотетическая схема взаимодействия РЭ- и IGF-сигнальных путей в гормонозависимом и гормононезависимом РМЖ

Таким образом, полученные нами результаты, а именно, значимо низкие сывороточные уровни IGF-I у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, не подтверждают данные экспериментальных и клинических работ [223; 379].

О важной роли этого маркера как вероятного фактора риска заболевания, а окончательный механизм бласттрансформации эпителия молочных желез под воздействием высоких уровней IGF-I пока еще до конца не ясен. Следует указать, что мы также не нашли подтверждения данным, свидетельствующим о повышенном риске РМЖ при высоких сывороточных уровнях IGF-I в работе других авторов [321]. A.F.Trinconi et al. (2011), также не выявили связи концентрация IGF-I и IGFBP-3 в сыворотке крови, с развитием РМЖ у женщин [354].

Некоторые исследователи полагают, что в процессах канцерогенеза в молочной железе важны посттрансляционные механизмы экспрессии мРНК IGF-IR [213] и подтверждением этому факту служат полученные результаты: уровень IGF-IR мРНК, оказывается выше в нормальном эпителии молочной железы, чем в ткани РМЖ.

Вместе с тем, нами выявлен интересный факт, который указывает, что IGF-I, вероятно, способен влиять на чувствительность клеток РМЖ к эстрогенам. Так, в проведенном нами исследовании обнаружено, что циркулирующие уровни IGF-I были значимо ниже у пациенток с отсутствием экспрессии РЭ- в первичных опухолях. Этот факт в определенной степени подтверждает ранее полученные результаты, в которых показано, что высокие сывороточные концентрации IGF-I склонны стимулировать пролиферацию клеток РМЖ, экспрессирующих РЭ [333].

В настоящем исследовании выявлена связь уровней маркера IGF-I в сыворотке крови с конкретными биологическими маркерами в ткани первичной опухоли. Наиболее значимый вывод этого раздела исследований указывает, что сывороточные уровни IGF-I связаны с биологическими подтипами РМЖ. Так, исходно высокие концентрации IGF-I в сыворотке крови у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий обнаружены у пациенток с благоприятным «люминальным А» типом опухоли, в которых обнаружена экспрессия РЭ и РП. Этот вывод подтверждает гетерогенность форм РМЖ T1-2N0M0 стадий и свидетельствует о склонности к разным уровням продукции нормальными стромальными клетками и клетками опухоли РМЖ, поскольку известно, что РЭ работают как лиганд-активированный фактор транскрипции. Помимо прямых эффектов IGF-I, имеются данные о взаимодействии IGF-I не только с половыми стероидами, но и с онкогенами, опухолевыми супрессорами при РМЖ [333]. Лиганды системы-IGF и, в частности, IGF-I влияет на чувствительность клеток РМЖ к эстрогенам. Наиболее распространенный и активный тип РЭ — РЭ- $\alpha$  — содержит гормон-связывающий домен, ДНК-связывающий домен и два домена активации транскрипции [384]. Так, эстрадиол, связавшись с наиболее распространенным и активным типом РЭ — РЭ- $\alpha$ , вызывает димеризацию и последующее

взаимодействие гормон-рецепторного комплекса со специфическими палиндромными последовательностями ДНК, что запускает в свою очередь транскрипцию генов, продукты которых оказывают пролиферативный эффект [384], например, увеличивают экспрессию эстроген-индуцируемых генов, гена РП и циклина D1.

Анализ полученных нами исходных сывороточных концентраций IGFBP-1 и IGFBP-3 выявил их высокосignificantное повышение у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий по сравнению со здоровыми женщинами. Однако, при анализе двух пороговых уровней IGFBP-1 (20 и 48 нг/мл) с учетом соответствующих критериев чувствительности и специфичности этого белка (в первом случае — 76,4% и 76,5%, а во втором — 55,6% и 94,1%) он не может служить маркером в диагностике РМЖ. Пороговое значения IGFBP-3 6,9 мкг/мл, также показало низкую диагностическую его ценность (чувствительность — 41,2%, специфичность — 97,1%). При этом, уровни двух маркеров не отражали стадию, гистологический строение и рецепторный статус опухоли (по РЭ и РП). Вместе с тем, обнаружено: значимо повышение в сыворотке крови IGFBP-1 у больных с Her2-neu-положительным РМЖ; тенденция к его снижению при отсутствии экспрессии Her2-neu в опухоли больных с T1-2N0M0 стадиями; значимое повышение при низкой (G-3) степени дифференцировки опухоли. Кроме того, отмечено значимое снижение концентрации исследованных белков системы-IGF (IGFBP-1 и IGFBP-3) среди пациенток с благоприятным «люминальным А» РМЖ. К сожалению, объяснение полученных нами фактов относительно механизма повышения циркулирующих в сыворотке крови IGFBP-1 и IGFBP-3 у больных РМЖ с T1-2N0M0 стадиями требует дальнейших исследований. При этом, известно, что IGFBP-1 считается ингибитором действия IGF-I. Этот транспортный белок не только ингибирует IGF-опосредованную активацию РЭ, но и оказывает значительный подавляющий эффект на активацию РЭ, опосредуемую эстрогенами. По данным нашего исследования, уровни IGFBP-1 — ингибитора IGF-I, при «люминальном А» подтипе РМЖ были наиболее низкие, что и может в определенной степени служить объяснением выявленному нами факту.

Следует особо подчеркнуть тот факт, что в литературе представлено достаточно обзоров, в которых дана подробная информация и биологическая характеристика 6 основных IGFBP у больных различными опухолями. Однако клиническая значимость этих сывороточных маркеров до сих пор остается малоизученной и в основном носит дискуссионный характер. Вместе с тем, для нас большой интерес представлял раздел работы по изучению исходных концентрации IGFBP-1 и IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ в T1-2N0M0 стадиях. Выбор этих маркеров у больных РМЖ не случаен и связан с тем, что эти белки оказывают существенное влияние на эффекты лигандов системы-IGF (IGF-I, IGF-II), однако мнение о роли IGFBP в развитии РМЖ неоднозначно. Так, например, одни исследователи не находят связи IGFBP и, в том числе IGF-I, с развитием РМЖ [354], другие не выявили значимой взаимосвязи между экспрессией IGFBP-3 в опухоли и показателями общей или безрецидивной выживаемости при РМЖ [304]. Большинство исследователей показали, что уровни циркулирующих IGFBP-1 и IGFBP-3 не имеют однозначной ассоциации с риском РМЖ у женщин в пременопаузе [99; 226; 286; 305; 308; 321]. Интересные данные представили Pazaitou-Panayiotou K. et al., 2007, в которых авторы предполагают защитную роль IGFBP-3 в развитии опухоли и одновременно, полагают, что высокие уровни белка могут служить фактором повышенного риска РМЖ. Оказалось, что антиэстроген тамоксифен приводит к увеличению концентрации IGFBP-1 и IGFBP-3 [112], а высокое соотношение IGF-I/IGFBP-3 ассоциировано с высоким риском смертности больных РМЖ [162]. И еще один факт, который заслуживает внимания — это то, что IGFBP-3 является субстратом ДНК-зависимой протеинкиназы (DNA-PKcs) и может трансактивировать EGFR. Следовательно, IGFBP-3 в комплексе с IGF-R и DNA-PKcs вовлечен в механизмы репарации ДНК и может играть важную роль в сенситизации клеток РМЖ к химио- и лучевой терапии [249].

Анализ данных о содержании IGF в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий выявил, что маркер IGF-II показал хорошие диагностические возможности при выявлении первичной злокачественной опухоли молочной

железы. Так, при 95%ДИ показателя IGF-II равного 2,0 мкг/мл в контроле диагностическая чувствительность маркера составила 76,7%, специфичность — в 94,1%. Причем показатель чувствительности маркера IGF-II был наибольшим среди пациенток более молодого возраста (до 50 лет). При этом, чувствительность маркера в распознавании РМЖ T1-2N0M0 стадий существенно повышалась при неблагоприятных клинических факторах и биологических характеристиках опухоли. Полученные нами в работе данные также свидетельствуют о тесной связи маркера с ключевыми клиническими и биологическими характеристиками первичной опухоли.

Вместе с тем, по мнению специалистов, подавление продукции лигандов системы-IGF и их транспортных белков сыворотки крови может иметь большой эффект в лечении онкологических заболеваний, чем таргетная терапия, направленная на рецепторы IGF-RI, IGF-RII [114; 273; 312]. Поскольку действие IGF-I и эстрогенов взаимосвязано, можно также предположить, что ингибирование одновременно обеих взаимосвязанных систем, а именно, эстрогенов и системы-IGF может быть даже более эффективным в лечении РМЖ, чем блокирование каждой из них в отдельности.

Наибольший интерес представлял раздел по исследованию основных компонентов системы-IGF (IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-3) в оценке клинического течения заболевания, а также в возможном предсказании развития раннего рецидива заболевания, поскольку это требует более пристального наблюдения или дополнительного адъювантного лечения этой группы пациенток повышенного риска.

Так, нами впервые показано, что значимо высокие исходные концентрации IGF-I, IGF-II, IGFBP-3 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий тесно связаны с рецидивом заболевания в первые 3 года от начала лечения. При этом нами выделены пороговые значения маркеров, выше которых отмечено снижение безрецидивной выживаемости больных РМЖ. Так, в группе пациенток со значением IGF-I в сыворотке крови  $\geq 3,0$  мкг/мл было связано со снижением показателя 5-летней безрецидивной выживаемости на 35%, а IGF-II  $\geq 3,0$  мкг/мл



— на 65%. Следовательно, выделенные нами биохимические маркеры системы-IGF (IGF-I, IGF-II), могут быть использованы в клинике наряду с другими клинико-морфологическими факторами при оценке клинического течения и прогноза РМЖ. При этом, сывороточные показатели IGFBP-1 и IGFBP-3 не были связаны с прогнозом заболевания, а следовательно и показателями выживаемости.

Подводя итоги исследования IGF-I и IGF-II у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, а также анализ данных отечественной и зарубежной литературы свидетельствует о важной роли IGF на всех стадиях развития опухолевого процесса: злокачественной трансформации клеток, роста опухоли, местной инвазии и отдаленного метастазирования.

Полагают, что MMP — являются одними из ключевых молекул, способствующих инвазии и метастазированию опухолевых клеток [174] и относят их к ведущим фундаментальным свойствам злокачественных новообразований [50; 195]. Деградация ВКМ под воздействием MMP — очень важная часть опухолевой прогрессии, которая помогает опухолевой клетке пройти все этапы метастазирования [160]. Несмотря на то, что MMP представляют собой достаточно большое семейство (30 цинк-зависимых эндопептидаз) способных к деградации практически всех компонентов ВКМ [85; 259], при злокачественных опухолях, в том числе и РМЖ, большой интерес представляют некоторые из них и, в частности, MMP-2 и/или MMP-9 [252] — желатиназы/специфические коллагеназы коллагена IV типа, положительно ассоциированные с прогрессией ряда злокачественных опухолей и коротким временем выживания. Вместе с тем, до настоящего времени все еще дискутируется вопрос о том, в каких клетках у онкологических больных продуцируются MMP, хотя изначально полагали, что клетки опухоли самостоятельно синтезируют MMP. В более поздних исследованиях было показано, что стромальные клетки индуцируют секрецию MMP опухолевыми клетками молочных желез и склонны к более частой экспрессии MMP, чем опухолевые [182; 227]. Кроме того, исследователи полагают, что повышенная продукция MMP фибробластами и воспалительными клетками может быть ответной реакцией на возникновение опухоли.

В проведенном нами исследовании содержание MMP-2 определяли иммуноферментным методом исходно до лечения в сыворотке крови, гомогенатах первичных опухолей и не пораженной ткани молочной железы у больных РМЖ T1-T2N0M0 стадий. При этом показано, что уровни сывороточного MMP-2 не отличались от такового показателя у здоровых женщин, не были связаны с возрастом пациенток, гистологическим строением и степенью дифференцировки опухоли. Однако, значимо высокие значения MMP-2 выявлены у больных РМЖ с T2N0M0 стадией по сравнению с T1N0M0, у пациенток с РЭ-, РП- и Her2-neu+ опухолями и значимо снижались при «люминальном А» РМЖ. Следует отметить, что растворимые MMP в периферической крови находятся, в основном, в форме профермента, или в комплексе с природными ингибиторами (ТИМР,  $\alpha$ 2-макроглобулин) [Baker A.H. et al., 2002]. К сожалению, функциональная роль циркулирующих MMP в прогрессии опухоли до конца не исследована [Solinas G. et al., 2010]. Вместе с тем, в клинических работах обнаружена корреляционная связь между уровнями сывороточных MMP и клинико-морфологическими характеристиками заболевания [Higashiguchi T. et al., 2007; Hurst N.G. et al., 2007; Islekel H. et al., 2007; Domodharan U. et al., 2011; Hong S.W. et al., 2011]. Так, например, нами установлено достоверно более высокое содержание MMP-2 в опухолях общей группы больных РМЖ T1-T2N0M0 ( $54,3 \pm 2,1$  нг/мг белка) по сравнению с неизменной тканью молочной железы ( $47,8 \pm 1,4$  нг/мл;  $p < 0,0001$ ), а при T2N0M0 стадии значимо выше ( $60,7 \pm 2,6$  нг/мг белка), чем при T1N0M0 ( $40,5 \pm 2,8$  нг/мг белка;  $p < 0,0001$ ). Полученные нами результаты подтверждаются экспериментальными и клиническими исследованиями других авторов, в работах которых обнаружено увеличение некоторых MMP в различных опухолях животных и человека [Nelson A.R. et al., 2000; Deryugina E.I. et al., 2006]. По данным [Nelson A.R. et al., 2000; Deryugina E.I. et al., 2006, 2010] активация MMP происходит по паракринному механизму с участием факторов роста и цитокинов, секретируемых инфильтрирующими опухоль макрофагами и лимфоцитами, а также клетками опухолевой стромы.

Кроме того, наиболее высокие уровни маркера обнаружены в протоковом раке, у больных с РЭ-, РП- и Her2-neu+ опухолями, и значимо снижены при «люминальном А» подтипе РМЖ. Показатель MMP-2 не связан с возрастом пациенток и степенью злокачественности опухоли. При этом значения MMP-2 в опухоли и сыворотке крови связаны тесной корреляционной зависимостью. Следует отметить, что в клинических исследованиях рядом авторов также отмечена повышенная экспрессия различных MMP в первичном опухолевом очаге и/или метастазах, которые активируют неоангиогенез [Chantrain C.F. et al., 2006]. Однако, в отличие от полученных нами данных, авторы выявили ассоциацию уровней MMP-2 со степенью дифференцировки опухоли, глубиной инвазии, развитием отдаленных метастазов, а также с неблагоприятным прогнозом и низкой выживаемостью больных различными злокачественными новообразованиями [Duffy M.J. et al., 1996; Westermarck J. et al., 1999; Deryugina E.I. et al., 2006]. Также показано, что способностью регулировать синтез MMP-2 обладает IGF-I, усиливая его посредством PI3-K/Akt/mTOR. Вместе с тем, конечный результат активации ключевого рецептора IGF-IR зависит от биодоступности соответствующего лиганда, которая способна сдвинуть баланс между различными сигнальными путями [Zhang D. et al., 2004].

Пристальный интерес к исследованию MMP практические онкологи связывают, прежде всего с тем, что различные представители семейства MMP, в том числе и MMP-2, рассматривают в настоящее время в качестве возможных биологических маркеров оценки прогноза и лекарственной чувствительности злокачественных опухолей [Делекторская В.В. и соавт., 2007; Chan C.C. et al., 2001; Collins H.M. et al., 2001; Zucker S. et al., 2004; Higashiguchi T. et al., 2007; Hurst N.G. et al., 2007; Islekel H. et al., 2007; Domodharan U. et al., 2011; Hong S.W. et al., 2011], а использование природных и синтетических ингибиторов MMP считается перспективным подходом к противоопухолевой терапии [Nelson A.R. et al., 2000; Zucker S. et al., 2004].

Анализ полученных нами результатов показал, что значимое повышение исходных концентраций MMP-2 в сыворотке крови и ткани опухоли больных

PMЖ T1-2N0M0 стадий связано с ранним рецидивом заболевания в первые 3 года от начала лечения. Нами выделены пороговые значения MMP-2 как независимые факторы, определяющие время и частоту выявления рецидива опухоли у больных PMЖ T1-2N0M0 стадий: в сыворотке крови — MMP-2  $\geq 260,0$  нг/мл (5-летняя безрецидивная выживаемость снижалась на 30%); в ткани опухоли — MMP-2  $\geq 40$  нг/мг белка (3-летняя безрецидивная выживаемость снижалась на 40%). При этом, у больных PMЖ значение сывороточного MMP-2  $\geq 240$  нг/мл показало высокую специфичность (91,6%) и чувствительность (90,9%) маркера в предсказании раннего рецидива, а значит, исследование исходных уровней MMP-2 в сыворотке крови и опухоли может быть использовано как критерий неблагоприятного прогноза заболевания, а также в предсказании раннего рецидива PMЖ.

