

**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования Первый Московский государственный медицинский
университет имени И. М. Сеченова Министерства здравоохранения
Российской Федерации (Сеченовский Университет)**

ШАГИНА НАТАЛЬЯ ЮРЬЕВНА

**КЛИНИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ УРОВНЯ
ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ АНДРОГЕНА У БОЛЬНЫХ ТРОЙНЫМ
НЕГАТИВНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

14.01.12 – Онкология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Игорь Константинович Воротников

доктор медицинских наук,

Светлана Борисовна Поликарпова

Москва- 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1 Тройной негативный рак молочной железы.....	9
1.1.1 Эпидемиология и факторы риска развития трижды негативного рака молочной железы.....	9
1.1.2 Патогенез и клинико-морфологическая характеристика трижды негативного рака молочной железы	11
1.1.3 Диагностика трижды негативного рака молочной железы.....	15
1.1.4 Новые перспективы в лечении трижды негативного рака молочной железы	18
1.1.5 Рецепторы стероидных гормонов (андрогенов) и их роль в развитии рака молочной железы.....	22
1.2 Рецепторы андрогена как новый способ воздействия (таргетная терапия)	25
1.2.1 Общие представления о таргетной терапии	25
1.2.2 Антиандрогенная терапия, как одно из новых направлений таргетной терапии рака молочной железы	30
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	33
2.1 Общие сведения.....	33
2.2. Общая характеристика пациенток.....	35
2.3 Клинические особенности течения заболевания	38
2.4 Подготовка гистологических препаратов. Морфологическая характеристика инвазивного рака молочной железы.....	39
2.5 Подготовка иммуногистохимических препаратов. Оценка иммуногистохимической экспрессии рецепторов стероидных гормонов, рецептора к эпидермальному фактору роста 2 типа (ERBB2/Her2) и Ki-67	42
2.6. Морфологические характеристики опухоли	46
2.7. Лечение больных ТН РМЖ	50
2.8 Статистическая обработка данных.....	55
2.9 Распределение больных в зависимости уровня экспрессии рецепторов андрогена.....	55
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	56
3.1. Клинические особенности течения заболевания ТН РМЖ в зависимости от рецепторного статуса опухоли.....	56
3.2. Гистологические параметры опухоли в зависимости от рецепторного статуса ..	62

3.3. Лечение пациентов ТН РМЖ в зависимости от рецепторного статуса опухоли .	67
3.4. Отдаленные результаты лечения пациенток с ТН РМЖ в зависимости от рецепторного статуса опухоли.....	69
3.5. Клиническое и прогностическое значение уровня экспрессии рецепторов андрогена.....	72
3.6. Гистологические параметры опухоли в зависимости от уровня экспрессии рецепторов андрогена	77
3.7. Лечение больных АР+ ТН РМЖ в зависимости от уровня экспрессии рецепторов андрогена	81
3.8. Отдаленные результаты лечения пациенток с АР+ ТН РМЖ в зависимости от уровня экспрессии рецепторов андрогена	84
3.9. Общая и безрецидивная выживаемость пациенток с ТН РМЖ в зависимости от рецепторного статуса опухоли.....	86
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	91
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	92
ВЫВОДЫ	97
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	98
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	99
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	100

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Рак молочной железы (РМЖ) занимает ведущее место в структуре онкологической заболеваемости среди женского населения. Несмотря на достаточно высокий уровень ранней диагностики, ежегодно в мире регистрируется почти 700 тысяч новых случаев РМЖ [1]. К настоящему моменту сообщается более чем о ста факторах прогноза, дающих представление о биологическом поведении опухоли, а для предсказания клинического течения опухолевого процесса и исхода при РМЖ большое значение придается иммуногистохимическим маркерам [50]. В настоящее время по классификации St.Galen (2015) выделяют 4 биологических подтипа РМЖ. Одним из наиболее агрессивных биологических подтипов РМЖ является тройной негативный РМЖ (ТНРМЖ). Он характеризуется отсутствием в раковых клетках рецепторов эстрогена, прогестерона и гиперэкспрессии HER2, плохим прогнозом, низкой выживаемостью. Это крайне неблагоприятная форма рака с высоким уровнем метастазирования и низкой выживаемостью в сравнении с другими молекулярными подтипами РМЖ. Кроме того, указанный молекулярный подтип РМЖ характеризуется частым возникновением рецидивов заболевания, имеющих более агрессивное течение с еще более плохим прогнозом и низкими показателями общей выживаемости пациенток [103]. Доля ТНРМЖ, по данным разных авторов, колеблется от 11 до 22% РМЖ [94]. В связи с тем, что ТНРМЖ нечувствителен к некоторым из наиболее эффективных методов лечения не-ТНРМЖ, которые включают эндокринную и HER2-направленную терапию, изучение и поиск новых мишеней для воздействия на ТНРМЖ являются крайне актуальными. В последние годы появились публикации, в которых указывается на наличие ИГХ экспрессии рецепторов андрогенов (АР) клетками ТНРМЖ, что открывает перспективы разработки антигормональной терапии при этом типе РМЖ. АР коэкспрессируется с ER примерно в 80% случаев рака молочной железы [87], анализируя АР экспрессию в 211 случаях ТНРМЖ, отметил