Другой важнейшей системой, участвующей в регуляции инвазии и метастазирования опухолей, считается протеолитический каскад активации плазминогена, играющий по отношению к системе MMP роль вышележащего эффектора [Baker E.A. et al., 2000; Harbeck N. et al., 2013; Duffy M.J. et al., 2014]. В многоступенчатой цепочке протеаз, ведущей к разрушению ВКМ, ведущую роль играют активатор плазминогена урокиназного типа (uPA) [Mekrawy A.H. et al., 2014], находящийся на поверхности клеток его рецептор (uPAR) [Andres S.A. et al., 2012]. Активатор плазминогена тканевого типа (tPA), роль которого связана с разрушением опухолевых клеток и защите окружающих тканей; тканевые ингибиторы uPA и tPA — PAI-1 и PAI-2, первый из которых защищает опухолевые клетки от саморазрушения, а второй — тормозит протеолитические процессы в ВКМ [Tang L. et al., 2013; Duffy M.J. et al., 2014]. Более подробная характеристика этой системы представлена в обзоре литературы. При этом 10-летний период наблюдения и анализ отдаленных результатов лечения больных PMЖ позволил ASCO разработать рекомендации по использованию маркеров uPA и PAI-I в практической деятельности онкологов. В проведенном нами исследовании у больных PMЖ анализировали в ткани опухолей только uPA, поскольку мы имели большой опыт и отдаленные результаты исследования uPA,

tРА и РАI-I у онкологических пациентов [Кушлинский Н.Е. и соавт., 2001; Герштейн Е.С. и соавт., 2001, 2007, 2011; Огнерубов Н.А. и соавт., 2004; Короткова Е.А. и соавт., 2012].

Анализ полученных результатов установил, что значимо высокое содержание uРА выявлено в опухоли общей группы больных РМЖ T1-2N0M0 стадий ( $1,6 \pm 0,1$  нг/мг белка) по сравнению с неизменной тканью молочной железы ( $0,8 \pm 0,1$  нг/мг белка;  $p < 0,001$ ). Следует отметить, что при T2N0M0 стадии uРА в опухоли значимо выше ( $1,8 \pm 0,1$  нг/мг белка), чем при T1N0M0 ( $1,2 \pm 0,2$  нг/мг белка;  $p < 0,035$ ). Выявленный нами факт подтвержден в исследованиях ряда других авторов [Harbeck N. et al., 2013; Tang L. et al., 2013; Duffy M.J. et al., 2014]. По данным проведенной нами работы оказалось, что уровни uРА в первичной опухоли связаны с гистологическим строением РМЖ и существенно повышены при низкодифференцированных (G-3) раках. Кроме того, не обнаружено связи uРА с возрастом пациенток и экспрессией рецепторов Her2-neu, PЭ, PП в опухоли. Полученные нами данные подтверждают исследования ряда авторов об определенной связи uРА с основными клинико-морфологическими характеристиками РМЖ [Begum F.D. et al., 2004; Duffy M.J. et al., 2004]. Нами доказана связь продукции uРА в первичной опухоли с биологическим фенотипом РМЖ T1-2N0M0 стадий. Так, наиболее низкие медианы uРА выявлены при благоприятном «люминальном А» РМЖ, а наибольшие в группе пациенток с подтипом Her2-neu+ и при «тройном негативном» раке.

Полученные нами результаты позволили выделить пороговые значения маркера uРА в первичной опухоли ( $\geq 40$  нг/мг белка) больных РМЖ T1-2N0M0 стадий как независимых факторов, позволяющих предсказать с высокой долей вероятности развитие раннего рецидива болезни (в первые 3 года от начала лечения). При этом доказано, что при уровнях uРА в опухоли  $\geq 40$  нг/мг белка показатели 3-летней безрецидивной выживаемости снижались на 40%. Выявленный нами факт свидетельствует о том, что высокие уровни uРА является неблагоприятным маркером прогноза безрецидивной выживаемости у больных

РМЖ и должен использоваться в практической онкологии (наряду с другими биологическими характеристиками опухоли), для выделения группы риска с целью более пристального наблюдения за этой категорией больных, а возможно, и для последующего назначения дополнительного, более эффективного адъювантного лечения, как возможная профилактика возврата заболевания. Тем более, что уровни uPA в опухоли имеют связь с биологическими подтипами РМЖ (люминальный, Her2/neu+, «тройной негативный» рак), стратегия терапии которых имеет свои особенности [Практические рекомендации RUSSCO по лекарственному лечению злокачественных опухолей, 2014; Колядина И.В. и соавт., 2015; Стенина М.Б., 2015].

Несмотря на то, что нами не установлено корреляционных связей между уровнями uPA, MMP-2 в опухоли и показателями системы-IGF (IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-3) в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, при оценке раннего рецидива «люминального А» РМЖ наиболее важным оказался комплекс маркеров (неблагоприятные уровни uPA в ткани опухоли и IGF-I, IGF-II в сыворотке крови), который характеризовал неблагоприятный прогноз болезни. Доказательством этому служили низкие (на 45-50%) показатели 5-летней безрецидивной выживаемости в группе больных «люминальным А» РМЖ T1-2N0M0 стадий, которые были связаны с неблагоприятными уровнями вышеуказанного комплекса маркеров. Следует отметить, что ранее в клинических исследованиях была показана высокая прогностическая значимость uPA при РМЖ, а риск рецидива, даже при начальных стадиях заболевания, возрастал в 1,5-3 раза, если уровень этого белка превышал определенные пороговые значения маркера [Duffy M.J. et al., 2004].

Известно, что компоненты системы активации плазминогена, в первую очередь uPA, в настоящее время рассматривают в качестве мишеней противоопухолевой терапии [Cakarovski K. et al., 2004]. Однако прямое ингибирование этих ферментов может привести к выраженным побочным эффектам, поскольку они играют важную роль в системе свертывания крови, участвуя в фибринолизе. Вместе с тем, для оценки перспективы их использования

в клинике необходимо выявить опухоли молочных желез с наличием мишеней этой системы, у которых можно ожидать наибольшего эффекта [Jacobsen B. et al., 2008].

В последнее десятилетие, пристальное внимание исследователи уделяют цитокинам, в частности IL-6 у больных РМЖ, в связи с тем, что он выполняет главную роль в регуляции воспалительных и пролиферативных процессов, считается универсальным медиатором коммуникации между различными клетками организма, в том числе и в самой опухоли [Молчанов О.Е., 2002; Телетаева Г.М., 2007; Dethlefsen C. et al., 2013; Sanguinetti A. et al., 2015]. Также наряду с другими цитокинами обеспечивает согласованные эффекты иммунной, эндокринной и нервной систем в ответ на патологические воздействия [Ravishankaran P. et al., 2011; Sanguinetti A. et al., 2015]. Специфическая диагностика онкологических заболеваний с помощью определения уровня цитокинов, и в том числе IL-6, невозможна [Tanaka T. et al., 2011]. Однако определение их концентрации в крови дает информацию о тяжести опухолевого процесса, его переходе на системный уровень и о прогнозе заболевания [Markkula A. et al., 2014; Holmer R. et al., 2015; Sanguinetti A. et al., 2015].

Полученные нами данные по исследованию исходного уровня IL-6 в сыворотке крови проведены у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий. Цитокин был выявлен не у всех пациенток, а в 91,1% наблюдений. При этом уровни IL-6 колебались в довольно широких пределах от 0 до 14 нг/мл. В контрольной группе (здоровые женщины) концентрация IL-6 колебались в пределах от 0,01 до 1,98 нг/мл и у большинства (72,0%) из них его уровни находились в пределах менее 1,0 нг/мл. При сопоставлении показателей IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с таковыми в группе контроля обнаружены достоверные различия. Однако, только у 30,8% больных РМЖ в T1N0M0 стадии и у 42,9% больных в T2N0M0 стадии содержание цитокина превышало его пороговый уровень (1,8 нг/мл). При этом, выявлена тенденция к увеличению показателя IL-6 в сыворотке крови больных РМЖ с T2N0M0 стадией по сравнению с T1N0M0. Не выявлено корреляционной зависимости между содержанием IL-6 в сыворотке

крови и возрастом больных РМЖ, однако, обнаружена тесная связь показателей цитокина с гистологическим строением опухоли в общей группе больных РМЖ: наиболее высокие уровни цитокина выявлены при дольковом инфильтративном РМЖ, по сравнению с протоковым. Также обнаружено значимое повышение сывороточного ИЛ-6 в общей группе больных РМЖ и в группе пациенток с T2N0M0 стадией заболевания при увеличении степени злокачественности опухоли, а наиболее высокие показатели цитокина отмечены у пациенток с G-3 степенью дифференцировки опухоли. Не было отмечено связи между содержанием ИЛ-6 в сыворотке крови и рецепторным статусом (РЭ, РП) первичной опухоли. Медианы цитокина не различались между больными РМЖ с наличием или отсутствием экспрессии рецептора Her2-neu. И только у больных РМЖ с T2N0M0 стадией частота выявления ИЛ-6 в сыворотке крови выше порогового уровня цитокина незначимо повышалась с 42,3% до 51,6% при выявлении экспрессии белка Her2-neu в первичной опухоли. Кроме того, исходные уровни ИЛ-6 в сыворотке крови больных РМЖ T1-2N0M0 стадиями не были значимо связаны с биологическим подтипом рака.

Заключая данный раздел исследования можно утверждать, что диагностика РМЖ T1-2N0M0 стадий с помощью определения исходного уровня ИЛ-6 в сыворотке крови невозможна, что подтверждают и другие авторы [Tanaka T. et al., 2011]. Однако определение концентрации цитокина в крови дает определенную информацию об опухолевом процессе, и в проведенном нами исследовании обнаружено значимое повышение уровня цитокина при дольковом инфильтративном РМЖ, по сравнению с протоковым, что имеет важное клиническое значение.

Проведенный нами анализ тканевых и сывороточных маркеров у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий, позволил определить пороговые уровни исследованных маркеров, как независимые неблагоприятные факторы прогноза, влияющие на время и частоту появления раннего рецидива опухоли: в сыворотке крови — уровни IGF-I  $\geq 3,0$  мкг/мл; IGF-II  $\geq 3,0$  мкг/мл; MMP-2  $\geq 60$  нг/мл; ИЛ-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/мг белка и MMP-2  $\geq 40$  нг/мг белка.

В представленном нами исследовании проведен анализ клинической значимости биологических подтипов РМЖ T1-2N0M0 стадий в предсказании раннего рецидива заболевания, но с учетом связи вышеуказанных маркеров с основными клинико-морфологическими и биохимическими характеристиками опухоли. Биологический подтип РМЖ установлен нами у 291 пациентки с T1-2N0M0 стадиями опухолевого процесса: люминальный А (PЭ+, PП+, Her2-, Ki67<20%) — 33,3%; люминальный В Her2- (PЭ+, PП+, Her2-, Ki67 $\geq$ 20%) — 19,5%; тип PЭ+, PП-, Her2-, Ki67<20% — 18,9%; люминальный В Her2+ (PЭ+, PП+, Her2+, Ki67 любой) — 9,6%; тройной негативный (PЭ-, PП-, Her2-, Ki67 любой) — 10,6%; Her2+ тип (PЭ-, PП-, Her2+, Ki67 любой) — 7,2%. Представленные нами данные о частоте выявления биологических подтипов РМЖ соответствует таковым показателям, выявленных другими авторами [Стенина М.Б., 2015; Колядина И.В. и соавт., 2015; Irvin W.J. Jr. et al., 2008].

Следует также указать, что экспрессия рецепторного белка Her2 выявлена в 16,8% опухолей, тогда как у большинства пациенток РМЖ T1-2N0M0 стадий (83,2%) рецептор не обнаружен.

В общей группе из 293 больных РМЖ T1-2N0M0 стадий с прослеженными отдаленными результатами лечения 5-летняя безрецидивная выживаемость составила  $62,8 \pm 4\%$ , 10-летняя —  $42,7 \pm 6,1\%$ , медиана срока жизни без рецидива составила 99,8 месяцев или более 8 лет. Всего за 10-летний срок наблюдения выявлено 80 (27,2%) рецидивов заболевания в виде местных/отдаленных метастазов либо продолженного роста опухоли.

При анализе частоты выявления рецидивов заболевания в группе больных РМЖ с T1N0M0 стадией обнаружили, что на их появление не влияли возраст, степень злокачественности и неблагоприятный рецепторный статус опухоли (PЭ-, PП-), тогда как биологический подтип новообразования тесно связан с частотой развития рецидива. Так при «люминальном А» РМЖ — ни одного раннего рецидива не выявлено, а при прочих биологических подтипах опухолей их

выявляли с частотой от 25 до 33%. При этом, наличие экспрессии белка Her2-neu+ в опухоли у больных РМЖ с T1N0M0 стадией увеличивало риск развития рецидива в 2,9 раза ( $p=0,045$ ).

Анализ ранних рецидивов в группе больных РМЖ с T2N0M0 стадией показал, что на частоту их возникновения также не влиял возраст (как и при T1N0M0 стадии), но в отличие от T1N0M0 стадии влияли степень дифференцировки и неблагоприятный рецепторный статус новообразования. При однофакторном анализе показателей экспрессии изученных рецепторов (PЭ, PП, Her2) в первичной опухоли доказана их связь с частотой появления раннего рецидива. Так в трех анализируемых группах пациенток, опухоли которых характеризовались как PЭ-, PП-, Her2-neu+ эти показатели равнялись соответственно 73,1%, 46,7%, 72,7%. При этом, относительный риск рецидива РМЖ в этих трех группах пациенток составил соответственно 4,4; 2,9 и 4,2 раза ( $p<0,0001$ ). Однако, анализ показателей частоты выявления рецидива с учетом биологического подтипа рака у больных с T2N0M0 стадией выявил следующие особенности: при благоприятном «люминальном А» РМЖ рецидивы обнаружены только в 2,1% наблюдений, а при Her2+ — в 83,3%. Все это свидетельствует о гетерогенности РМЖ T1-2N0M0 стадий, а исследуемые уровни и частота выявления биологических маркеров (PЭ, PП, Her2, Ki-67) имеет важное клиническое значение, особенно в оценке прогноза заболевания [Стенина М.Б., 2015; Колядина И.В., 2015].

Таким образом, в проведенном нами исследовании выявлено, что показатели 5-летней безрецидивной выживаемости у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий не различались в группах пациенток с одним или двумя неблагоприятными значениями изученных маркеров и равнялись соответственно  $88,8\pm 5,7\%$  и  $80,2\pm 6,6\%$ , а также с благоприятными уровнями всех сывороточных маркеров ( $88,9\pm 10,5\%$ ). Показатели 5-летней безрецидивной выживаемости высокозначимо снижались до  $12,2\pm 6,4\%$  при одновременном выявлении у пациенток трех и более маркеров с неблагоприятными их уровнями в сыворотке крови.

Представленные нами данные по исследованию содержания ключевых лигандов и транспортных белков системы-IGF (IGF-I, IGF-II, IGFBP-1, IGFBP-3) у больных РМЖ T1-2N0M0 стадий выявили их связь с основными клиническими, морфологическими и биохимическими характеристиками заболевания (с тканевыми — MMP-2, uPA; сывороточными — MMP-2, IL-6) опухолевыми маркерами, а также с экспрессией рецепторов PЭ, PЦ, Her-2/neu и Ki-67 в первичной опухоли. Анализ полученных результатов позволил выделить ряд биохимических маркеров, которые могут быть использованы не только в комплексной диагностике РМЖ T1-2N0M0 стадий, но и выявлении раннего рецидива заболевания. При этом наиболее эффективными в лечении больных РМЖ следует считать комбинированные и комплексные методы, которые позволяют увеличить не только безрецидивный период, но и общую продолжительность жизни этих пациенток. Однако, успех лечения этой категории больных связан не только со стадией РМЖ, но и с биологическими особенностями первичной опухоли. Поэтому использование в практической онкологии современных биохимических лабораторных методов исследования первичной опухоли и сыворотки крови имеет крайне важное значение, помимо общеизвестных характеристик РМЖ, а именно, распространенности опухолевого процесса, гистологического строения и степени дифференцировки опухоли, процессов пролиферативной и протеолитической активности, ангиогенеза, апоптоза, чувствительности новообразования к стероидным гормонам и факторам роста. Кроме того, анализ полученных нами данных позволил выявить ряд мишеней, тесно связанных с прогнозом РМЖ, для возможной последующей терапии заболевания.

Многофакторный анализ позволил нам выявить, что безрецидивная выживаемость в общей группе больных РМЖ высокозначимо зависела от биологического подтипа опухоли и степени ее дифференцировки. Так частота выявленных рецидивов была минимальной при «люминальном А» раке — 1,5%, повышалась в 19,1 раза при «люминальном В Her2-», в 11,1 раза — при «ЭР+, ПР-, Her2-, Ki67<20%», а при прочих подтипах РМЖ в 40 и более раз ( $p < 0,0001$ ).

Показано, что отношение шансов для возможного появления раннего рецидива болезни у больных РМЖ T2N0M0 и T1N0M0 стадий равнялось 1,57. Частота относительного риска выявления рецидива РМЖ T1-2N0M0 стадий зависела от рецепторного статуса опухоли и значимо повышалась при РЭ- опухолях в 3,6 раза, при РП- в 2,5 раза, при Her2-neu+ в 3,8 раза. Наиболее часто рецидивы заболевания проявлялись отдаленными метастазами в легких (62,5%) и костях (55,0%).

Нами проведен анализ связи раннего рецидива опухоли отдельно в двух группах больных РМЖ с T1N0M0 и T2N0M0 стадией. Показано, что частота выявления рецидива у больных РМЖ с T1N0M0 стадией не связана с возрастом пациенток, степенью злокачественности, неблагоприятным рецепторным статусом опухоли (РЭ-, РП-). В тоже время, биологический подтип новообразования значимо связан с частотой развития рецидива болезни у этой группы пациенток (люминальный А — 0%, прочие подтипы — от 25 до 33%), при этом наличие экспрессии белка Her2-neu в опухоли увеличивало риск развития рецидива в 2,9 раза ( $p=0,045$ ). У больных РМЖ с T2N0M0 стадией на частоту выявления рецидива также не влиял возраст, но влияли степень злокачественности и неблагоприятный рецепторный статус новообразования, который для РЭ-, РП-, Her2-neu+ опухолей равнялся соответственно 73,1%, 46,7%, 72,7%, а относительный риск рецидива РМЖ в этих трех группах составил соответственно 4,4; 2,9 и 4,2 раза ( $p<0,0001$ ). Однако при люминальном А РМЖ рецидивы выявлены только в 2,1% наблюдений, а при Her2+ — в 83,3%.

## 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 высокочисло 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 ( $1,6 \pm 0,1$  нг/мг белка) по сравнению с неизменной тканью молочной железы ( $0,8 \pm 0,1$  нг/мг белка,  $p = 0,0001$ ), не зависит от биологического типа рака, значимо выше при T2N0M0 стадии ( $1,8 \pm 0,2$  нг/мг белка), чем при T1N0M0 ( $1,8 \pm 0,1$  нг/мг белка,  $p = 0,035$ ), зависит от степени злокачественности опухоли и максимально при низкой степени дифференцировки опухоли ( $2,3 \pm 0,1$  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 ( $2,0 \pm 0,1$  нг/мл) по сравнению с неизменной тканью молочной железы ( $1,0 \pm 0,1$  нг/мл,  $p = 0,0001$ ), и значимо повышалась при T2N0M0 по

сравнению с T1N0M0 ( $2,2 \pm 0,2$  и  $1,5 \pm 0,1$  нг/мл,  $p=0,02$ ), была значимо большей при G-3 ( $2,5 \pm 0,4$  нг/мл), не зависела от подтипа опухоли.

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

АТ	— антитела
ВОЗ	— Всемирная Организация Здравоохранения
ВКМ	— внеклеточный матрикс
ГРГ	— гонадотропин релизинг гормон
ИГХ	— иммуногистохимический (метод)
КТ	— компьютерная томография
КРР	— колоректальный рак
МРТ	— магнитно-резонансная томография
ММП	— матриксные металлопротеиназы
МАРК	— митоген-активируемые протеинкиназы
ОС	— овариальная супрессия
ПЭТ	— позитронно-эмиссионная томография
РМЖ	— рак молочной железы
РП	— рецепторы прогестерона
РКТ	— рак толстой кишки
РФП	— радиофармпрепарат
РЭ	— рецепторы эстрогенов
УЗИ	— ультразвуковое исследование
ФВ <sub>лж</sub>	— фракция выброса левого желудочка
ФСГ	— фолликулостимулирующий гормон
BRCA	— ген рака молочной железы
CISH	— хромогенная <i>in situ</i> гибридизация
FISH	— флюоресцентная <i>in situ</i> гибридизация
HER2	— рецептор человеческого эпидермального фактора роста 2 типа
Ki67	— индекс пролиферации
TNM	— классификация рака молочной железы

АЭ	— антиэстрогены
АТФ	— аденозинтрифосфат
БРВ	— безрецидивная выживаемость
БСЛУ	— биопсия сигнального (сторожевого) лимфатического узла
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота
ИА	— ингибиторы ароматазы
ИГХ	— иммуногистохимическое исследование
ЛТ	— лучевая терапия
ММГ	— маммография
МРТ	— магнитно-резонансная томография
ОВ	— общая выживаемость
ОСВ	— онкоспецифическая выживаемость
ПЦР	— полимеразная цепная реакция
РМЖ	— рак молочной железы
РМЭ	— радикальная мастэктомия
УЗИ	— ультразвуковое исследование
ASCO	— Американское общество клинической онкологии
BRCA	— гены, ассоциированные с наследственным раком молочной железы
CD4+	— Т-хелпер
CD8+	— Т-киллер
CD16	— рецептор для антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности
CD25	— рецептор конкурентного захвата интерлейкина-2
CD 94	— рецептор NK-клеток для взаимодействия с маркерами HLA-E
CD95 (FAS)	— рецептор апоптоза
COX-regression	— регрессионный статистический анализ
COX-2	— циклооксигеназа 2 типа
95% CI (confidence interval)	— доверительный интервал
EGFR	— эпидермальный фактор роста

ER	— рецепторы эстрогенов
EP	— рецепторы прогестинов
ESMO	— Европейское общество клинической онкологии
FISH	— флуоресцентная гибридизация <i>in situ</i>
Foxp3 (Treg)	— регуляторные лимфоциты
G	— степень злокачественности опухоли
HER2	— рецептор эпидермального фактора роста 2 типа
HLA	— гены гистосовместимости
HLA-E/HLA-G	— маркеры неклассических генов гистосовместимости I класса
HC10/HCA2	— маркеры классических генов гистосовместимости I класса
HR	— (Hazard Ratio) — отношение рисков
Ki67	— индекс пролиферативной активности
mTOR-AKT	— сигнальный путь
NCCN	— Американская национальная онкологическая сеть
NK-клетки	— натуральные киллеры
p53	— ядерный белок p53
PI3K-PTEN	— сигнальный путь
PI3K	— фосфатидилинозитол-3-киназа
PR	— рецепторы прогестерона
RUSSCO	— Российское общество клинической онкологии
TILs-опухоль	— инфильтрирующие лимфоциты
TNF	— фактор некроза опухоли
TMA	— (tissue microarray) — микрочиповые образцы опухолей
TNM	— классификация злокачественных опухолей с учетом критериев Т (размер опухоли), N (статус регионарных лимфоузлов) и M (отдаленных метастазов)
TP53	— ген p53
SPSS	— международная статистическая программа обработки данных

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аксель, Е.М. Заболеваемость и смертность от рака молочной железы в России / Е.М. Аксель // Материалы большой конференции RUSSCO «Рак молочной железы». 25-26 января 2018. — С. 35-38.
2. Бейшон, М. Метаболизм опухолевой клетки — потенциальная мишень для противоопухолевой терапии / М. Бейшон // Cancer World. — 2016. — № 1-2. — С. 16-23.
3. Берштейн, Л.М. Гормоны, возраст и рак / Л.М. Берштейн — СПб.: Наука, 2005. — 254 с.
4. Бурместер, Г.Р. Наглядная иммунология / Г.Р. Бурместер, А. Пецутто с участием Т. Ульриха и А. Айхера. — М: БИНОМ, 2014. — 320 с.
5. Бююль, А. SPSS: искусство обработки информации / А. Бююль, П. Цёфель. — СПб.: ДиаСофтЮп, 2005. — 608 с.
6. Ганцев, Ш.Х. Локально-тканевый интерлейкиновый профиль при раке молочной железы / Ш.Х. Ганцев, Р.Р. Бакиева // Российский онкологический журнал. — 2016. — Т. 21, № 1-2. — С. 60-65.
7. Гарин, А.М. Заболеваемость, смертность, отдаленные результаты и последствия лечения онкологических больных в разных странах мира / А.М. Гарин, И.С. Базин // Российский онкологический журнал. — 2016. — Т. 21, № 1-2. — С. 11-18.
8. Герштейн, Е.С. Иммуноферментное определение активаторов плазминогена и их ингибитора в опухолях молочной железы: связь с клинико-морфологическими факторами прогноза / Е.С. Герштейн, О.И. Костылева, Н.Е. Кушлинский // Клиническая лабораторная диагностика. — 2000. — № 3. — С. 16-21.
9. Герштейн, Е.С. Активаторы плазминогена тканевого и урокиназного типов и их ингибитор PAI-1 в меланомах и доброкачественных пигментных

новообразованиях кожи / Е.С. Герштейн, Трапезников Н.Н. С.В. Медведева, И.В. Бабкина и др. // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. — 2001. — Т. 132, № 7. — С. 71-76.

10. Герштейн, Е.С. Активатор плазминогена урокиназного типа в опухолях яичников: взаимосвязь с клинико-морфологическими факторами и прогнозом / Е.С. Герштейн, С.О. Никогосян, В.П. Козаченко и др. // Вестник Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина РАМН. — 2001. — № 1. — С. 30-35.

11. Герштейн, Е.С. Активаторы плазминогена урокиназного и тканевого типов и их ингибитор PAI-1 в опухолях человека / Е.С. Герштейн, Н.Е. Кушлинский // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. — 2001. — Т. 131, № 1. — С. 81-87.

12. Герштейн, Е.С. Компоненты системы активации плазминогена при раке пищевода: взаимосвязь с основными клинико-морфологическими факторами // Вестник Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина / Е.С. Герштейн, Н.Е. Кушлинский, А.М. Щербаков и др. // РАМН. — 2002. — № 4. — С. 20-24.

13. Герштейн, Е.С. Активаторы плазминогена урокиназного и тканевого типов и их ингибитор PAI-1 при раке толстой кишки: взаимосвязь с основными клинико-морфологическими факторами / Е.С. Герштейн, В.В. Пророков, О.В. Голубченко и др. // Вестник Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина РАМН. — 2002. — № 2. — С. 31-36.

14. Герштейн, Е.С. Активаторы плазминогена урокиназного и тканевого типов и их ингибитор PAI-1 при раке желудка / Е.С. Герштейн, А.М. Щербаков, А.И. Казьмин и др. // Вопросы онкологии. — 2003. — Т. 49, № 2. — С. 165-169.

15. Герштейн, Е.С. Фактор роста эндотелия сосудов и компоненты системы активации плазминогена при раке и гиперплазии эндометрия / Е.С. Герштейн, Е.В. Грицаенко, М.Е. Щербаков и др. // Вопросы онкологии. — 2003. — Т. 49, № 6. — С. 725-729.

16. Герштейн, Е.С. Клиническая роль системы активации плазминогена в опухолях человека / Е.С. Герштейн, Н.Е. Кушлинский, Ш.Ж. Талаева и др. // Молекулярная медицина. — 2007. — № 1. — С. 4-8.

17. Герштейн, Е.С. Современные представления о механизмах передачи сигналов факторов роста как основа эффективной молекулярно-направленной противоопухолевой терапии / Е.С. Герштейн, Н.Е. Кушлинский // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. — 2007. — № 1. — С. 4-9.
18. Герштейн, Е.С. Матриксные металлопротеиназы 7 и 9 и их тканевые ингибиторы 1 и 4 типа в опухолях и плазме крови больных раком толстой кишки / Е.С. Герштейн, Д.А. Головков, Н.Е. Кушлинский и др. // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. — 2007. — Т. 143, № 3. — С. 438-441.
19. Герштейн, Е.С. Матриксные металлопротеиназы 2, 3, 13 и их тканевой ингибитор 2-го типа в опухолях и плазме крови больных раком толстой кишки / Е.С. Герштейн, Е.А. Короткова, В.В. Пророков и др. // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. — 2008. — Т. 145, № 3. — С. 337-341.
20. Герштейн, Е.С. Сравнительное иммуноферментное исследование матриксных металлопротеиназ-2, -7, -9 и их тканевого ингибитора 2 типа в опухолях и плазме крови больных раком желудка / Е.С. Герштейн, С. Ли, А.Б. Рябов и др. // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. — 2009. — Т. 148, № 12. — С. 660-663.
21. Герштейн, Е.С. Активаторы плазминогена урокиназного и тканевого типов и их ингибитор PAI-1 в опухолях больных раком слизистой оболочки полости рта: взаимосвязь с основными клинико-морфологическими факторами / Е.С. Герштейн, А. Ф. Бацев, Е.Г. Матякин и др. // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. — 2010. — Т. 149, № 3. — С. 323-326.
22. Герштейн, Е.С. Матриксные металлопротеиназы 2, 7, 9 и тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ 1 типа в опухолях и сыворотке крови больных новообразованиями яичников / Е.С. Герштейн, И.В. Терешкина, Н.Е. Кушлинский и др. // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. — 2010. — Т. 149, № 5. — С. 562-565.
23. Герштейн, Е.С. Прогностическое значение активаторов плазминогена урокиназного и тканевого типов и их ингибитора PAI-1 в опухолях больных раком толстой кишки: результаты 10-летнего наблюдения / Е.С. Герштейн,

В.В. Пророков, Н.Е. Кушлинский // Технологии живых систем. — 2011. — № 3. — С. 42-49.

24. Герштейн, Е.С. Взаимосвязь экспрессии компонентов VEGF-сигнального пути и матричных металлопротеиназ в опухолях больных с новообразованиями яичников / Е.С. Герштейн, Д.Н. Кушлинский, Н.В. Левкина и др. // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. — 2011. — Т. 151, № 4. — С. 431-435.

25. Герштейн, Е.С. Клиническое значение исследования матричных металлопротеиназ и их ингибиторов у больных раком яичников / Е.С. Герштейн, Н.В. Лёвкина, Д.Н. Кушлинский и др. // Акушерство и гинекология. — 2012. — №. 6. — С. 40-46.

26. Герштейн, Е.С. Клиническое значение исследования ассоциированных с опухолью протеаз в опухолях и плазме крови больных колоректальным раком / Е.С. Герштейн, Е.А. Короткова, В.В. Пророков и др. // Молекулярная медицина. — 2013. — № 1. — С. 49-55.

27. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. — М.: Практика, 1999. — С. 459.

28. Давыдов, М.И. Лаборатория в современной клинике / М.И. Давыдов, Н.Е. Кушлинский. — М.: Издательство «Лабора», 2010. — С. 6-22.

29. Давыдов, М.И. Онкология. Клинические рекомендации / Под ред. М.И. Давыдова. — М.: Издательская группа РОНЦ, 2015. — 680 с.

30. Делекторская, В.В. Прогностическая значимость экспрессии матричных металлопротеиназ в аденокарциномах толстой кишки и их метастазах / В.В. Делекторская, А.Г. Перевошиков, Д.А. Головков и др. // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. — 2007. — Т. 143, № 4. — С. 434-438.

31. Заридзе, Д.Г. Профилактика рака. Руководство для врачей / Д.Г. Заридзе. — М.: ИМА-ПРЕСС, 2009. — С. 224.

32. Камышников, В.С. Клинические лабораторные тесты от А до Я и их диагностические профили / В.С. Камышников. — М.: Изд-во «МЕДпресс-информ», 2014. — 320 с.

33. Каприн, А.Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2013 году / Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. — М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2014. — 235 с.
34. Катунина, А.И. Матриксные металлопротеиназы 2, 7 и 9 в опухолях и сыворотке крови больных раком молочной железы / А.И. Катунина, Е.С. Герштейн, В.Д. Ермилова и др. // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. — 2011. — Т. 151, № 3. — С. 334-338.
35. Колядина, И.В. Гетерогенность рака молочной железы I стадии: клиническое и прогностическое значение размера карциномы T1a, T1b и T1c / И.В. Колядина, И.В. Поддубная, О.П. Трофимова // Российский онкологический журнал. — 2015. — № 1. — С. 17-22.
36. Комарова, Л.Е. Скрининговая маммография рака молочной железы. За и против? / Л.Е. Комарова // Сибирский онкологический журнал. — 2008. — Приложение № 2. — С. 9-13.
37. Копнин, Б.П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза / Б.П. Копнин // Биохимия. — 2000. — Т. 65. — С. 5-33.
38. Корман, Д.Б. Альтернативная терапия рака / Д.Б. Корман. — М.: ПРАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА, 2016. — 192 с.
39. Короткова, Е.А. Тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ 1 типа (ТИМП-1) при раке толстой кишки: взаимосвязь с клинко-морфологическими факторами / Е.А. Короткова, Е.С. Герштейн, В.В. Пророков, Н.Е. Кушлинский // Вопросы онкологии. — 2009. — Т. 55, № 2. — С. 171-176.
40. Короткова, Е.А. Клинические перспективы исследования матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов у больных раком толстой кишки / Е.А. Короткова, Е.С. Герштейн, В.В. Пророков и др. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. — 2012. — № 10. — С. 41-46.
41. Костылева, О.И. Инсулиноподобные факторы роста, их рецепторы и связывающие белки как патогенетические факторы и потенциальные мишени



терапии в онкологии / О.И. Костылева, Е.С. Герштейн, М.А. Дигаева и др. // *Вопр. Биол. Мед. Фарм. Химии.* — 2009. — № 6. — С. 3-8.

42. Красильников, М.А. Молекулярный канцерогенез / под ред. М.А. Красильникова, И.Б. Зборовской. — М.: АБВ-пресс, 2016. — 394 с.

43. Кушлинский, Н.Е. Активаторы плазминогена и их ингибитор в опухолях и опухолеподобных поражениях костей / Н.Е. Кушлинский, А.И. Юсифов, Е.С. Герштейн, Ю.Н. Соловьев, Н.Н. Трапезников // *Бюлл. Эксп. Биол. Мед.* — 2001. — Т. 132, № 2. — С. 180-182.

44. Кушлинский, Н.Е. Активаторы плазминогена урокиназного и тканевого типов и их ингибитор при заболеваниях щитовидной железы / Н.Е. Кушлинский, И.А. Казанцева, Е.С. Герштейн // *Проблемы эндокринологии.* — 2004. — Т. 50, № 3. — С. 25-29.

45. Кушлинский, Н.Е. Матриксные металлопротеиназы и клинкоморфологическая характеристика новообразований яичников / Н.Е. Кушлинский, Е.С. Герштейн и др. // *Биотехнология живых систем.* — 2010. — Т. 7, № 8. — С. 52-57.

46. Кушлинский, Н.Е. ИЛ-6, ИЛ-6Р, общая активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови больных первичными опухолями костей и их роль в прогнозе заболевания / Н.Е. Кушлинский, Т.А. Тарасова, Ю.Н. Соловьев и др. // *Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи.* — 2010. — № 4. — С. 59-65.

47. Кушлинский, Н.Е. Система инсулиноподобных факторов роста / Н.Е. Кушлинский, Ю.С. Тимофеев // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* — 2011. — № 12. — С. 3-22.

48. Кушлинский, Н.Е. Инсулиноподобные факторы роста (IGF), белки, связывающие IGF (IGFBP), и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) в сыворотке крови больных колоректальным раком / Н.Е. Кушлинский, Е.С. Герштейн, А.А. Николаев и др. // *Бюлл. Экспер. Биол. Мед.* — 2013. — Т. 156, № 11. — С. 632-636.