увеличение общей смертности в AR негативной группе в 83% случаев. Более того, McGhan et al. (2014 г.) обнаружили, что AR экспрессии соответствует более высокая клиническая стадия и увеличение частоты наличия метастазов в подмышечных лимфоузлах. Напротив, в некоторых исследованиях AR позитивные ТНРМЖ характеризовались уменьшением частоты наличия метастазов в лимфоузлах, меньшими размерами опухоли, более высокой дифференцировкой. Возможно, эти различия связаны с разными подходами к оценке позитивности AR экспрессии (>0 или $\geq 10\%$). Так же, по данным китайских авторов, ТНРМЖ у женщин, проживающих на юге Китая, составляет около 25% всех РМЖ в этой стране, характеризуется выраженной семейностью поражения и неблагоприятным прогнозом [100]. В то же время Е. Tokunaga и соавт., исследовав популяцию больных ТНРМЖ в другой части Китая (Шанхай), пришли к выводу о более благоприятном, чем у пациентов из западных стран, прогнозе заболевания [98]. В российской популяции больных ТНРМЖ уровень иммуногистохимической экспрессии AR в опухоли не имел детальной оценки.

В настоящее время цитотоксическая химиотерапия является единственным методом лечения ТНРМЖ. Несколько исследований показали, что ТНРМЖ имеет более высокий уровень полного лечебного патоморфоза (pCR), чем гормон-позитивный рак молочной железы при лечении неoadъювантной химиотерапией (НАХТ).

Эффективность неoadъювантной терапии была убедительно продемонстрирована в проспективном исследовании 1118 пациентов с 1985 по 2004 год в онкологическом центре MD Anderson (Хьюстон, Техас); pCR был замечен у 22% пациентов с ТНРМЖ по сравнению с 11% пациентов с не-ТНРМЖ. Однако у пациентов с ТНРМЖ значительно хуже была 3х-летняя общая и безрецидивная выживаемость, что свидетельствует об относительно неблагоприятном прогнозе этого заболевания.

В исследовании С. Liedtke и соавт. ретроспективный анализ включал 1118 больных РМЖ I—III стадии, получавших НАПХТ. Полный морфологический регресс чаще наблюдался при тройном негативном фенотипе, чем при других

подтипах (22% и 11% соответственно). При этом безрецидивная и общая выживаемость больных с тройным негативным фенотипом была статистически значительно хуже, чем при других подтипах. По достижении полного морфологического регресса выживаемость больных с тройным негативным фенотипом не различалась от таковой в группе больных с другими подтипами [51].

Цель исследования:

Изучение влияния содержания и уровня экспрессии рецепторов андрогена на выживаемость больных тройным негативным раком молочной железы и оценка диагностической и прогностической значимости данного маркера.

Задачи исследования:

1. Изучить частоту встречаемости ТН РМЖ.
2. Оценить процентное соотношение AP+ ТН РМЖ и AP- ТН РМЖ.
3. Сравнить особенности клинического течения AP+ ТН РМЖ и AP- ТН РМЖ.
4. Изучить показатели общей и безрецидивной выживаемости больных AP+ ТН РМЖ и AP- ТН РМЖ.
5. Определить клинические факторы прогноза AP+ ТН РМЖ и AP- ТН РМЖ.

Научная новизна

Впервые были изучены и проанализированы особенности клинического течения, факторы прогноза, показатели общей и безрецидивной выживаемости среди пациенток с тройным негативным раком. В работе на большом клиническом материале изучены непосредственные и отдаленные результаты комплексного лечения больных тройным негативным раком молочной железы. Показано, что в исследованной группе пациентов положительная экспрессия рецепторов андрогена обнаружена достоверно чаще. Анализ показателей безрецидивной выживаемости продемонстрировал, что выше было значение показателя кумулятивной доли выживших при среди пациенток с высокоположительным AP+ ТН РМЖ.

Теоретическая и практическая значимость

Исследование имеет важное практическое значение. На основании литературных и собственных данных предложенное исследование позволит разработать рекомендации по наиболее рациональному комбинированному лечению больных тройным негативным раком молочной железы. Основываясь на выводах данной работы возможно рассмотрение рецепторов андрогенов в качестве потенциальной мишени для таргетной терапии.

Методы и методология исследования

Исследование выполнено на базе хирургического отделения №5, отделения патологической анатомии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, а также при участии кафедры онкологии и лучевой терапии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России в период с 2016-2019 гг. В рамках исследования были изучены 627 историй болезни пациенток с морфологически подтвержденным диагнозом рака молочной железы, получавших лечение в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» в период с 2008 по 2015гг., из которых было выделено 113 случаев заболевая с иммуногистохимически подтвержденным тройным негативным фенотипом. Иммуногистохимическое исследование уровня экспрессии рецепторов андрогена было выполнено в 85 случаях из 113

Положения выносимые на защиту

1. Доля ТН РМЖ среди всех случаев РМЖ составила 18% (n= 113).
2. Частота опухолей с положительной экспрессией рецепторов андрогена при ТН РМЖ составляет 58,8%, с отрицательной — 41,1% (p=0,05).
3. Особенности клинического течения AP+ТН РМЖ: преобладает Па стадия заболевания и II степень злокачественности опухоли (p=0,05); AP-ТН РМЖ: преобладает Па стадия заболевания и III степень злокачественности опухоли (p=0,05). Средний уровень Ki67 достоверно выше в группе с отрицательной экспрессией AP- 58,8±5,3% против 41,2±5,3% в группе AP+ (p=0,05). Лимфо-васкулярная инвазия преобладала в группе опухолей с отрицательной

экспрессией- 19 (54,3%) по сравнению с 16 случаями (32%) в группе AP+ ($p=0,05$).

4. Наличие положительной экспрессии рецепторов андрогена при ТН РМЖ не является независимым фактором прогноза и не оказывает влияние на показатели ОВ и БРВ больных ($p>0,05$). Достоверным фактором неблагоприятного прогноза возврата заболевания ТН РМЖ является низкий уровень экспрессии (0-3 балла согласно методике Allred) по сравнению с высоким. Показатели БРВ составили $38,7\pm 12,4\%$ в группе с низким уровнем экспрессии и $75,6\pm 9,5\%$ в группе AP+ ТН РМЖ с высокоположительной экспрессией ($p=0,05$).

Степень достоверности и апробация результатов

Апробация диссертационной работы состоялась 25 июня 2019 г. на совместной научной конференции кафедры онкологии института клинической медицины имени И.В. Склифосовского Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), кафедры онкологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова, кафедры онкологии РМАНПО, отделения онкологического хирургических методов лечения №5 (онкомамологии) НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина" Минздрава России, отделения хирургического №2 (диагностики опухолей) НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина" Минздрава России, отделения патанатомии НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина" Минздрава России.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Тройной негативный рак молочной железы

1.1.1 Эпидемиология и факторы риска развития трижды негативного рака молочной железы

ТН РМЖ представляет собой опухоль с тройным негативным фенотипом, в которой не экспрессируются молекулярные мишени – рецепторы стероидных половых гормонов (эстрогена и прогестерона) и отсутствует гиперэкспрессия гена HER-2 (ER-негативный/PR-негативный/HER2-негативный) [7;24;101]. Это крайне агрессивная форма рака с высоким уровнем метастазирования и низкой выживаемостью в сравнении с другими подтипами РМЖ [1;84]. Кроме того, указанный подтип РМЖ характеризуется частым возникновением рецидивов заболевания, имеющих более агрессивное течение с еще более плохим прогнозом и низкими показателями общей выживаемости пациенток, что подтверждается рядом проведенных исследований [10;16].

Особенностью ТН РМЖ является его выраженная связь с наличием мутации генов BRCA, отвечающих за репарацию двухцепочечных разрывов ДНК. В большинстве случаев эти мутации являются наследуемыми, но встречаются также соматические мутации BRCA в опухолевой ткани [24;53;98]. Кроме того, для ТН РМЖ описаны варианты, при которых отсутствует выявляемая мутация генов BRCA, но опухоли имеют фенотип характерный для BRCA-ассоциированного рака и обусловленной BRCA мутацией генетической нестабильности [54;107].