49. Кушлинский, Н.Е. Компоненты системы RANK/RANKL/OPG, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-16, ММП-2 и кальцитонин в сыворотке крови больных с

новообразованиями костей / Н.Е. Кушлинский, Ю.С. Тимофеев, Ю.С. Соловьев и др. // Бюлл. Экспер. Биол. Мед. — 2014. — Т. 157, № 4. — С. 522-526.

50. Кушлинский, Н.Е. Молекулярные механизмы опухолевого роста / Н.Е. Кушлинский, М.В. Немцова // Патогенез. — 2014. — Т. 12, № 1. — С. 4-14.

51. Кушлинский, Н.Е. Молекулярно-биологические признаки злокачественных опухолей / Н.Е. Кушлинский // Молекулярная медицина. — 2015. — № 2. — С. 13-18.

52. Лихтенштейн, А.В. Генетические дефекты как маркеры опухолевого роста / А.В. Лихтенштейн, Г.И. Потапова // Мол. Биология. — 2003. — Т. 37, № 2. — С. 181-193.

53. Лихтенштейн, А.В. Рак как программируемая гибель организма / А.В. Лихтенштейн // Биохимия. — 2005. — Т. 70, № 9. — С. 1277-1288.

54. Лихтенштейн, А.В. Канцерогенез: эволюция представлений / А.В. Лихтенштейн // Биохимия. — 2009. — Т. 74. — С. 437-447.

55. Любимова, Н.В. Биохимические маркеры костного метаболизма при раке молочной железы / Н.В. Любимова, Г.В. Кожарская, С.М. Портной и др. // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. — 2014. — Т. 157, № 6. — С. 740-744.

56. Любимова, Н.В. Биохимические маркеры метастазирования в кости / Н.В. Любимова, Н.Е. Кушлинский // Успехи молекулярной онкологии. — 2015. — Т. 2, № 5. — С. 61-75.

57. Мейл, Д. Иммунология / Д. Мейл, Дж. Бростофф, Д.Б. Рот. — М.: Логосфера, 2007. — 568 с.

58. Молчанов, О.Е. Цитокиноterapia злокачественных опухолей интерлейкином-2 / О.Е. Молчанов. — СПб, 2002. — 39 с.

59. Новик, А.А. Введение в молекулярную биологию канцерогенеза / А.А. Новик, Т.А. Камилова, В.Н. Цыган; под ред. Ю.Л.Шевченко. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. — 224 с.

60. Огнерубов, Н.А. Система активации плазминогена при раке желудка / Н.А. Огнерубов, Н.Е. Кушлинский, А.И. Казьмин. — Воронеж: Изд-во Воронежского государственного университета, 2004. — 96 с.

61. Пальцев, М.А. Межклеточные взаимодействия / М.А. Пальцев, А.А. Иванов, С.Е. Северин. — М.: Медицина, 2003. — 288 с.
62. Пальцев, М.А. Системы генетических и эпигеномных маркеров в диагностике онкологических заболеваний / Под ред. М.А. Пальцева, Д.В. Залетаева. — М.: Медицина, 2009. — 384 с.
63. Переводчикова, Н.И. Лекарственная терапия рака молочной железы / Н.И. Переводчикова, М.Б. Стенина. — М.: ПРАКТИКА, 2014.
64. Переводчикова, Н.И. Современные возможности индивидуализации лекарственной терапии рака молочной железы / Н.И. Переводчикова, М.Б. Стенина // Российский онкологический журнал. — 2016. — Т. 21, № 1-2. — С. 18-25.
65. Перельмутер, В.М. Прениша как отсутствующее звено концепции метастатических ниш, объясняющее избирательное метастазирование злокачественных опухолей и форму метастатической болезни / В.М. Перельмутер, В.Н. Манских // Биохимия. — 2012. — Т. 77, № 1. — С. 130-139.
66. Петри А. Наглядная статистика в медицине / А. Петри, К. Сэбин. — М.: ГЕОТАР-МЕД, 2003. — 144 с.
67. Поддубная, И.В. Эпидемиологическая программа скрининга HER2-статуса у больных раком молочной железы: результаты 2014 года / И.В. Поддубная, Г.А. Франк, Р.И. Ягудина и др. // Современная онкология. — 2015. — Т. 17, № 3. — С. 53-60.
68. Попов, Л.С. Генетически запрограммированная смерть клеток (апоптоз) / Л.С. Попов, Л.И. Корочкин // Генетика. — 2004. — Т. 40, № 2. — С. 149-166.
69. Практические рекомендации RUSSCO по лекарственному лечению злокачественных опухолей — М., 2014. — С. 93-106. — Режим доступа: [www.rosoncweb.ru/standarts/RUSSCO/07-2.pdf](http://www.rosoncweb.ru/standarts/RUSSCO/07-2.pdf)
70. Ребриков, Д.В. ПЦР в реальном времени. 5-е издание / Под редакцией Д.В. Ребрикова — М.: Издательство «БИНОМ», 2014. — 223 с.
71. Свердлов, Е.Д. Многомерная сложность рака. Нужны простые решения / Е.Д. Свердлов // Биохимия. — 2016. — Т. 81, № 7. — С. 962-970.

72. Семенов, Н.Н. С-концевой телопептид коллагенна I типа в моче — фактор прогноза при метастатическом поражении скелета у больных раком молочной железы / Н.Н. Семенов, Н.В. Любимова, Н.Е. Кушлинский, М.Р. Личиницер // Технологии живых систем. — 2012. — Т. 9, № 3. — С. 3-7.
73. Семиглазов, В.Ф. Адьювантная эндокринотерапия рака молочной железы // Материалы II Международной ежегодной конференции «Проблемы диагностики и лечения рака молочной железы» / В.Ф. Семиглазов, В.В. Семиглазов, А.В. Клецель. — СПб, 2005. — С. 72-78.
74. Сергеева, Н.С. Клиническая значимость серологических опухолевых маркеров / Н.С. Сергеева, Н.В. Маршутина // Вместе против рака. — 2008, № 2. — С. 10-21.
75. Сергиенко, В.И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В.И. Сергиенко, И.Б. Бондарева. — М.: ГЕОТАР-МЕД, 2006.
76. Стахеева, М.Н. Цитокины и злокачественный рост / М.Н. Стахеева, Н.Н. Бабышкина, Н.В. Чердынцева // Сибирский онкологический журнал. — 2003, № 2. — С. 79.
77. Стенина, М.Б. Опухоли женской репродуктивной системы. Рак молочной железы // Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний / М.Б. Стенина. — М.: Практическая медицина, 2015. — С. 241.
78. Стенина, М.Б. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака молочной железы / М.Б. Стенина, Л.Ю. Владимирова, О.А. Гладков и др. // Злокачественные опухоли. — 2015. — № 4. — С. 99-115.
79. Стрижаков, А.Н. Роль инсулиноподобных факторов роста, их транспортных белков и растворимого Fas в патогенезе полипов и рака эндометрия в постменопаузе / А.Н. Стрижаков, Н.Е. Кушлинский, М.Н. Шахламова и др. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2012. — Т. 11, № 4. — С. 13-19.
80. Телетаева, Г.М. Цитокины и противоопухолевый иммунитет / Г.М. Телетаева // Практическая онкология. — 2007. — Т. 8, № 4. — С. 211-218.

81. Тимофеев, Ю.С. Инсулиноподобные факторы роста и связывающие их белки у больных новообразованиями костей / Н.Е. Кушлинский, Ю.С. Тимофеев, И.В. Бабкина и др. // Технологии живых систем. — 2012. — Т. 9, № 9. — С. 33-37.

82. Фесик, Е.А. Характеристика гематогенного метастазирования при двухстороннем раке молочных желез / Е.А. Фесик, Н.В. Крахмаль, М.В. Завьялова и др. // Сибирский онкологический журнал. — 2014. — № 6. — С. 40-44.

83. Чевкина, Е.М. Экзосомы и передача эпигенетической информации опухолевыми клетками / Е.М. Чевкина, А.М. Щербаков, А.Ю. Журавская, С.Е. Семина, А.В. Комельков, М.А. Красильников // Успехи молекулярной онкологии. — 2015. — № 3. — С. 8-20.

84. Чикина, А.С. Метастазирование: клеточные механизмы и их регуляция / А.Ю. Александрова // Молекулярная биология. — 2014. — Т. 48, № 2. — С. 195-213.

85. Шадрина, А.С. Матриксные металлопротеиназы: структура, функции, генетический полиморфизм / А.С. Шадрина, И.В. Терешкина, Я.З. Плиева и др. // Патогенез. — 2017. — Т. 15, № 2. — С. 14-23.

86. Щербаков, А.М. Клинические перспективы исследования ключевых компонентов NF-κB-сигнального пути в опухолях больных раком молочной железы / А.М. Щербаков, Е.С. Герштейн, Н.Е. Кушлинский // Технологии живых систем. — 2013. — Т. 10, № 2. — С. 66-72.

87. Щербаков, А.М. Молекулярные механизмы гормональной резистентности рака молочной железы / А.М. Щербаков, М.А. Красильников, Н.Е. Кушлинский // Бюлл. Экспер. Биол. Мед. — 2013. — Т. 155, № 3. — С. 363-377.

88. Abbasova, S.G. Cancer and soluble FAS / S.G. Abbasova, M.M. Vysotskii, L.K. Ovchinnikova, M.N. Obusheva et al. // Bull. Exp. Biol. Med. — 2009. — Vol. 148, N 4. — P. 638-642.

89. Akkiprik, M. The subcellular localization of IGFBP5 affects its cell growth and migration functions in breast cancer / M. Akkiprik, L. Hu, A. Sahin et al. // *BMC Cancer*. — 2009. — Vol. 9. — P. 103-113.
90. Allen, N.E. Serum insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3 concentrations and prostate cancer risk: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition / N.E. Allen, T.J. Key, P.N. Appleby et al. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* — 2007. — Vol. 16, N 6. — P. 1121-1127.
91. Allinen, M. Molecular Characterization of the tumour microenvironment in breast cancer / M. Allinen, R. Beroukhi, L. Cai et al. // *Cancer Cell*. — 2004. — Vol. 6. — P. 17-32.
92. Ambruzova, Z. Association of IL-6 and CCL2 gene polymorphisms with the outcome of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation / Z. Ambruzova, F. Mrazek, L. Raida et al. // *Bone Marrow Transplantation*. — 2009. — Vol. 44. — P. 227-235.
93. Andres, S.A. Expression of urokinase-type plasminogen activator (uPA), its receptor (uPAR), and inhibitor (PAI-1) in human breast carcinomas and their clinical relevance / S.A. Andres, A.B. Edwards, J.L. Wittliff // *J. Clin. Lab. Anal.* — 2012. — Vol. 26, N 2. — P. 93-103.
94. Annecke, K. uPA and PAI-1 in breast cancer: review of their clinical utility and current validation in the prospective NNBC-3 trial / K. Annecke, M. Schmitt, U. Euler et al. // *Adv. Clin. Chem.* — 2008. — Vol. 45. — P. 31-45.
95. Arnold, J.T. Comparative effects of DHEA vs. testosterone, dihydrotestosterone, and estradiol on proliferation and gene expression in human LNCaP prostate cancer cells / J.T. Arnold, H. Le, K.K. McFann et al. // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* — 2005. — Vol. 288, N 3. — P. E573-584.
96. Arnqvist, H.J. The role of igf-system in vascular insulin resistance / H.J. Arnqvist // *Horm. Metab. Res.* — 2008. — Vol. 40, N 9. — P. 588-592.
97. Bach, L.A. Insulin-like growth factor-binding protein-6 and cancer / L.A. Bach, P. Fu, Z. Yang // *Clin. Sci. (Lond)*. — 2012. — Vol. — 124, N 4. — P. 215-229.

98. Bach, L.A. Endothelial cells and the IGF system / L.A. Bach // *J. Mol. Endocrinol.* — 2015. — Vol. 54, N 1. — P. 1-13.
99. Baglietto, L. Circulating insulin-like growth factor-I and binding protein-3 and the risk of breast cancer / L. Baglietto, D.R. English, J.L. Hopper et al. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* — 2007. — Vol. 16, N 4. — P. 763-768.
100. Baker, A.H. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities / A.H. Baker, D.R. Edwards, G. Murphy // *J. Cell Sci.* — 2002. — Vol. 115, N 19. — P. 3719-3727.
101. Baker, E.A. Plasminogen activator system, vascular endothelial growth factor, and colorectal cancer progression / E.A. Baker, F.G. Bergin, D.J. Leaper // *Mol. Pathol.* — 2000. — Vol. 53, N 6. — P. 307-312.
102. Baker, E.A. The plasminogen activator and matrix metalloproteinase systems in colorectal cancer: relationship to tumour pathology / E.A. Baker, D.J. Leaper // *Eur. J. Cancer.* — 2003. — Vol. 39, N 7. — P. 981-988.
103. Beauchamp, M.C. Targeting insulin and insulin-like growth factor pathways in epithelial ovarian cancer / M.C. Beauchamp, A. Yasmeen, A. Knafo, et al. // *J. Oncol.* — 2010. — Vol. 2010. — P. 257058.
104. Begum, F.D. The prognostic value of plasma soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) levels in stage III ovarian cancer patients / F.D. Begum, C.K. Hogdall, S.K. Kjaer et al. // *Anticancer Res.* — 2004. — Vol. 24, N 3b. — P. 1981-1985.
105. Belfiore, A. The role of insulin receptor isoforms and hybrid insulin/IGF-I receptors in human cancer / A. Belfiore // *Curr. Pharm. Des.* — 2007. — Vol. 13, N 7. — P. 671-686.
106. Bewick, M. Soluble Fas (CD95) is a prognostic factor in patients with metastatic breast cancer undergoing high-dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation / M. Bewick, M. Conlon, A.M. Parissenti et al. // *J. Hematother Stem Cell Res.* — 2000. — Vol. 10, N 6. — P. 759-768.

107. Bewick, M. Evaluation of sICAM-1, sVCAM-1, and sE-Selectin levels in patients with metastatic breast cancer receiving high-dose chemotherapy / M. Bewick, M. Conlon, H. Lee et al. // *Stem Cells Dev.* — 2004. — Vol. 13, N 3. — P. 281-294.

108. Bhargava, R. Insulin-like growth factor receptor-1 (IGF-1R) expression in normal breast, proliferative breast lesions, and breast carcinoma / R. Bhargava, S. Beriwal, K. McManus et al. // *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* — 2011. — Vol. 19, N 3. — P. 218-225.

109. Bhowmick, N.A. Tumor-stroma interactions / N. A. Bhowmick, H. Moses // *Curr. Opin. Genet. Devel.* — 2005. — Vol. 15. — P. 97-101.

110. Blanchard, F. The role of IL-6 cytokines on bone remodeling and bone tumors / F. Blanchard, L. Duplomb, M. Baudhuin et al. // *Cytokine growth factor.* — 2009. — Vol. 20, N 1. — P.19-28.

111. Blick, T. Thompson E. Epithelial mesenchymal transition traits in human breast cancer cell lines parallel the CD44(hi)/CD24 (lo/-) stem cell phenotype in human breast cancer / T. Blick, H. Hugo, E. Widodo et al. // *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia.* — 2010. — Vol. 15, N 2. — P. 235-252.

112. Bonanni, B. Effect of low dose tamoxifen on the insulin-like growth factor system in healthy women / B. Bonanni, H. Johansson, S. Gandini et al. // *Breast Cancer Res. Treat.* — 2001. — Vol. 69, N 1. — P. 21-27.

113. Borugian, M.J. Prostate cancer risk in relation to insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3: a prospective multiethnic study / M.J. Borugian, J.J. Spinelli, Z. Sun et al. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* — 2008. — Vol. 17, N 1. — P. 252-254.

114. Brahmkhatri, V.P. Insulin-like growth factor system in cancer: novel targeted therapies / V.P. Brahmkhatri, C. Prasanna, H.S. Atreya // *Biomed. Res. Int.* — 2015. — P. 538019.

115. Brand, K. Treatment of colorectal liver metastases by adenoviral transfer of tissue inhibitor of metalloproteinases-2 into the liver tissue / W. Arnold, K. Brand, A.H. Baker et al. // *Cancer Res.* — 2000. — Vol. 60, N 20. — P. 5723-5730.



116. Breast cancer / Dutch Guideline, version 2.0, 2012  
[/www.oncoline.nl/breastcancer](http://www.oncoline.nl/breastcancer)

117. Brock, M. Interleukin-6 Modulates the Expression of the Bone Morphogenic Protein Receptor Type II Through a Novel STAT3-microRNA Cluster 17/92 Pathway / M. Brock, M. Trenkmann, R.E. Gay et al. // *Circulation Research*. — 2009. — Vol. 104. — P. 1184-1191.

118. Brock, M. Interleukin-6 Modulates the Expression of the Bone Morphogenic Protein Receptor Type II Through a Novel STAT3-microRNA Cluster 17/92 pathway / M. Brock, M. Trenkmann, R.E. Gay et al. // *Circ. Res.* — 2009. — Vol. 104, N 10. — P. 1184-1189.

119. Bruchim, I. IGF-binding protein-3-induced growth inhibition and apoptosis do not require cell surface binding and nuclear translocation in human breast cancer cells, Targeting IGF-1 signaling pathways in gynecologic malignancies / I. Bruchim, H. Werner // *Expert. Opin. Ther. Targets*. — 2013. — Vol. 17, N 3. — P. 307-320.

120. Bruchim, I. The IGF hormonal network in endometrial cancer: functions, regulation, and targeting approaches / I. Bruchim, R. Sarfstein, H. Werner // *Front Endocrinol (Lausanne)*. — 2014. — Vol. 5. — P. 76.

121. Butt, A.J. IGF-binding protein-3-induced growth inhibition and apoptosis do not require cell surface binding and nuclear translocation in human breast cancer cells / K.A. Fraley, S.M. Firth, R.C. Baxter // *Endocrinology*. — 2002. — Vol. 143, N 7. — P. 2693-2699.