Кроме того, по данным некоторых исследований при ТН РМЖ отмечается высокая частота мутаций p53, определяющих в том числе и геномную нестабильность опухоли [84;93]. Авторами было установлено, что от экспрессии базальных маркеров напрямую зависит частота проявления местных рецидивов, а также выживаемость больных ТН РМЖ. Поэтому можно сказать, что наличие иммуногистохимических признаков истинного базально-подобного генетического подтипа РМЖ свидетельствует о крайне неблагоприятном прогнозе [48;114].

Особенности эпидемиологии и факторов риска ТН РМЖ также свидетельствуют об особой биологии этого подтипа РМЖ. По данным различных исследований ТН РМЖ составляет от 10%-14% [1;22] до 22%-24% [27;44] всех гистологических вариантов РМЖ. При этом необходимо уточнить, что указанная частота ТН РМЖ во многом зависит от того, каких пороговых значений экспрессии рецепторов эстрогенов придерживаются авторы исследований.

В отличие от других подтипов РМЖ этот подтип чаще встречается у молодых женщин и женщин пременопаузального периода (до 50 лет) [46;68]. Преобладание ТН РМЖ в возрастной группе до 50 лет, возможно, является одним из объяснений худших результатов лечения молодых пациенток с РМЖ, наблюдаемых в настоящее время. Вероятность развития указанного подтипа опухолей молочной железы выше у женщин с ранним началом менархе, первой беременностью в более молодом возрасте, а также коротким периодом грудного вскармливания. Кроме того, некоторые исследования показали, что на развитие ТН РМЖ влияют беременности [27].

Существуют также данные о связи частоты ТН РМЖ с экологическими параметрами. По некоторым источникам [24] среди больных ТН РМЖ преобладают жители индустриально развитых областей и городов, но убедительной и всесторонней эпидемиологической проверке эти сведения не подвергались, и поэтому являются малообоснованными.

ТН РМЖ характерен для определенных этнических групп. Так, в США этой разновидностью РМЖ болеют чаще женщины афроамериканского и испанского происхождения. По данным Д.Д. Пакк и соавторами, сравнение частоты ТН РМЖ у афроамериканок и больных женщин белой расы показало существенное различие в пороге встречаемости данного подтипа РМЖ: 20,8% и 10,4% соответственно [44]. Также авторы, рассматривая результаты исследования, проведенного с целью изучения распределения молекулярных подтипов инвазивного РМЖ у коренных жительниц Западной Африки, отметили, что примерно в 75% случаев РМЖ не экспрессирует рецепторы гормонов и более чем у 50 % больных определялся базальный или неклассифицированный ТН-подтип

[34].

Эти результаты подтверждают данные исследования E. N. Lips, согласно которому частота ТН РМЖ среди европейских женщин составила 13,6%, в то время как среди афроамериканок этот показатель был на уровне 33,8% [114]. Причины этого пока до конца не ясны, но на сегодняшний день достоверно известно, что африканские женщины имеют более низкий показатель грудного вскармливания, отличаются конституциональными особенностями в виде избыточного веса и наличия метаболического синдрома, а также многодетностью. Все эти факторы по данным литературы являются факторами риска развития ТН РМЖ [3;8;26].

Таким образом, этиология ТН РМЖ связана с различными изменениями в организме. Причины могут быть вызваны гормональной перестройкой, ранней менструацией или нарушениями менструального цикла. Благоприятный фон для развития болезни создает избыток половых гормонов. Беременность, лактация и аборт также создают гормональный всплеск, повышая риск развития патологии.

1.1.2 Патогенез и клиничко-морфологическая характеристика трижды негативного рака молочной железы

Механизм развития ТН РМЖ во многом зависит от спровоцировавшей его причины. Рост новообразования вызывается накоплением атипичных клеток. Основным стимулятором роста новообразований этого типа по некоторым литературным данным считаются остаточные вирусные заболевания [3;24]. В недавно опубликованных исследованиях отмечено, что фактором предсказания и прогноза при ТН РМЖ может быть наличие инфильтрации опухоли лимфоцитами («иммунный» фенотип опухоли). По данным ретроспективного анализа проведенных исследований, наличие высокого содержания инфильтрирующих опухоль лимфоцитов приводило к снижению относительного риска прогрессирования на 21%, риска смерти – на 20% [8;13]. Однако данные этих исследований являются предварительными, отсутствует единая система оценки и градации степени инфильтрации опухоли и стромы лимфоцитами, и требуется

проведение дальнейших подтверждающих исследований в этой области.