122. Cakarovski, K. Novel inhibitors of urokinase-type plasminogen activator and matrix metalloproteinase expression in metastatic cancer cell lines / J.Y. Leung, C. Restall, A. Carin-Carlson et al. // *Int. J. Cancer*. — 2004. — Vol. 110, N 4. — P. 610-616.

123. Camirand, A. Inhibition of insulin-like growth factor-1 receptor signaling enhances growth-inhibitory and proapoptotic effects of gefitinib (Iressa) in human breast cancer cells / A. Camirand, M. Zakikhani, F. Young et al. // *Breast Cancer Res.* — 2005. — Vol. 7, N 4. — P. R570-R579.

124. Campbell, M.J. IGF status is altered by tamoxifen in patients with breast cancer / M.J. Campbell, J.V. Woodside, J.A. Secker-Walker et al. // *Mol. Pathol.* — 2001. — Vol. 54, N 5. — P. 307-310.

125. Cantley, L.C. The phosphoinositide 3-kinase pathway / L.C. Cantley // *Science.* — 2002. — Vol. 296. — P. 1655-1657.

126. Cascino, I. Three functional soluble forms of the human apoptosis-inducing Fas molecule are produced by alternative splicing / I. Cascino, G. Fiucci, G. Papoff et al. // *J. Immunol.* — 1995. — Vol. 154, N 6. — P. 2706-2713.

127. Celiker, M.Y. Inhibition of Wilms' tumor growth by intramuscular administration of tissue inhibitor of metalloproteinases-4 plasmid DNA / M.Y. Celiker, M. Wang, E. Atsidaftos et al. // *Oncogene.* — 2001. — Vol. 20, N 32. — P. 4337-4343.

128. Chan, C.C. Increased matrix metalloproteinase 2 concentration and transcript expression in advanced colorectal carcinomas / C.C. Chan, M. Menges, H.D. Orzechowski et al. // *Int. J. Colorectal Dis.* — 2001. — Vol. 16, N 3. — P. 133-140.

129. Chang, F. Signal Transduction mediated by the Ras=Raf=MEK=ERK pathway from cytokine receptors to transcription factors: potential targeting for therapeutic intervention / F. Chang, L.S. Steelman, J.T. Lee et al. // *Leukemia.* — 2003. — Vol. 17. — P. 263-293.

130. Chantrain, C.F. Mechanisms of pericyte recruitment in tumour angiogenesis: a new role for metalloproteinases / C.F. Chantrain, P. Henriot, S. Jodele // *Eur. J. Cancer.* — 2006. — Vol. 42, N 3. — P. 310-318.

131. Chavey, C. Oestrogen receptor negative breast cancers exhibit high cytokine content / F. Bibeau, S. Gourgou-Bourgade, S. Burlinchon et al. // *Breast Cancer Res.* — 2007. — Vol. 9, N 1. — P. R15.

132. Chen, C. Prostate carcinoma incidence in relation to prediagnostic circulating levels of insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding protein-3, and insulin / C. Chen, S.K. Lewis, L.F. Voigt et al. // *Cancer.* — 2004. — Vol. 103, N 1. — P. 76-84.

133. Chen, C. Prostate Cancer Risk in Relation to Selected Genetic Polymorphisms in Insulin-like Growth Factor-I, Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3, and Insulin-like Growth Factor Receptor / C. Chen, R. Freeman, L.F. Voigt et al. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* — 2006. — Vol. 15. — P. 2461-2466.

134. Chimal-Ramírez, G.K. MMP1, MMP9, and COX2 expressions in promonocytes are induced by breast cancer cells and correlate with collagen degradation, transformation-like morphological changes in MCF-10A acini, and tumor aggressiveness / G.K. Chimal-Ramírez, N.A. Espinoza-Sánchez, D. Utrera-Barillas et al. // *Biomed. Res. Int.* — 2013. — P. 279505.

135. Cho, T.J. Expression and role of interleukin-6 in distraction osteogenesis / T.J. Cho, J.A. Kim, C.Y. Chung et al. // *Calcified Tissue International.* — 2007. — Vol. 80, N 3. — P. 192-200.

136. Cho, Y.A. Prognostic role of interleukin-6, interleukin-8, and leptin levels according to breast cancer subtype / Y. A. Cho, M.K. Sung, J.Y. Yeon et al. // *Cancer Res. Treat: official journal of Korean Cancer Association.* — 2013. — Vol. 45, N 3. — P. 210-219.

137. Choi, J.H. Gonadotropins activate proteolysis and increase invasion through protein kinase A and phosphatidylinositol 3-kinase pathways in human epithelial ovarian cancer cells / J.H. Choi, K.C. Choi, N. Auersperg et al. // *Cancer Res.* — 2006. — Vol. 66, N 7. — P. 3912-3920.

138. Christopoulos, P.F. The role of the insulin-like growth factor-1 system in breast cancer / P. F. Christopoulos, P. Msaouel, M. Koutsilieris // *Mol. Cancer.* — 2015. — Vol. 14. — P. 43.

139. Ciftci, K. Growth factors and chemotherapeutic modulation of breast cancer cells / K. Ciftci, J. Su, P.B. Trovitch // *J. Pharm. Pharmacol.* — 2003. — Vol. 55, N 8. — P. 1135-1141.

140. Clark, J.E. Potential of p38 MAPK inhibitors in the treatment of ischaemic heart disease / J.E. Clark, N. Sarafraz, M.S. Marber // *Pharmacol. Ther.* — 2007. — Vol. 116. — P. 192-206.

141. Clemmons, D.R. Value of insulin-like growth factor system markers in the assessment of growth hormone status / R. D. Clemmons // *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.* — 2007. — Vol. 36. — P. 109-129.
142. Clemmons, D.R. Role of IGF-I in skeletal muscle mass maintenance / D.R. Clemmons // *Trends Endocrinol. Metab.* — 2009. — Vol. 20, N 7. — P. 349-356.
143. Cohen, T. Interleukin 6 induces the expression of vascular endothelial growth factor / T. Cohen, D. Nahari, L.W. Cerem et al. // *J. Biol. Chem.* — 1996. — Vol. 271, N 2. — P. 736-741.
144. Colao, A. The GH-IGF-I axis and the cardiovascular system: clinical implications / A. Colao // *Clin. Endocrinol.* — 2008. — Vol. 69, N 3. — P. 347-358.
145. Collins, H.M. Spectrum of matrix metalloproteinase expression in primary and metastatic colon cancer: relationship to the tissue inhibitors of metalloproteinases and membrane type-1-matrix metalloproteinase / H.M. Collins, T.M. Morris, S.A. Watson // *Br. J. Cancer.* — 2001. — Vol. 84, N 12. — P. 1664-1670.
146. Crudden, C. Targeting the IGF-1R: the tale of the tortoise and the hare / C. Crudden, A. Girnita, L. Girnita // *Front Endocrinol.* — 2015. — Vol. 6. — P. 64.
147. Curigliano, G. Clinical relevance of HER2 overexpression/amplification in patients with small tumor size and node-negative breast cancer / G. Curigliano, G. Viale, V. Bagnardi et al. // *J. Clin. Oncol.* — 2009. — Vol. 27, N 34. — P. 5693-5699.
148. Da Silva, B.B. Evaluation of insulin-like growth factor-I in postmenopausal women with breast cancer treated with raloxifene / B.B. Da Silva, D.S. Moita, C.G. Pires et al. // *Int. Semin. Surg. Oncol.* — 2007. — Vol. 4. — P. 18.
149. D'Amato, N.C. Evidence for phenotypic plasticity in aggressive triple-negative breast cancer: human biology is recapitulated by a novel model system / N.C. D'Amato, J. H. Ostrander, M.L. Bowie et al. // *PLoS One.* — 2012. — Vol. 7, N 9. — P. e45684.
150. Damodharan, U. Expression of MMP2 and MMP9 (gelatinases A and B) in human colon cancer cells / U. Damodharan, R. Ganesan, U.C. Radhakrishnan // *Appl. Biochem. Biotechnol.* — 2011. — Vol. 165, N 5-6. — P. 1245-1252.

151. Darmon, A.J. An interleukin-1beta converting enzyme-like protease is a key component of Fas-mediated apoptosis / A.J. Darmon, R.C. Bleackley // *J. Biol. Chem.* — 1996. — Vol. 271, N 36. — P. 21699-21702.

152. Daughaday, W.H. Somatomedin: proposed designation for sulphation factor / W.H. Daughaday, K. Hall, M.S. Raben et al. // *Nature.* — 1972. — Vol. 235, N 5333. — P. 107.

153. DeVita, V.T. DeVita, Hellman, and Rosenberg`s cancer: principles & practice of oncology / eds. V.T. DeVita, T.S. Lawrence, S.A. Rosnberg. — 8 th ed. — Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2008.

154. Denkert, C. Tumor-infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant chemotherapy with or without Carboplatin in human epidermal growth factor receptor 2-positive and triple-negative primary breast cancers / C. Denkert, G. von Minckwitz, J.C. Brase et al. // *J. Clin. Oncol.* — 2015. — Vol. 33, N 9. — P. 983-991.

155. Deryugina, E.I. Matrix metalloproteinases and tumor metastasis / E.I. Deryugina, J. P. Quigley // *Cancer Metastasis Rev.* — 2006. — Vol. 25, N 1. — P. 9-34.

156. Deryugina, E.I. Pleiotropic roles of matrix metalloproteinases in tumor angi-ogenesis: contrasting, overlapping and compensatory functions / E.I. Deryugina, J.P. Quigley // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2010. — Vol. 1803, N 1. — P. 103-120.

157. Dethlefsen, C. The role of intratumoral and systemic IL-6 in breast cancer / C. Dethlefsen, G. Højfeldt, P. Hojman // *Breast Cancer Res Treat.* — 2013. — Vol. 138, N 3. — P. 657-664.

158. Duffy, M.J. Proteases as prognostic markers in cancer / M.J. Duffy // *Clin. Cancer Res.* — 1996. — Vol. 2, N 4. — P. 613-618.

159. Duffy, M.J. The urokinase plasminogen activator system: a rich source of tu-mour markers for the individualised management of patients with cancer / M.J. Duffy, C. Duggan // *Clin. Biochem.* — 2004. — Vol. 37, N 7. — P. 541-548.

160. Duffy, M.J. Cancer invasion and metastasis: changing views / M.J. Duffy, P.M. McGowan, W.M. Gallagher // *J. Pathol.* — 2008. — Vol. 214, N 3. — P. 283-293.

161. Duffy, M.J. uPA and PAI-1 as biomarkers in breast cancer: validated for clinical use in level-of-evidence-1 studies / M.J. Duffy, P.M. McGowan, N. Harbeck et al. // *Breast Cancer Res.* — 2014. — Vol. 16, N 4. — P. 428.

162. Duggan, C. Associations of insulin-like growth factor and insulin-like growth factor binding protein-3 with mortality in women with breast cancer / C. Duggan, C.Y. Wang, M.L. Neuhouser et al. // *Int. J. Cancer.* — 2013. — Vol. 132, N 5. — P. 1191-1200.

163. Dupont, J. The insulin-like growth factor axis in cell cycle progression / J. Dupont, A. Pierre, P. Froment et al. // *Horm. Metab. Res.* — 2003. — Vol. 35. — P. 740-750.

164. Durai, R. Biology of insulin-like growth factor binding protein-4 and its role in cancer / R. Durai, M. Davies, W. Yang et al. // *Int. J. Oncol.* — 2006. — Vol. 28, N 6. — P. 1317-1325.

165. Egeblad, M. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression / M. Egeblad, Z. Werb // *Nat. Rev. Cancer.* — 2002. — Vol. 2, N 3. — P. 161-174.

166. Ellerbroek, S.M. Phosphatidylinositol 3-kinase activity in epidermal growth factor-stimulated matrix metalloproteinase-9 production and cell surface association / S.M. Ellerbroek, J.M. Halbleib, M. Benavidez et al. // *Cancer Res.* — 2001. — Vol. 61, N 5. — P. 1855-1861.

167. Eng-Wong, J. Effect of Raloxifene on Insulin-Like Growth Factor-I, Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-3, and Leptin in Premenopausal Women at High Risk for Developing Breast Cancer / J. Eng-Wong, S.D. Hursting, D. Venzon et al. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* — 2003. — Vol. 12. — P. 1468-1473.

168. Eppler, E. IGF-I in human breast cancer: low differentiation stage is associated with decreased IGF-I content / E. Eppler, J. Zapf, N. Bailer et al. // *European Journal of Endocrinology.* — 2002. — Vol. 146. — P. 813-821.

169. Fagan, D.H. Acquired resistance to tamoxifen is associated with loss of the type I insulin-like growth factor receptor: implications for breast cancer treatment

/ D.H. Fagan, R.R. Uselman, D. Sachdev et al. / *Cancer Res.* — 2012. — Vol. 72, N 13. — P. 3372-3380.

170. Ferguson, L.L. Triple-negative breast cancer: what is known about it? / L.L. Ferguson, B. Curran, M. Martinez et al. // *Clin. J. Oncol. Nurs.* — 2014. — Vol. 18, N 1. — P. E6-E11.

171. Fernandez-Garcia, B. Expression and prognostic significance of fibronectin and matrix metalloproteases in breast cancer metastasis / B. Fernandez-Garcia, N. Eiró, L. Marín et al. // *Histopathology.* — 2014. — Vol. 64, N 4. — P. 512-522.

172. Fernebro, E. Prognostic importance of the soluble plasminogen activator receptor, suPAR, in plasma from rectal cancer patients / E. Fernebro, R.R. Madsen, M. Ferno et al. // *Eur. J. Cancer.* — 2001. — Vol. 37, N 4. — P. 486-491.

173. Fersching, D.M. Apoptosis-related biomarkers sFAS, MIF, ICAM-1 and PAI-1 in serum of breast cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy / D.M. Fersching, D. Nagel, B. Siegele et al. // *Anticancer Research.* — 2012. — Vol. 32, N 5. — P. 2047-2058.

174. Fingleton, B. Matrix metalloproteinases: roles in cancer and metastasis / B. Fingleton // *Front Biosci.* — 2006. — Vol. 11. — P. 479-491.

175. Fister, S. GnRH-II antagonists induce apoptosis in human endometrial, ovarian, and breast cancer cells via activation of stress-induced MAPKs p38 and JNK and proapoptotic protein Bax / S. Fister, A. R. Günthert, B. Aicher et al. // *Cancer Res.* — 2009. — Vol. 69. — P. 6473-6481.

176. Frasca, F. The role of insulin receptors and IGF-I receptors in cancer and other diseases / F. Frasca, G. Pandini, L. Sciacca et al. // *Arch. Physiol. Biochem.* — 2008. — Vol. 114, N 1. — P. 23-37.

177. Freedland, S.J. Examining the Relationship Between Obesity and Prostate Cancer / S.J. Freedland, W. J. Aronson // *Rev. Urol.* — 2004. — Vol. 6, N 2. — P. 73-81.

178. French, L.E. Constitutive Fas ligand expression in several non-lymphoid mouse tissues: implications for immune-protection and cell turnover / L.E. French, J. Tschopp // *Behring Inst. Mitt.* — 1996. — Vol. 97. — P. 156-160.

179. Froesch, E.R. Antibody-suppressible and nonsuppressible insulin-like activities in human serum and their physiologic significance. An insulin assay with adipose tissue of increased precision and specificity / E. R. Froesch, H. Buergi, E.B. Ramseier et al. // *J. Clin. Invest.* — 1963. — Vol. 42. — P. 1816-1834.

180. Fujii, T. Urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 as a prognostic factor in human colorectal carcinomas / T. Fujii, T. Obara, S. Tanno et al. // *Hepatology*. — 1999. — Vol. 46, N 28. — P. 2299-2308.

181. Fürstenberger, G. Serum levels of IGF-1 and IGFBP-3 during adjuvant chemotherapy for primary breast cancer / G. Fürstenberger, E. Senn, R. Morant et al. // *Breast*. — 2006. — Vol. 15, N 1. — P. 64-68.

182. Furuya, M. Clarification of the active gelatinolytic sites in human ovarian neoplasms using in situ zymography / M. Furuya, H. Ishikura, R. Nemori, et al. // *Hum. Pathol.* — 2001. — Vol. 32, N 2. — P. 163-168.

183. Furuya, Y. Prognostic significance of serum soluble Fas level and its change during regression and progression of advanced prostate cancer / Y. Furuya, O. Nagakawa, H. Fuse // *Endocr. J.* — 2003. — Vol. 50, N 5. — P. 629-633.

184. Fushimi, M. Membranous and soluble forms of Fas antigen in cutaneous lupus erythematosus / M. Fushimi, F. Furukawa, Y. Tokura et al. // *J. Dermatol.* — 1998. — Vol. 25, N 5. — P. 302-308.

185. Gan, Y. Human GH receptor-IGF-1 receptor interaction: implications for GH signaling / Y. Gan, A. Buckels, Y. Liu et al. // *Mol. Endocrinol.* — 2014. — Vol. 28, N 11. — P. 1841-1854.

186. Gershtein, E.S. Tumor associated proteases — prognostic markers of colorectal cancer / E.S. Gershtein, E.A. Korotkova, V.V. Prorokov et al. // *Клиническая лабораторная диагностика (биомаркеры при различных патологиях)*. — 2013. — N 10. — P. 43-47.

187. Gershtein, E.S. Clinical prospects of IGF-signaling system components study in ovarian cancer patients / E.S. Gershtein, N.E. Kushlinskii // *Drug Metabol. Pers. Ther.* — 2015. — Vol. 30, N 2. — P. 75-85.



188. Gershtein, E.S. Insulin-like growth factors and IGF-binding proteins is diagnostic, prognostic and predictive tumor markers / E.S. Gershtein, N.E. Kushlinskii // Book of Abstracts Third International Conference on Radiation and Applications in Various Fields of Research. — Budva, Montenegro: Slovenska Plaza, 2015. — RAD Association Niš. — P. 2.
189. Gluz, O. WSG PLAN B trial: Evaluating efficacy of anthracycline-free chemotherapy in primary HER2-negative breast cancer after molecular-based risk assessment according to Oncotype DX and uPA/PAI-1 / O. Gluz, C. Liedtke, S. Markmann et al. // J. Clin. Oncol. — 2011. — Vol. 29. — P. 10594.
190. Goumas, F.A. Inhibition of IL-6 signaling significantly reduces primary tumor growth and recurrences in orthotopic xenograft models of pancreatic cancer / F.A. Goumas, R. Holmer, J.H. Egberts et al. // Int. J. Cancer. — 2015. — Vol. 137, N 5. — P. 1035-1046.
191. Grimberg, A. Mechanisms by which IGF-I may promote cancer / A. Grimberg // Cancer Biol. Ther. — 2003. — Vol. 2, N 6. — P. 630-635.
192. Guerreiro, A.S. IGF-IR: potential role in antitumor agents / A.S. Guerreiro, D. Boller, K.T. Doepfner et al. // Drug News Perspect. — 2006. — Vol. 19, N 5. — P. 261-272.
193. Guo, Y. Effects of siltuximab on the IL-6-induced signaling pathway in ovarian cancer / Y. Guo, J. Nemeth, C. O'Brien et al. // Clin. Cancer Res. — 2010. — Vol. 16, N 23. — P. 5759-5769.
194. Hadsell, D.L. Genetic manipulation of mammary gland development and lactation / D.L. Hadsell // Adv. Exp. Med. Biol. — 2004. — Vol. 554. — P. 229-251.
195. Hanahan, D. The hallmarks of cancer. The next generation. / D. Hanahan, R.A. Weinberg // Cell. — 2011. — Vol. 144(4). — P. 646-674.
196. Hara, T. Serum-soluble fas level determines clinical symptoms and outcome of patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma. / T. Hara, H. Tsurumi, M. Takemura et al. // Am. J. Hematol. — 2000. — Vol. 64(4). — P. 257-261.
197. Harbeck, N. Chemo-N0 Study Group. Ten-year analysis of the prospective multicenter Chemo-N0 trial validates American Society of Clinical Oncology (ASCO)-

recommended biomarkers uPA and PAI-1 for therapy decision making in node-negative breast cancer patients. / N. Harbeck, M. Schmitt, C. Meisner et al. // *Eur. J. Cancer.* — 2013. — Vol. 49, N 8. — P. 1825-1835.

198. Harbeck, N. Molecular and protein markers for clinical decision making in breast cancer: today and tomorrow / N. Harbeck, K. Sotlar, R. Wuerstlein et al. // *Cancer Treat Rev.* — 2014. — Vol. 40, N 3. — P. 434-444.

199. Hartog, H. The insulin-like growth factor 1 receptor in cancer: old focus, new future / H. Hartog, J. Wesseling, H.M. Boezen et al. // *Eur. J. Cancer.* — 2007. — Vol. 43, N 13. — P. 1895-1904.

200. Heinemann, V. Phase II randomised proof-of-concept study of the urokinase inhibitor upamostat (WX-671) in combination with gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with non-resectable, locally advanced pancreatic cancer. / V. Heinemann, M.P. Ebert, R.P. Laubender et al. // *Br. J. Cancer.* — 2013. — Vol. 108, N 4. — P. 766-770.

201. Heldin, C.H. Ligand-induced dimerization of growth factor receptors: variations on the theme / C.H. Heldin, A. Ostman // *Cytokine Growth Factor Rev.* — 1996. — Vol. 7, N 1. — P. 3-10.

202. Hernandez, W. IGF-1 and IGFBP-3 gene variants influence on serum levels and prostate cancer risk in African-Americans / W. Hernandez, C. Grenade, E.R. Santos et al. // *Carcinogenesis.* — 2007. — Vol. 28, N 10. — P. 2154-2159.

203. Herszenyi, L. Tumor marker utility and prognostic relevance of cathepsin B, cathepsin L, urokinase-type plasminogen activator, plasminogen activator in-hibitor type-1, CEA and CA 19-9 in colorectal cancer / L. Herszenyi, F. Farinati, R. Cardin et al. // *BMC Cancer.* — 2008. — Vol. 8. — P. 194.

204. Heskamp, S. Upregulation of IGF-1R expression during neoadjuvant therapy predicts poor outcome in breast cancer patients / S. Heskamp, O.C. Boerman, J.D. Molkenboer-Kuenen et al. // *PLoS One.* — 2015. — Vol. 10, N 2. — P. e0117745.

205. Higashi, Y. IGF-1, oxidative stress and atheroprotection / Y. Higashi, S. Sukhanov, A. Anwar et al. // *Trends Endocrinol. Metab.* — 2010. — Vol. 21, N 4. — P. 245-254.

206. Higashiguchi, T. Clinical impact of matrix metalloproteinase-7 mRNA expression in the invasive front and inner surface of tumor tissues in patients with colorectal cancer / T. Higashiguchi, T. Hotta, K. Takifuji et al. // *Dis. Colon Rectum*. — 2007. — Vol. 50, N 10. — P. 1585-1593.

207. Holmer, R. Interleukin-6: a villain in the drama of pancreatic cancer development and progression / R. Holmer, F.A. Goumas, G.H. Waetzig et al. // *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.* — 2014. — Vol. 13, N 4. — P. 371-380.

208. Hong, S.K. Serum measurements of testosterone, insulin-like growth factor 1, and insulin-like growth factor binding protein-3 in the diagnosis of prostate cancer among Korean men / S.K. Hong, B.K. Han, J.S. Jeong et al. // *Asian J. Androl.* — 2008. — Vol. 10, N 2. — P. 207-213.

209. Holmer, R. Interleukin-6 trans-signaling increases the expression of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules 5 and 6 in colorectal cancer cells. / R. Holmer, G.H. Wätzig, S. Tiwari et al. // *BMC Cancer*. — 2015. — Vol. 15, N 1. — P. 975.

210. Hong, S.W. Matrix metalloproteinase-2 and -7 expression in colo-rectal cancer / S.W. Hong, Y.K. Kang, B. Lee et al. // *J. Korean Soc. Coloproctol.* — 2011. — Vol. 27, N 3. — P. 133-139.

211. Hu, X.X. Inhibitory effects of antisense MMP-9 oligodeoxynucleotides on invasiveness and adherence of ovarian cancer cells / X.X. Hu, L. Li, D.R. Li et al. // *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*. — 2006. — Vol. 28, N 9. — P. 662-665.

212. Hurst, N.G. Elevated serum matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) concentration predicts the presence of colorectal neoplasia in symptomatic patients / N.G. Hurst, D.D. Stocken, S. Wilson et al. // *Br. J. Cancer*. — 2007. — Vol. 97, N 7. — P. 971-977.

213. Ibrahim, Y.H. Insulin-like growth factor-I and breast cancer therapy / Y.H. Ibrahim, D. Yee // *Clin. Cancer Res.* — 2005. — Vol. 11, N 2. — Pt. 2. — P. 944-950.

214. Irvin, W.J. What is triple-negative breast cancer? / W.J.Jr. Irvin, L.A. Carey // *Eur. J. Cancer*. — 2008. — Vol. 44. — P. 2799-2805.

215. Islekel, H. Matrix metalloproteinase-9,-3 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in colorectal cancer: relationship to clinicopathological variables / H. Islekel, G. Oktay, C. Terzi et al. // *Cell Biochem. Funct.* — 2007. — Vol. 25, N 4. — P. 433-441.

216. Izzo, L. Insulin-like growth factor-I (IGF-1), IGF-binding protein-3 (IGFBP-3) and mammographic features. / L. Izzo, M.L. Meggiorini, I. Nofroni et al. // *G. Chir.* — 2012. — Vol. 33, N 5. — P. 153-162.

217. Jacobsen, B. The urokinase receptor and its structural homologue C4.4A in human cancer: expression, prognosis and pharmacological inhibition / B. Jacobsen, M. Ploug // *Curr. Med. Chem.* — 2008. — Vol. 15, N 25. — P. 2559-2573.

218. Jameel, J.K. Radioresistance in carcinoma of the breast / J.K. Jameel, V.S. Rao, L. Cawkwell et al. // *Breast.* — 2004. — Vol. 13, N 6. — P. 452-460.

219. Janicke, F. Randomized adjuvant chemotherapy trial in high-risk, lymph node-negative breast cancer patients identified by urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1 / F. Janicke, A. Prechtel, C. Thomssen et al. // *J. Natl. Cancer Inst.* — 2001. — Vol. 93, N 12. — P. 913-920.

220. Jemal, A. Global cancer statistics. / A. Jemal, F. Bray, M.M. Center et al. // *CA. Cancer J. Clin.* — 2011. — Vol. 61, N 2. — P. 69-90.

221. Jiang, X.P. Reduction in serum IL-6 after vaccination of breast cancer patients with tumour-associated antigens is related to estrogen receptor status. / X.P. Jiang, D.C. Yang, R.L. Elliott et al. // *Cytokine.* — 2000. — Vol. 12, N 6. — P. 458-465.

222. Jodo, S. Elevated serum levels of soluble Fas/APO-1 (CD95) in patients with hepatocellular carcinoma. / S. Jodo, S. Kobayashi, Y. Nakajima, T. Matsunaga, N. Nakayama, N. Ogura, N. Kayagaki, K. Okumura, T. Koike // *Clin. Exp. Immunol.* — 1998. — Vol. 112, N 2. — P. 166-171.

223. Johansson, H. Factors associated with circulating levels of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 in 740 women at risk for breast cancer / H. Johansson, L. Baglietto, A. Guerrieri-Gonzaga et al. // *Breast Cancer Res. Treat.* — 2004. — Vol. 88, N 1. — P.63-73.

224. Jumper, C. Determination of the serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1) in patients with either advanced small-cell lung cancer or non-small-cell lung cancer prior to treatment / C. Jumper, E. Cobos, C. Lox // *Respir. Med.* — 2004. — Vol. 98, N 2. — P. 173-177.

225. Kaffashian, F. Socioeconomic effects on breast cancer survival: proportion attributable to stage and morphology / F. Kaffashian, S. Godward, T. Davies // *Br. J. Cancer.* — 2003. — Vol. 89, N 9. — P. 1693-1696.

226. Kahán, Z. Elevated levels of circulating insulin-like growth factor-I, IGF-binding globulin-3 and testosterone predict hormone-dependent breast cancer in postmenopausal women: a case-control study / Z. Kahán, J. Gardi, T. Nyári et al. // *Int. J. Oncol.* — 2006. — Vol. 29, N 1. — P. 193-200.

227. Kamat, A.A. The clinical relevance of stromal matrix metalloproteinase expression in ovarian cancer / A.A. Kamat, M. Fletcher, L.M. Gruman et al. // *Clin. Cancer. Res.* — 2006. — Vol. 12, N 6. — P. 1707-1714.

228. Kanzaki, M. Insulin receptor signals regulating GLUT4 translocation and actin dynamics / M. Kanzaki // *Endocr. J.* — 2006. — Vol. 53, N 3. — P. 267-293.

229. Key, T.J. Insulin-like growth factor 1 (IGF1), IGF binding protein 3 (IGFBP3), and breast cancer risk: pooled individual data analysis of 17 prospective studies / T.J. Key, P.N. Appleby, G.K. Reeves et al. // *Lancet Oncol.* — 2010. — Vol. 11, N 6. — P. 530-542.

230. Kim, T.D. Activity and expression of urokinase-type plasminogen activator and matrix metalloproteinases in human colorectal cancer / T.D. Kim, K.S. Song, G. Li et al. // *BMC Cancer.* — 2006. — Vol. 6. — P. 211.

231. Kishimoto, T. Interleukin-6: discovery of a pleiotropic cytokine / T. Kishimoto // *Arthritis Res. Ther.* — 2006. — Vol. 8. — Suppl. 2.

232. Klapper, D.G. Sequence analysis of somatomedin-c: confirmation of identity with insulin-like growth factor-i / D.G. Klapper, M.E. Svoboda, J.J. Van Wyk // *Endocrinology* — 1983. — Vol. 112, N. 6. — P. 2215-2217.

233. Knupfer, H. Significance of interleukin-6 (IL-6) in breast cancer (review) / H. Knupfer, R. Preiss // *Breast Cancer Res. Treat.* — 2007. — Vol. 102. — N 2. — P. 129-135.

234. Kolyadina, I.V. The results of changes in treatment strategy in Russian women with breast cancer stage I: Long-time experience / I.V. Kolyadina, I.V. Poddubnaya, G.A. Frank et al. // *J. Clin. Oncol.* — 2015. — Vol. 33. — Suppl. 15. — P. e11541.

235. Konno, R. Serum soluble fas level as a prognostic factor in patients with gynecological malignancies / R. Konno, T. Takano, S. Sato et al. // *Clin. Cancer Res.* — 2000. — Vol. 6, N 9. — P. 3576-3580.

236. Krook, A. IL-6 and metabolism — new evidence and new questions / A. Krook // *Diabetologia* — 2008. — Vol. 51, N 7. — P. 1097-1099.

237. Kulić, A. Low serum MMP-1 in breast cancer: a negative prognostic factor? / A. Kulić, N. Dedić Plavetić, J. Vrbanec, M. Sirotković-Skerlev // *Biomarkers.* — 2012. — Vol. 17, N 5. — P. 416-421.

238. Kushlinskii, N.E. Matrix metalloproteinases and plasminogen activation system components in pathogenesis and clinical course of colorectal cancer / N.E. Kushlinskii, E.S. Gershtein // *Pathogenesis* — 2013. — Vol. 11, N 2. — P. 3-10.

239. Kushlinskii, N.E. Interleukin-16 and bone neoplasms / N.E. Kushlinskii, I.V. Babkina, E.A. Ten et al. // V International symposium. Interactions of the nervous and immune systems in health and disease (Saint Petersburg. June 23-26, 2015). SPb, 2015. — P. 37-38.

240. Kyosseva, S.V. Mitogen-activated proteinkinase signaling / S.V. Kyosseva // *Int. Rev. Neurobiol.* — 2004. — Vol. 59. — P. 201-220.

241. Langenskiold, M. Differential prognostic impact of uPA and PAI-1 in colon and rectal cancer / M. Langenskiold, L. Holmdahl, E. Angenete et al. // *Tumour Biol.* — 2009. — Vol. 30, N 4. — P. 210-220.

242. Larsson, O. Role of insulin-like growth factor 1 receptor signalling in cancer / O. Larsson, A. Girnita, L. Girnita // *Br. J. Cancer.* — 2007. — Vol. 96. — P. R2-6.

243. Lau, M.T. Gonadotropins induce tumor cell migration and invasion by increasing cyclooxygenases expression and prostaglandin E (2) production in human ovarian cancer cells / M.T. Lau, A.S. Wong, P.C. Leung // *Endocrinology*. — 2010. — Vol. 151, N 7. — P. 2985-2993.

244. Laviola, L. The IGF-I signaling pathway / L. Laviola, A. Natalicchio, F. Giorgino // *Curr. Pharm. Des.* — 2007. — Vol. 13, N 7. — P. 663-669.

245. Levitt, R.J. Growth inhibition of breast epithelial cells by celecoxib is associated with upregulation of insulin-like growth factor binding protein-3 expression / R.J. Levitt, J. Buckley, M.J. Blouin et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2004. — Vol. 316, N 2. — P. 421-428.

246. Li, D. Identification of novel breast cancer subtype-specific biomarkers by integrating genomics analysis of DNA copy number aberrations and miRNA-mRNA dual expression profiling / D. Li, H. Xia, Z. Li et al. // *Biomed. Res. Int.* — 2015. — Vol. 2015. — Article ID 746970.

247. Lin, C.W. IGF-I plus E2 induces proliferation via activation of ROS-dependent ERKs and JNKs in human breast carcinoma cells / C.W. Lin, L.Y. Yang, S.C. Shen et al. // *J. Cell. Physiol.* — 2007. — Vol. 212. — P. 666-674.

248. Lin, M.T. IL-6 induces AGS gastric cancer cell invasion via activation of the c-Src/RhoA/ROCK signaling pathway / M.T. Lin, B.R. Lin, C.C. Chang et al. // *Int. J. Cancer*. — 2007. — Vol. 120, N 2. — P. 2600-2608.

249. Lin, M.Z. The role of insulin-like growth factor binding protein-3 in the breast cancer cell response to DNA-damaging agents. / M.Z. Lin, K.A. Marzec, J.L. Martin et al. // *Oncogene*. — 2012. — Vol. 33, N 1. — P. 85-96.

250. Ling, Y. Tyrosine phosphorylation of the  $\beta 3$ -subunit of the V $\beta 3$  integrin is required for membrane association of the tyrosine phosphatase SHP-2 and its further recruitment to the insulin-like growth factor I receptor / Y. Ling, L.A. Maile, D.R. Clemmons // *Mol. Endocrinol.* — 2003. — Vol. 17. — P. 1824-1833.

251. Linseman, D.A. Insulin-like growth factor-I blocks Bcl-2 interacting mediator of cell death (Bim) induction and intrinsic death signaling in cerebellar

granuloneurons / D.A. Linseman, R.A. Phelps, R.J. Bouchard et al. // *J. Neurosci.* — 2002. — Vol. 22. — P. 9287-9297.

252. Liotta, L.A. Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen / L.A. Liotta, K. Tryggvason, S. Garbisa et al. // *Nature* — 1980. — Vol. 284, N 5751. — P. 67-68.

253. Livi, L. Prognostic value of positive human epidermal growth factor receptor 2 status and negative hormone status in patients with T1a/T1b, lymph node-negative breast cancer / L. Livi, I. Meattini, C. Saieva et al. // *Cancer* — 2012. — Vol. 118, N 13. — P. 3236-3243.