По данным многих авторов, в пределах данного фенотипа РМЖ существует значительная молекулярная гетерогенность. В группу ТН РМЖ входит от 3 до 6 подтипов. Детальное изучение микроскопической структуры ТН РМЖ позволило выявить, что большинство опухолей имеет достаточно сходный фенотип. В частности, почти все случаи ТН РМЖ имеют фенотип низкодифференцированного рака с выраженным полиморфизмом опухолевых клеток, с наличием в центральных отделах опухолевого узла рубцово-измененной стромы, обширных некрозов и густых инфильтратов из клеток лимфоидного ряда – базальный фенотип [25;34;49]. Но тщательный анализ морфоструктуры РМЖ этого подтипа позволил выявить, что в группе ТН РМЖ встречаются низкодифференцированный протоковый, дольковый рак, рак с так называемыми атипичными медуллярными структурами и ряд редких подвидов РМЖ [44].

Причем критерии выделения этих подтипов на сегодняшний день остаются крайне противоречивыми, так как имеется мало данных об их прогностических различиях. Так, например, по данным Н.А. Нефедова, в результате проведенного исследования в трех группах пациенток, разделенных на основании экспрессии маркеров СК 5/6 и СК14 (null-фенотип, опухоль с базальными характеристиками и чистый базальноподобный рак), между выделенными подтипами ТН РМЖ статистически значимых различий не обнаружено, ввиду чего разделение на подтипы, основанное на экспрессии СК5/6 и СК14, представляется автором некорректным [41-43].

Молекулярно-генетический анализ ТН РМЖ показал, что только 70% таких опухолей являются истинно базальноподобными, остальные 30% представляют собой другие биологически различные молекулярные подтипы [53;67]. По данным Lehmann ВD кластерный анализ профиля экспрессии генов ТН РМЖ позволил выделить следующие его подтипы, имеющие разные профили: базальноподобный-1 (BL1), базальноподобный-2 (BL2), иммуномодулирующий (IM), мезенхимальный стволовоподобный (MSL), мезенхимальный (M), подтип с люминальными андрогеновыми рецепторами (LAR) [80;104].

В исследованиях Н.А. Нефедовой и Н.В. Даниловой получены данные о том, что среди всех подтипов ТН РМЖ преобладает протоковый гистологический тип (94,7 %), 3-я степень злокачественности (71,1%). Инфильтративные, метапластические раки и рак с нейроэндокринной дифференцировкой 2-3 степени злокачественности имеют значительно худший прогноз в сравнении с другими вариантами ТН РМЖ [41;42].

Е.Н. Середа с соавторами в процессе исследования целью которого было изучение особенностей морфологического строения и клинического течения ТН РМЖ получили данные о том, что среди больных с данным подтипом РМЖ наблюдается повышенная экспрессия BRCA1, Ki67 и p53. Это может являться дополнительным маркером агрессии ТН РМЖ [66].

Для ТН РМЖ характерно активное висцеральное метастазирование, грозящее быстрым ухудшением и смертью пациентки за короткий срок, в то время как характерные для других подтипов метастазы в кости даже без лечения могут долго не приводить к смерти больной [22;41]. Среди отдаленных метастазов при ТН РМЖ наиболее вероятным является его метастазирование в головной мозг и легкие, менее вероятным – в кости и печень.

По данным Д.А. Карселадзе, изучившим пациенток с ТН РМЖ, были выявлены следующие закономерности: данный подтип опухоли клинически преимущественно (в 60,2 %) представляет собой РМЖ I–II стадии со склонностью к раннему обширному гематогенному метастазированию, в том числе и в головной мозг (в 4,6 %). При ТН РМЖ у 12,5 % больных развивается двусторонний РМЖ, чаще метакронного типа. Причем с позиций традиционных гистологических классификационных схем, ТН РМЖ представлен гетерогенной группой опухолей с наличием самых разнообразных микроскопических структур – от протокового до медуллярного рака с лимфоидной стромой. Большинство этих опухолей, как отмечает автор, имеет высокую гистологическую степень злокачественности (в 75,7 %) [22-24].

И.В. Поддубная с соавторами по результатам проведенного исследования, в которое были включены 12 858 больных ТН РМЖ, также отметили, что наиболее

частой локализацией гематогенных метастазов данного подтипа РМЖ являются головной мозг и легкие (соотношение вероятностей составило 5,32 и 2,27 соответственно), а метастатическое поражение костей оказалось в конце списка с отношением вероятностей 0,23 [47-49]. Эти данные согласуются с информацией, полученной в ходе исследований другими авторами [32;33;59].