254. Llorens-Martin, M. Mechanisms mediating brain plasticity: igf1 and adult hippocampal neurogenesis / M. Llorens-Martin, I. Torres-Aleman, J.L. Trejo // *Neuroscientist* — 2009. — Vol. 15, N 2. — P. 134-1489.

255. Lockshin R.A. Programmed cell death: history and future of a concept. / R.A. Lockshin // *J Soc Biol.* — 2005. — Vol. 199, N. 3. — P. 169-173.

256. Loi, S. Tumor infiltrating lymphocytes are prognostic in triple negative breast cancer and predictive for trastuzumab benefit in early breast cancer: results from the FinHER trial / S. Loi, S. Michiels, R. Salgado et al. // *Ann. Oncol.* — 2014. — Vol. 25. — P. 1544-1550.

257. Look, M.P. Pooled analysis of prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in 8377 breast cancer patients / M.P. Look, W.L. van Putten, M.J. Duffy et al. // *J. Natl. Cancer Inst.* — 2002. — Vol. 94. — N 2. — P. 116-128.

258. Lu, P. The extracellular matrix: a dynamic niche in cancer progression / P. Lu // *J. Cell Biol.* — 2012. — Vol. 196, N. 4. — P. 395-406.

259. Malemud, C.J. Matrix metalloproteinases (MMPs) in health and disease: an overview / C.J. Malemud // *Front Biosci.* — 2006. — Vol. 11. — P. 1696-1701.

260. Marchesi, F. Molecular mechanisms of perineural invasion, a forgotten pathway of dissemination and metastasis. / F. Marchesi, L. Piemonti, A. Mantovani et al. // *Cytokine Growth Factor Rev.* — 2010. — Vol. 21, N 1. — P. 77-82.



261. Maris, C. IGF-IR: a new prognostic biomarker for human glioblastoma. / C. Maris, N. D'Haene, A.L. Trépant et al. // *Br. J. Cancer*. — 2015. — Vol. 113, N 5. — P. 729-737.
262. Markkula, A. IL6 genotype, tumour ER-status, and treatment predicted disease-free survival in a prospective breast cancer cohort. / A. Markkula, M. Simonsson, C. Ingvar et al. // *BMC Cancer*. — 2014. — Vol. 14. — P. 759.
263. Matsumura, H. Necrotic death pathway in Fas receptor signaling / H. Matsumura, Y. Shimizu, Y. Ohsawa et al. // *J. Cell Biol.* — 2000. — Vol. 151, N 6. — P. 1247-1256.
264. McGowan, P.M. ADAM-17: a novel therapeutic target for triple negative breast cancer / P.M. McGowan, M. Mullooly, F. Caiazza et al. // *Ann Oncol.* — 2013. — Vol. 24, N 2. — P. 362-369.
265. Meinbach, D.S. Insulin-like growth factors and their binding proteins in prostate cancer: cause or consequence? / D.S. Meinbach, B.L. Lokeshwar // *Urol. Oncol.* — 2006. — Vol. 24, N 4. — P. 294-306.
266. Mekkawy, A.H. Involvement of urokinase-type plasminogen activator system in cancer: an overview / A.H. Mekkawy, M.H. Pourgholami, D.L. Morris // *Med. Res. Rev.* — 2014. — Vol. 34, N 5. — P. 918-956.
267. Meng, D. Insulin-like growth factor-I induces reactive oxygen species production and cell migration through Nox4 and Rac1 in vascular smooth muscle cells / D. Meng, D.D. Lv, J. Fang // *Cardiovasc. Res.* — 2008. — Vol. 80. — P. 299-308.
268. Meyer, F. A prospective study of the insulin-like growth factor axis in relation with prostate cancer in the SU.VI.MAX trial / F. Meyer, P. Galan, P. Douville et al. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* — 2005. — Vol. 14, N 9. — P. 2269-2272.
269. Minoo, P. Urokinase-type plasminogen activator is a marker of aggressive phenotype and an independent prognostic factor in mismatch repair-proficient colorectal cancer / P. Minoo, K. Baker, D. Baumhoer et al. // *Hum. Pathol.* — 2010. — Vol. 41, N 1. — P. 70-78.

270. Mita, K. Prognostic significance of insulin-like growth factor binding protein (IGFBP)-4 and IGFBP-5 expression in breast cancer / K. Mita, Z. Zhang, Y. Ando et al. // *Jpn. J. Clin. Oncol.* — 2007. — Vol. 37, N 8. — P. 575-582.

271. Mittendorf, E.A. Evaluation of the stage IB designation of the American Joint Committee on Cancer staging system in breast cancer / E.A. Mittendorf, K.V. Ballman, L.M. McCall et al. // *J. Clin. Oncol.* — 2015. — Vol. 33, N 10. — P. 1119-1127.

272. Miyamoto, S. Matrix metalloproteinase-7 triggers the matricrine action of insulin-like growth factor-II via proteinase activity on insulin-like growth factor binding protein 2 in the extracellular matrix / S. Miyamoto, M. Nakamura, K. Yano et al. // *Cancer Sci.* — 2007. — Vol. 98, N 5. — P. 685-691.

273. Mohanraj, L. Targeting IGF-I, IGFBPs and IGF-I receptor system in cancer: the current and future in breast cancer therapy / L. Mohanraj, Y. Oh // *Recent Pat. Anticancer Drug Discov.* — 2011. — Vol. 6, N 2. — P. 166-177.

274. Mori, I. Predictive and prognostic markers for invasive breast cancer / I. Mori, Q. Yang, K. Kakudo // *Pathol. Int.* — 2002. — Vol. 52, N 3. — P. 186-194.

275. Moschos, S.J. The role of the IGF system in cancer: from basic to clinical studies and clinical applications / S.J. Moschos, C.S. Mantzoros // *Oncology.* — 2002. — Vol. 64. — P. 317-332.

276. Mouawad, R. Effect of endogenous interleukin-6 on Fas (APO-1/CD95) receptor expression in advanced melanoma patients. *Cytokines* / R. Mouawad, E.C. Antoine, D. Khayat et al. // *Cell Mol Ther.* — 2000. — Vol. 6, N 3. — P. 135-140.

277. Mulrane, L. MicroRNAs: a new class of breast cancer biomarkers / L. Mulrane, R. Klinger, S.F. McGee et al. // *Expert. Rev. Mol. Diagn.* — 2014. — Vol. 14, N 3. — P. 347-363.

278. Murphy, G. Progress in matrix metalloproteinase research / G. Murphy, H. Nagase // *Mol. Aspects Med.* — 2008. — Vol. 29, N 5. — P. 290-308.

279. Nagata, S. The Fas death factor / S. Nagata, P. Golstein // *Science.* — 1995. — Vol. 267, N 5203. — P. 1449-1156.

280. Nelson, A.R. Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications / A.R. Nelson, B. Fingleton, M.L. Rothenberg et al. // *J. Clin. Oncol.* — 2000. — Vol. 18, N 5. — P. 1135-1149.

281. Nicosia, S.V. Oncogenic pathways implicated in ovarian epithelial cancer / S.V. Nicosia, W. Bai, J.Q. Cheng et al. // *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.* — 2003. — Vol. 17, N 4. — P. 927-943.

282. Niitsu, N. A high serum soluble Fas/APO-1 level is associated with a poor outcome of aggressive non-Hodgkin's lymphoma Leukemia / N. Niitsu, K. Sasaki, M. Umeda. — 1999. — Vol. 13, N. 9. — P.1434-40.

283. Nikkola, J. High serum levels of matrix metalloproteinase-9 and matrix metalloproteinase-1 are associated with rapid progression in patients with metastatic melanoma / J. Nikkola, P. Vihinen, M.S. Vuoristo et al. // *Clin. Cancer Res.* — 2005. — Vol. 11, N 14. — P. 5158-5166.

284. Oehm, A. Purification and molecular cloning of the APO-1 cell surface antigen, a member of the tumor necrosis factor/nerve growth factor receptor superfamily. Sequence identity with the Fas antigen / A. Oehm, I. Behrmann, W. Falk et al. // *J. Biol. Chem.* — 1992. — Vol. 267, N 15. — P. 10709-15.

285. Okuyama, M. Serum levels of soluble form of Fas molecule in patients with congestive heart failure / M. Okuyama, S. Yamaguchi, N. Nozaki et al. // *Am. J. Cardiol.* — 1997. — Vol. 79, N 12. — P. 1698-1701.

286. Patel, A.V. Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium. IGF-1, IGFBP-1, and IGFBP-3 polymorphisms predict circulating IGF levels but not breast cancer risk: findings from the Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium (BPC3) / A.V. Patel, I. Cheng, F. Canzian et al. // *PLoS One.* — 2008. — Vol. 3, N 7. — P. e2578.

287. Paul, W.E. Lymphocyte responses and cytokines / W.E. Paul, R.A. Seder // *Cell.* — 1994. — Vol. 76, N 2. — P. 241-251.

288. Pavelić, J. Biological & physiological aspects of action of insulin-like growth factor peptide family / J. Pavelić, T. Matijević, J. Knezević // *Indian J. Med. Res.* — 2007. — Vol. 125, N 4. — P. 511-522.

289. Paz, K. Targeted therapy of the insulin-like growth factor-1 receptor in cancer, / K. Paz, Y.R. Hadari // *Comb. Chem. High Throughput Screen.* — 2008. — Vol. 11, N 1. — P. 62-69.
290. Pazaitou-Panayiotou, K. Growth hormone-binding protein is directly and IGFBP-3 is inversely associated with risk of female breast cancer / K. Pazaitou-Panayiotou, T. Kelesidis, I. Kelesidis et al. // *Eur. J. Endocrinol.* — 2007. — Vol. 156, N 2. — P. 187-94.
291. Perik, P.J. Circulating apoptotic proteins are increased in long-term disease-free breast cancer survivors / P.J. Perik, W.T. Van der Graaf, E.G. De Vries et al. // *Acta Oncol.* — 2006. — Vol. 45, N 2. — P. 175-183.
292. Pichon, M.F. Variations of soluble fas and cytokeratin 18-Asp 396 neopeptide in different cancers during chemotherapy / M.F. Pichon, M. Labroquère, K. Rezaï et al. // *Anticancer Res.* — 2006. — Vol. 26, N 3B. — P. 2387-2392.
293. Platz, E.A. Plasma insulin-like growth factor-1 and binding protein-3 and subsequent risk of prostate cancer in the PSA era / E.A. Platz, M.N. Pollak, M.F. Leitzmann et al. // *Cancer Causes Control.* — 2005. — Vol. 16, N 3. — P. 255-262.
294. Pollak, M.N. Insulin-like growth factors and neoplasia / M.N. Pollak, E.S. Schernhammer, S.E. Hankinson // *Nat. Rev. Cancer.* — 2004. — Vol. 4. — P. 505-518.
295. Pollak, M. Insulin-like growth factor-related signaling and cancer development / M. Pollak // *Recent Results Cancer Res.* — 2007. — Vol. 174. — P. 49-53.
296. Pontoh, V. Profile of mRNA Expression of IL-6 and IL-10 in Breast Cancer Patients with or Without Chemotherapy / V. Pontoh, D. Sampepajung, A.A. Islam et al. // *Am. J. Clin. Exper. Med.* — 2015. — Vol. 3, N 3. — P. 99-104.
297. Preat, F. Differences in breast carcinoma immunohistochemical subtypes between immigrant Arab and European women / F. Preat, P. Simon, J.C. Noel // *Diagn Pathol.* — 2014. — Vol. 4, N 9. — P. 26.

298. Prueitt, R.L. Inflammation and IGF-I activate the Akt pathway in breast cancer / R.L. Prueitt, B.J. Boersma, T.M. Howe et al. // *Int. J. Cancer.* — 2007. — Vol. 120, N 4. — P. 796-805.
299. Purohit, A. Regulation of estrogen synthesis in postmenopausal women / A. Purohit, M.J. Reed // *Steroids.* — 2002. — Vol. 67, N 12. — P. 979-983.
300. Puzovic, V. Prognostic values of ETS-1, MMP-2 and MMP-9 expression and co-expression in breast cancer patients / V. Puzovic, I. Brcic, I. Ranogajec et al. // *Neoplasma.* — 2014. — Vol. 61, N 4. — P. 439-446.
301. Quan, L. Cytokine and cytokine receptor genes of the adaptive immune response are differentially associated with breast cancer risk in American women of African and European ancestry / L. Quan, Z. Gong, S. Yao et al. // *Int. J. Cancer.* — 2014. — Vol. 134, N 6. — P. 1408-1421.
302. Ramnath, N. Matrix metalloproteinase inhibitors / N. Ramnath, P.J. Creaven // *Curr. Oncol. Rep.* — 2004. — Vol. 6, N 2. — P. 96-102.
303. Ravishankaran, P. Clinical significance of preoperative serum interleukin-6 and C-reactive protein level in breast cancer patients / P. Ravishankaran, R. Karunanithi // *World J. Surg. Oncol.* — 2011. — Vol. 9. — P. 18.
304. Ren, H. IGF-BP-5 regulates muscle cell differentiation by binding to IGF-II and switching on the IGF-II auto-regulation loop / H. Ren, P. Yin, C. Duan // *J. Cell Biol.* — 2008. — Vol. 82, N 5. — P. 979-991.
305. Renehan, A.G. Insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF binding protein-3, and cancer risk: systematic review and meta-regression analysis / A.G. Renehan, M. Zwahlen, C. Minder et al. // *Lancet.* — 2004. — Vol. 363, N 9418. — P. 1346-1353.
306. Reynolds, A.R. Growth factor signalling in prostatic growth: significance in tumour development and therapeutic targeting / A.R. Reynolds, N. Kyprianou // *Br. J. Pharmacol.* — 2006. — Vol. 147. — Suppl. 2. — P. S144-S152.
307. Ribnikar, D. Breast cancer under age 40: a different approach / D. Ribnikar, J.M. Ribeiro, D. Pinto // *Curr Treat Options Oncol.* — 2015. — Vol. 16, N 4. — P. 334.

308. Rollison, D.E. Premenopausal levels of circulating insulin-like growth factor I and the risk of postmenopausal breast cancer / D. Rollison, C. Newschaffer, Y. Tao et al. // *Int. J. Cancer*. — 2006. — Vol. 118, N 5. — P. 1279-1284.

309. Rose-John, S. Interleukin-6 biology is coordinated by membrane-bound and soluble receptors: role in inflammation and cancer / S. Rose-John, J. Scheller, G. Elson et al. // *J. Leukoc Biol*. — 2006. — Vol. 80, N 2. — P. 227-236.

310. Rouanet, P. HER2 overexpression a major risk factor for recurrence in pT1a-bN0M0 breast cancer: results from a French regional cohort / P. Rouanet, P. Roger, E. Rousseau et al. // *Cancer Med*. — 2014. — Vol. 3, N 1. — P. 134-1342.

311. Roy, D.M. Candidate prognostic markers in breast cancer: focus on extracellular proteases and their inhibitors / D.M. Roy, L.A. Walsh // *Breast Cancer*. — 2014. — Vol. 6. — P. 81-91.

312. Russo, V.C. IGF1R: The dark horse in metabolism and cancer / V.C. Russo, W. J. Azar, S.W. Yau et al. // *Cytokine Growth Factor Rev*. — 2015. — Vol. 26, N 3. — P. 329-346.

313. Sale, E.M. Protein kinase B: Signalling roles and therapeutic targeting / E.M. Sale, G.J. Sale // *Cell Mol. Life. Sci*. — 2008. — Vol. 65. — P. 113-127.

314. Salmon, W.D. A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro / W.D. Salmon, W.H. Daughaday // *J. Lab. Clin. Med*. — 1957. — Vol. 49, N 6. — P. 825-836.

315. Saltiel, A. Insulin signal transduction and the regulation of glucose and lipid metabolism / A. Saltiel, C.R. Kahn // *Nature*. — 2001. — Vol. 414. — P. 799-806.

316. Samani, A.A. The role of the IGF system in cancer growth and metastasis: overview and recent insights / A.A. Samani, S. Yakar, D. LeRoith et al. // *Endocr. Rev*. — 2007. — Vol. 28, N 1. — P. 20-47.

317. Sanguinetti, A. Interleukin-6 and pro inflammatory status in the breast tumor microenvironment / A. Sanguinetti, D. Santini, M. Bonafè et al. // *World J. Surg. Oncol*. — 2015. — Vol. 13. — P. 129.

318. Sarkissyan, S. IGF-1 regulates Cyr61 induced breast cancer cell proliferation and invasion / S. Sarkissyan, M. Sarkissyan, Y. Wu et al. // *PLoS One*. — 2014. — Vol. 9, N 7. — P. e103534.

319. Sasser, A.K. Interleukin-6 is a potent growth factor for ER-alpha-positive human breast cancer / A.K. Sasser, N.J. Sullivan, A.W. Studebaker et al. // *Faseb J*. — 2007. — Vol. 21, N 13. — P. 3763-3770.

320. Sawada, K. C-Met overexpression is a prognostic factor in ovarian cancer and an effective target for inhibition of peritoneal dissemination and invasion / K. Sawada, A.R. Radjabi, N. Shinomiya et al. // *Cancer Res*. — 2007. — Vol. 67, N 4. — P. 1670-1679.

321. Schernhammer, E.S. Insulin-like growth factor-I, its binding proteins (IGFBP-1 and IGFBP-3), and growth hormone and breast cancer risk in The Nurses Health Study II / E.S. Schernhammer, J.M. Holly, D.J. Hunter et al. // *Endocr. Relat. Cancer*. — 2006. — Vol. 13, N 2. — P. 583-592.

322. Schiavon, G. Endocrine therapy for advanced/metastatic breast cancer / G. Schiavon, I.E. Smith // *Hematol. Oncol. Clin. North Am*. — 2013. — Vol. 27, N 4. — P. 715-736.

323. Schmidt, M. Long-term outcome prediction by clinicopathological risk classification algorithms in node-negative breast cancer--comparison between Adjuvant!, St Gallen, and a novel risk algorithm used in the prospective randomized Node-Negative-Breast Cancer-3 (NNBC-3) trial / M. Schmidt, A. Victor, D. Bratzel et al. // *Ann. Oncol*. — 2009. — Vol. 20, N 2. — P. 258-264.

324. Schulze-Osthoff, K. The Fas/APO-1 receptor and its deadly ligand / K. Schulze-Osthoff // *Trends Cell Biol*. — 1994. — Vol. 4, N 12. — P. 421-426.

325. Severi, G. Circulating Insulin-Like Growth Factor-I and Binding Protein-3 and Risk of Prostate Cancer / H.A. Morris, R.J. MacInnis, D.R. English et al. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev*. — 2006. — Vol. 15, N 6. — P.1137-1141.

326. Sheen-Chen, S.M. Circulating soluble Fas in patients with breast cancer / S.M. Sheen-Chen, H.S. Chen, H.L. Eng et al. // *World J Surg*. — 2003. — Vol. 27, N 1. — P. 10-13.

327. Shield, K. Alpha2beta1 integrin affects metastatic potential of ovarian carcinoma spheroids by supporting disaggregation and proteolysis / K. Shield, C. Riley, M.A. Quinn, et al. // *J. Carcinog.* — 2007. — Vol. 6. — P. 11-20.

328. Shimaoka, Y. Serum concentration of soluble Fas in patients with autoimmune thyroid diseases // Y. Shimaoka, Y. Hidaka, M. Okumura et al. // *Thyroid.* — 1998. — Vol. 8, N 1. — P. 43-47.

329. Shipitsin, M. Molecular definition of breast tumor heterogeneity / M. Shipitsin, L.L. Campbell, P. Argani et al. // *Cancer Cell.* — 2007. — Vol. 11, N 3. — P. 259-273.

330. Shriver, C.D. Molecular signatures of lymph node status by intrinsic subtype: gene expression analysis of primary breast tumors from patients with and without metastatic lymph nodes / C.D. Shriver, M.T. Hueman, R.E. Ellsworth // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* — 2014. — Vol. 33, N 1. — P. 782-788.

331. Singer, C.F. Insulin-Like Growth Factor (IGF)-I and IGF-II Serum Concentrations in Patients with Benign and Malignant Breast Lesion // C.F. Singer, M. Mogg, W. Koestler et al. // *Clin. Cancer Res.* — 2004. — Vol. 10. — P. 4003-4009.

332. Singh, P. Insulin receptor (IR) and insulin-like growth factor receptor 1 (IGF-1R) signaling systems: novel treatment strategies for cancer / P. Singh, J.M. Alex, F. Bast // *Med. Oncol.* — 2014. — Vol. 31, N 1. — P. 805-809.

333. Sisci, D. Crosstalk between IGF signaling and steroid hormone receptors in breast cancer / D. Sisci, E. Surmacz // *Curr. Pharm. Des.* — 2007. — Vol. 13, N 7. — P. 705-717.

334. Smith, T.J. Insulin-like growth factor-iregulation of Immune function: a potential therapeutic targeting autoimmune diseases? / T.J. Smith // *Pharmacol. Rev.* — 2010. — Vol. 62, N 2. — P. 199-236.

335. Solinas, G. Inflammation-mediated promotion of invasion and metastasis / G. Solinas, F. Marchesi, C. Garlanda et al. // *Cancer Metastasis Rev.* — 2010. — Vol. 29, N 2. — P. 243-248.



336. Song, J. Prognostic value of matrix metalloproteinase 9 expression in breast cancer patients: a meta-analysis / J. Song, H. Su, Y.Y. Zhou et al. // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* — 2013. — Vol. 14, N 3. — P. 1615-1621.

337. Sounni, N.E. Membrane type-matrix metalloproteinases and tumor progression / N.E. Sounni, A. Noel // *Biochimie.* — 2005. — Vol. 87, N 3-4. — P. 329-342.

338. Stattin, P. High levels of circulating insulin-like growth factor-I increase prostate cancer risk: a prospective study in a population-based nonscreened cohort / P. Stattin, S. Rinaldi, C. Biessy et al. // *J. Clin. Oncol.* — 2004. — Vol. 22, N 15. — P. 3104-3112.

339. Stewart, L.V. Role of insulin-like growth factor binding proteins in  $I\alpha_25$ -dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>-induced growth inhibition of human prostate cancer cells / L.V. Stewart, N.L. Weigel // *Prostate.* — 2005. — Vol. 64. — P. 9-19.

340. Sturtz, L.A. Outcome disparities in African American women with triple negative breast cancer: a comparison of epidemiological and molecular factors between African American and Caucasian women with triple negative breast cancer / L.A. Sturtz, J. Melley, K. Mamula et al. // *BMC Cancer.* — 2014. — Vol. — 4, N 14. — P. 62.

341. Suda, T. Membrane Fas ligand kills human peripheral blood T lymphocytes, and soluble Fas ligand blocks the killing / T. Suda, H. Hashimoto, M. Tanaka et al. // *J. Exp. Med.* — 1997. — Vol. 186, N 12. — P. 2045-2050.

342. Sullivan, N.J. Breast Cancer — Focusing Tumor Microenvironment, Stem cells and Metastasis / J.N. Sullivan; ed. by prof. Mehmet Gunduz, 2011. — P. 165-182.

343. Sullivan, N.J. Interleukin-6 induces an epithelial-mesenchymal transition phenotype in human breast cancer cells / N.J. Sullivan, A.K. Sasser, A.E. Axel et al. // *Oncogene.* — 2009. — Vol. 28, N 33. — P. 2940-2947.

344. Šunderić, M. Molecular forms of the insulin-like growth factor-binding protein-2 in patients with colorectal cancer / M. Šunderić, B. Đukanović, V. Malenković et al. // *Exp. Mol. Pathol.* — 2014. — Vol. 96, N 1. — P. 48-53.

345. Symowicz, J. Engagement of collagen-binding integrins promotes matrix metalloproteinase-9-dependent E-cadherin ectodomain shedding in ovarian carcinoma cells / J. Symowicz, B.P. Adley, K.J. Gleason et al. // *Cancer Res.* — 2007. — Vol. 67, N 5. — P. 2030-2039.

346. Tanaka, M. Downregulation of Fas ligand by shedding / M. Tanaka, T. Itai, M. Adachi et al. // *Nat Med.* — 1998. — Vol. 4, N 1. — P. 31-36.

347. Tanaka, T. Anti-interleukin-6 receptor antibody, tocilizumab, for the treatment of autoimmune diseases / T. Tanaka, M. Narazaki, T. Kishimoto // *FEBS Lett.* — 2011. — Vol. 585, N 23. — P. 3699-3709.

348. Tang, L. The urokinase plasminogen activator system in breast cancer invasion and metastasis / L. Tang, X. Han // *Biomed. Pharmacother.* — 2013. — Vol. 67, N 2. — P. 179-182.

349. Tang, L.C. Luminal B subtype: A key factor for the worse prognosis of young breast cancer patients in China / L.C. Tang, X. Jin, H.Y. Yang et al. // *BMC Cancer.* — 2015. — Vol. 29, N 15. — P. 201.

350. Tessari, A. Overview of diagnostic/targeted treatment combinations in personalized medicine for breast cancer patients / A. Tessari, D. Palmieri, S. Di Cosimo // *Pharmacogenomics Pers. Med.* — 2013. — Vol. 7. — P. 1-19.

351. Theriault, R.L. Age and survival estimates in patients who have node-negative T1ab breast cancer by breast cancer subtype / R.L. Theriault, J.K. Litton, E.A. Mittendorf et al. // *Clin Breast Cancer.* — 2011. — Vol. 11, N 5. — P. 325-331.

352. Torres-Aleman, I. Toward a comprehensive neurobiology of IGF-I / I. Torres-Aleman // *Dev. Neurobiol.* — 2010. — Vol. 70, N 5. — P. 384-396.

353. Traut, H. The effective dose equivalent: clarification and comments on the new dosage concept / H. Traut // *Rofo.* — 1989. — Vol. 151, N 4. — P. 487-490

354. Trinconi, A.F. Evaluation of the insulin-like growth factors (IGF) IGF-I and IGF binding protein 3 in patients at high risk for breast cancer / A.F. Trinconi, J.R. Filassi, J.M. Soares et al. // *Fertil. Steril.* — 2011. — Vol. 95, N 8. — P. 2753-2755.

355. Ueno, T. Circulating soluble Fas concentration in breast cancer patients / T. Ueno, M. Toi, T. Tominaga // *Clin. Cancer Res.* — 1999. — Vol. 5, N 11. — P. 3529-3533.

356. Ugurel, S. Increased soluble CD95 (sFas/CD95) serum level correlates with poor prognosis in melanoma patients / S. Ugurel, G. Rappl, W. Tilgen et al. / *Clin. Cancer Res.* — 2001. — Vol. 7, N 5. — P. 1282-1286.

357. Ulku, A.S. Essential role of Raf in Ras transformation and deregulation of matrix metalloproteinase expression in ovarian epithelial cells / A.S. Ulku, R. Schafer, C.J. Der // *Mol. Cancer Res.* — 2003. — Vol. 1, N 14. — P. 1077-1088.

358. Urban, P. Increased expression of urokinase-type plasminogen activator mRNA determines adverse prognosis in ErbB2-positive primary breast cancer / P. Urban, V. Vuaroqueaux, M. Labuhn et al. // *J. Clin. Oncol.* — 2006. — Vol. 24, N 26. — P. 4245-4253.

359. Vardatsikos, G. The Insulin-Like Growth Factor Family: Molecular Mechanisms / G. Vardatsikos, A. Sahu, A.K. Srivastava // *Redox Regulation, and Clinical Implications.* — 2009. — Vol. 11, N 5. — P. 1165-1190.

360. Varela-Nieto, I. Anti-apoptotic actions of insulin-like growth factors: lessons from development and implications in neoplastic cell transformation / I. Varela-Nieto, M. Hartl, I. Gorospe et al. // *Curr. Pharm. Des.* — 2007. — Vol. 13, N 7. — P. 687-703.

361. Verspaget, H.W. Prognostic value of plasminogen activators and their inhibitors in colorectal cancer / H.W. Verspaget, C.F. Sier, S. Ganesh et al. // *Eur. J. Cancer.* — 1995. — Vol. 31A, N 7-8. — P. 1105-1109.

362. Vestey, S.B. Immunohistochemical expression of insulin-like growth factor binding protein-3 in invasive breast cancers and ductal carcinoma in situ: implications for clinicopathology and patient outcome / S.B. Vestey, C.M. Perks, C. Sen et al. // *Breast Cancer Res.* — 2005. — Vol. 7, N 1. — P. R119-R129.

363. Visse, R. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry / R. Visse, H. Nagase // *Circ. Res.* — 2003. — Vol. 92, N 8. — P. 827-839.

364. Wang, F.Q. Inhibition of matrilysin expression by antisense or RNA interference decreases lysophosphatidic acid-induced epithelial ovarian cancer invasion / F. Q. Wang, Y. Smicun, N. Calluzzo et al. // *Mol. Cancer Res.* — 2006. — Vol. 4, N 11. — P. 831-841.

365. Wang, G.K. An interaction between insulin-like growth factor-binding protein 2 (IGFBP2) and integrin alpha5 is essential for IGFBP2-induced cell mobility / G.K.Wang, L. Hu, G.N. Fuller et al. // *J. Biol. Chem.* — 2006. — Vol. 281, N 20. — P. 14085-14091.

366. Wärnberg, F. Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery for ductal carcinoma in situ: 20 years follow-up in the randomized SweDCIS Trial / F. Wärnberg, H. Garmo, S. Emdin et al. // *J. Clin. Oncol.* — 2014. — Vol. 32, N 32. — P. 3613-3618.

367. Watanabe-Fukunaga, R. Lymphoproliferation disorder in mice explained by defects in Fas antigen that mediates apoptosis / R. Watanabe-Fukunaga, C. Brannan, N.G. Copeland et al. // *Nature.* — 1992. — Vol. 356, N 6367. — P. 314-317.

368. Weiss, J.M. Risk of prostate cancer among men in the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer Screening Trial / J. Ahn, S.C. Moore, D. Albanes, et al. // *Int. J. Cancer.* — 2007. — Vol. 121, N 10. — P. 2267-2273.

369. Werner, H. The insulin-like growth factor-I receptor gene: a downstream target for oncogene and tumor suppressor action / H. Werner, S. Maor // *Trends Endocrinol. Metab.* — 2006. — Vol. 17, N 6. — P. 236-242.

370. Westermarck, J. Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion / J. Westermarck, V.M. Kahari // *FASEB J.* — 1999. — Vol. 13, N 8. — P. 781-792.

371. Westin, S.N. Investigational agents in development for the treatment of ovarian cancer / S.N. Westin, T.J. Herzog, R.L. Coleman // *Invest. New Drugs.* — 2012. — Vol. 31, N 1. — P. 213-229.

372. White, M.F. IRS proteins and the common path to diabetes / M.F. White // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* — 2002. — Vol. 283, N 3. — P. 413-422.

373. WHO. Cancer control: knowledge into action: WHO guide for effective programmes: early detection, <http://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en>
374. WHO. International Agency for Research on Cancer: <http://www.iarc.fr>.
375. Williams, C. Cost-effectiveness of using prognostic information to select women with breast cancer for adjuvant systemic therapy / C. Williams, S. Brunskill, D. Altman et al. // *Health Technol. Assess.* — 2006. — Vol. 10, N 34. — P. 1-204.
376. Wu, M. Construction of antisense MT1-MMP vector and its inhibitory effects on invasion of human ovarian cancer cells / M. Wu, Y. Shi, L. Xi et al. // *J. Huazhong Univ. Sci. Technolog. Med. Sci.* — 2005. — Vol. 25, N 6. — P. 715-717.
377. Wu, M. Down-regulation of MT1-MMP expression suppresses tumor cell invasion in metastatic human SW626 ovarian cancer cells / M. Wu, G. Xu, L. Xi et al. // *Oncol. Rep.* — 2006. — Vol. 15, N 2. — P. 501-505.
378. Yadav, L. Matrix metalloproteinases and cancer — roles in threat and therapy / L. Yadav, N. Puri, V. Rastogi et al. / *Asian Pac. J. Cancer Prev.* — 2014. — Vol. 15, N 3. — P. 1085-1091.
379. Yakar, S. The role of the growth hormone/insulin-like growth factor axis in tumor growth and progression: Lessons from animal models / S. Yakar, D. Leroith, P. Brodt // *Cytokine Growth Factor Rev.* — 2005. — Vol. 16. — P. 407-420.
380. Yamasaki, K. Cloning and expression of the human interleukin-6 (B2/IFN beta 2) receptor / J.X. Ma, D.Z. Wang, L. Chao et al. // *Science.* — 1998. — Vol. 241. — P. 825-828.
381. Yerushalmi, R. Insulin-like growth factor receptor (IGF-1R) in breast cancer subtypes / R. Yerushalmi, K.A. Gelmon, S. Leung et al. // *Breast Cancer Res. Treat.* — 2012. — Vol. 132, N 1. — P. 131-142.
382. Yonehara, S. A cell-killing monoclonal antibody (anti-Fas) to a cell surface antigen co-downregulated with the receptor of tumor necrosis factor / S. Yonehara, A. Ishii, M. Yonehara // *J Exp Med.* — 1989. — Vol. 169, N 5. — P. 1747-56.
383. Yu, K.D. The associations between two polymorphisms in the interleukin-10 gene promoter and breast cancer risk / K.D. Yu, A.X. Chen, C. Yang et al. // *Breast cancer Res. Treat.* — 2012. — Vol. 131, N 1. — P. 27-31.

384. Zhang, S. Role of estrogen receptor (ER) alpha in insulin-like growth factor (IGF)-I-induced responses in MCF-7 breast cancer cells / S. Zhang, X. Li, R. Burghardt et al. // *J. Mol. Endocrinol.* — 2005. — Vol. 35, N 3. — P. 433-447.

385. Zhang, X. Tyrosine kinase signalling in breast cancer: Insulin-like growth factors and their receptors in breast cancer / X. Zhang, D. Yee // *Breast Cancer Res.* — 2000. — Vol. 2, N 3. — P. 170-175.

386. Zhou, H.Y. Activation of p70S6K induces expression of matrix metalloproteinase 9 associated with hepatocyte growth factor-mediated invasion in human ovarian cancer cells / H.Y. Zhou, A.S. Wong // *Endocrinology.* — 2006. — Vol. 147, N 5. — P. 2557-2566.

387. Zhu, W. IGFBP-4 is an inhibitor of canonical Wnt signalling required for cardiogenesis / W. Zhu, I. Shiojima, Y. Ito et al. // *Nature.* — 2008. — Vol. 454, N 7202. — P. 345-349.

388. Zhuang, D. Nitric oxide attenuate insulin-or IGF-I-stimulated aortic smooth muscle cell motility by decreasing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> levels: Essential role of cGMP, Ceacareanu / D. Zhuang, Y. Lin, B. Ceacareanu et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* — 2004. — Vol. 286. — P. H2103-H2112.

389. Zlobec, I. Combined histomorphologic and immunohistochemical phenotype to predict the presence of vascular invasion in colon cancer / I. Zlobec, S. Holler, L. Tornillo et al. // *Dis. Colon Rectum.* — 2009. — Vol. 52, N 6. — P. 1114-1121.

390. Zucker, S. Role of matrix metalloproteinases (MMPs) in colorectal cancer / S. Zucker, J. Vacirca // *Cancer Metastasis Rev.* — 2004. — Vol. 23, N 1-2. — P. 101-117.