Наблюдения выявили, что рецидив заболевания развивается, как правило, в течение первых 3 лет после проведенного лечения, а длительность жизни после установления диагноза составляет около 5 лет. Причем промежуток времени от развития отдаленного рецидива до смерти пациенток с ТН РМЖ не превышает 9 месяцев, тогда как при других формах РМЖ этот промежуток времени составляет в среднем 22 месяца [3;6;15]. Наихудший, по сравнению с другими подтипами заболевания, прогноз ТН РМЖ подтверждается многочисленными исследованиями, как в отношении ранних стадий, так и в отношении диссеминированного заболевания. В популяционном анализе американских авторов, пациентки с ТН РМЖ имели статистически значимо худший прогноз вне зависимости от стадии заболевания [72;85;104].

Возможно, подобное поведение ТН РМЖ обусловлено его общими молекулярно-генетическими характеристиками (высокая пролиферативная активность, которая обеспечивает чувствительность к цитотоксической терапии, и, одновременно – высокую агрессивность заболевания). Но наиболее вероятным объяснением является значительная гетерогенность ТН РМЖ: в пределах одной и той же подгруппы, объединённой только отрицательным статусом трех рецепторов, есть опухоли с высокой чувствительностью к химиотерапии и благоприятным прогнозом, опухоли с высокой непосредственной чувствительностью к химиотерапии и неблагоприятным прогнозом, и опухоли нечувствительные к химиотерапии, но при этом обладающие различным прогнозом.

Клинически ТН РМЖ характеризуется редкой встречаемостью (10-20% от общего количества РМЖ), возрастом пациентов 40-60 лет (в предменопаузе), наследственной предрасположенностью, появлением безболезненного опухолевидного узла плотной консистенции, воспалительной или воспалительно-

инфильтративной формой, чаще всего по своему гистологическому строению опухоль представлена базалоидным типом, отмечается раннее метастазирование с появлением отдаленных и регионарных метастазов, быстрое и агрессивное прогрессирование и достаточно частое рецидивирование опухоли после радикальной терапии. Наиболее часто встречаемым вариантом морфологического строения опухоли при ТН РМЖ является инфильтративный протоковый рак высокой степени злокачественности [41;49;66].

1.1.3 Диагностика трижды негативного рака молочной железы

Диагностика РМЖ на доклинической стадии значительно повышает эффективность его лечения. Выявление ТН РМЖ основывается на применении нескольких общепринятых диагностических процедур (амнестические данные, клиничко-лабораторное исследование, радиологическое обследование). Наиболее распространенным методом диагностики РМЖ любого типа является рентгеновская и ультразвуковая маммография, которая позволяет обнаружить опухоли размером около 5 мм [14;24;65].

К основным косвенным признакам внутрипротокового РМЖ относится микрокальцификация, особенно очаговые ее скопления. С помощью трепано-биопсии или пункционной биопсии устанавливают патоморфологический диагноз.

Окончательная диагностика опухоли осуществляется гистологическим и еще более современным иммуногистохимическим методом, который широко распространен в онкологической практике [14;29]. Так, для определения HER-2/neu-статуса клеток РМЖ, то есть наличия или отсутствия в них амплификации соответствующего гена, в клинической практике применяют иммуногистохимический метод, а также генетические методы хромогенной и флюоресцентной гибридизации *in situ* (CISH и FISH). Иммуногистохимическое исследование является достаточно простым тестом, а метод FISH – в настоящее время самый объективный и точный [2;13].

При иммуногистохимическом методе исследования экспрессия HER-2/neu оценивается полуколичественным методом в плюсах (от 1 до 3+). HER-2/neu-

положительный статус РМЖ оценивается 3+ при интенсивной положительной реакции на мембране большинства клеток опухоли [18].

В основе методов хромогенной и флюоресцентной гибридизации *in situ* лежит подсчет флюоресцирующих меток («пятен») при FISH и позитивно окрашенных клеток – при CISH [2;28].

Одновременно с определением HER-2/neu-статуса РМЖ проводится иммуногистохимическое определение гормонального статуса опухоли с подсчетом числа клеток, экспрессирующих рецепторы к прогестерону и эстрогену, а также определяется индекс пролиферации опухолевых клеток Ki67 [13;28].

При стадировании заболевания должна быть использована система TNM с последующей группировкой опухоли по стадиям [19;34].

Диагноз ТН РМЖ так же, как и другие подтипы РМЖ основывается на гистопатологическом определении, которое ставится на основании иммуногистохимического метода исследования опухолевой ткани и исследования FISH, выявляющих экспрессию ЭР, ПР и HER-2 [29].

В настоящее время в диагностике ТН РМЖ безусловно рекомендовано исследование экспрессии рецепторов эстрогенов (ER), прогестерона (PgR), эпидермального фактора роста (HER - 2/new), а также маркера пролиферативной активности Ki-67. Уровень перечисленных маркеров имеет прогностическое значение и учитывается при планировании терапии данного подтипа опухоли [71].

Кроме клинико-морфологических параметров, в клинической онкологической практике широко применяются молекулярно-генетические маркеры. Большое распространение в последние годы получило разделение ТН РМЖ на базальноподобный и небазальноподобный подтипы. Стандартом данной идентификации ТН РМЖ является иммуногистохимическая панель, предложенная Nielsen et al., которая включает определение экспрессии СК 5/6 и EGFR. Возможно также использование и других базальных маркеров, например, таких как СК 14 и СК 17 [38;40].

В.И. Невожай и Е.С. Мюллер отмечают, что наличие или отсутствие

стероидных рецепторов является не только фактором, определяющим показанность эндокринной терапии у больных ТН РМЖ, но и прогностическим показателем в отношении жизни у больных с операбельными опухолями. Используются такие маркеры, как erbB-2/HER-2/neu, bcl-2, p53, рецепторы стероидных гормонов, Ki-67, отражающие разные стороны и уровни функционирования опухолевой клетки [40].

У молодых женщин с ТН РМЖ по мнению Э.А. Надырова целесообразным представляется определение мутационного статуса BRCA1, поскольку наличие этого подтипа РМЖ у больной моложе 50 лет повышает шанс обнаружения мутации BRCA1 в 10 раз [39].

По данным многих авторов получены результаты о том, что морфологически ТН РМЖ может быть представлен редкими формами (аденокистозный, медуллярный, слизистый и т.д.), которые характеризуются более благоприятным прогнозом и низкой эффективностью к проводимой химиотерапии, а в некоторых случаях полным отсутствием ответа на нее [41-44].

К сожалению, по результатам последних исследований, как отмечает Р.Н. Бабешкин, использование подобной дифференцировки говорит о существовании неоднородности внутри подгрупп и не позволяет четко ответить на вопросы, касающиеся выбора адьювантной терапии для больных ТН РМЖ [5]. Этот факт свидетельствует о необходимости вовлечения в процесс исследования новых молекулярно-генетических маркеров. Большой интерес в последнее время вызывает определение маркера клеточной пролиферации Ki-67 и рецепторов к эндотелиальному фактору роста (VEGFR), прогностическая и предсказательная роль которых при ТН РМЖ на сегодняшний день до конца не изучена.

Одной из современных методологий, применяемой при диагностике РМЖ, в частности для изучения внутриопухолевой гетерогенности, является лазерная микродиссекция, позволяющая прицельно выделять из тканей морфологически различающиеся клеточные варианты, что позволяет характеризовать свойства отдельных клонов опухоли как основу внутриопухолевой гетерогенности [26;27].

1.1.4 Новые перспективы в лечении трижды негативного рака молочной железы

Достижения молекулярной биологии принципиально изменили подходы к системному лечению РМЖ. Клинические решения по выбору оптимальных схем лечения принимаются в настоящее время на основе иммуногистохимической и молекулярно-генетических классификаций. Это привело к переходу от эмпирического к персонифицированному и индивидуализированному лечению. Основой для таких подходов являются знания об особенностях молекулярной эпидемиологии, гетерогенности, экспрессионных молекулярных подтипах, прогностических и предиктивных биомаркерах РМЖ [31;49].

Помимо наличия отрицательного тройного рецепторного статуса ТН РМЖ при выборе терапии принимается во внимание совокупность клинических, морфологических и молекулярно-генетических параметров опухоли этого подтипа. В связи с высокой пролиферационной активностью ТН РМЖ для него характерна высокая чувствительность к химиотерапии, которая является в настоящее время единственным видом системной терапии этого подтипа РМЖ, что связано с неэффективностью гормоно- и анти-HER2-терапии при данном подтипе РМЖ. При этом наиболее эффективными препаратами являются антрациклины, таксаны и их комбинации [56;58]

Каких-либо специальных режимов терапии при ТН РМЖ не разработано и данных, которые бы свидетельствовали о преимуществах какого-либо химиотерапевтического режима на сегодняшний день нет. Большинство проведенных исследований, на которых базируется представление о чувствительности ТН РМЖ к химиотерапии, являются ретроспективными, не обладают достаточной статистической мощностью, не имеют групп контроля и зачастую представляют противоречивые результаты [68].

В исследованиях, проведенных с участием больных ТН РМЖ при назначении четырех курсов предоперационной химиотерапии с применением эпирубина, цисплатина и 5% фторурацила с последующим назначением трех курсов лечения паклитакселом частота общих ответов составила около 86%, а

полных морфологических регрессий – примерно 40% [54;61].

При дефектах репарации ДНК, характерных для BRCA1-ассоциированного РМЖ, более эффективными препаратами являются цитостатики, направленные на поломки пути BRCA1 и нарушающие тем самым синтез ДНК путем образования межнитевых сшивок, в том числе и производные платины, эффективность которых показана в клинических исследованиях, проведенных М.Б. Стениной и М.А. Фроловой при терапии пациенток с BRCA1-ассоциированным РМЖ. Так, предоперационная терапия цисплатином в монорежиме позволила авторам достичь полных морфологических регрессий у 21% больных с ТН РМЖ [67;68].

В.В. Семиглазов с соавторами считают, что высокий пролиферативный потенциал ТН РМЖ определяет целесообразность применения интенсифицированных режимов химиотерапии с «уплотнением доз» цитотоксических препаратов с сокращением интервалов между курсами. При этом авторы также отмечают перспективность использования в химиотерапии ТН РМЖ производных платины, позволяющих увеличить частоту пПР до 62% [55-62].

Необходимо отметить, что исследования последних лет не позволяют сделать однозначный вывод о высокой эффективности препаратов платины у больных с ТН РМЖ так как частота пПР при проведении неoadьювантной химиотерапии с применением цисплатина колеблется по данным различных авторов от 22 [51;60] до 85% [36;45]. В связи с этим дальнейшим направлением исследований в области платиносодержащей химиотерапии при ТН РМЖ является выделение подгруппы пациенток, чувствительных к цисплатину. В частности, в качестве дополнительных маркеров оценки ответа на подобную химиотерапию указывается возможность использования белков p63 и p73 [4;30].

Проведенное Е.А. Рассказовой с соавторами исследование, целью которого являлось улучшение результатов лечения ТН РМЖ в процессе оценки эффективности различных режимов НАПХТ, в том числе в зависимости от наличия мутаций в генах BRCA 1,2 и CHEK2, показало высокую эффективность режимов НАПХТ у больных ТН РМЖ различных стадий, частота достижения

объективного ответа по данным авторов составила $90 \pm 4,7\%$, а лечебного патоморфоза IV степени – $50 \pm 7,9\%$ [54].

Кроме того, по данным А.М. Гагарина в отличие от других подтипов ТН РМЖ на ранних стадиях может оказаться истинно излечимым заболеванием, при котором адъювантная терапия не просто отдалает рецидив, а действительно полностью уничтожает микрометастазы [11]. При раннем ТН РМЖ в первые 3-5 лет после завершения лечения, как отмечает автор, риск прогрессирования заболевания несопоставимо выше, чем в других подгруппах. Но в последующем (спустя 5-7 лет после завершения терапии) риск возврата болезни при ТН РМЖ резко снижается, а после 7-8 лет рецидивы болезни больше не наблюдаются, что еще раз подтверждает необходимость дифференцированного подхода к анализу результатов лечения ранних стадий РМЖ в зависимости от подтипа опухоли [2;11].

Новым классом препаратов, активных при дефектах репарации ДНК, опосредованных дисфункцией BRCA1, являются ингибиторы PARP, которая активирует восстановление разрывов цепи ДНК, предотвращая при этом повреждение ДНК в опухолевых клетках, и является возможной терапевтической мишенью при BRCA-ассоциированном РМЖ в том числе и трижды негативном подтипе, о чем свидетельствуют доклинические исследования [9;35]. Обнадеживающие результаты были получены и в первых клинических исследованиях [52].

Так, в исследовании Ш. Tahany изучалась активность одного из ингибиторов PARP (BSI-201) в комбинации с гемцитабином и карбоплатином у больных с ТН РМЖ. По предварительным данным, добавление BSI-201 к химиотерапии привело к значительному улучшению контроля над болезнью (52 и 12%), выживаемости без прогрессирования (211 и 87 дней) и общей выживаемости (254 и 169 дней) [101;113].

Еще одной потенциальной мишенью для противоопухолевого воздействия при ТН РМЖ является мембранно-связанный цитокин TRAIL (Apo-2L, TL2) – недавно открытый фактор некроза опухоли. Для TRAIL идентифицированы 5

рецепторов, 2 из них (DR4 и DR5) являются трансмембранными белками, содержащими DED, к которым после связывания рецептора с лигандом привлекаются адаптерные белки, активирующие через DED каспазный каскад, функция 2 других (DcR1 и DcR2) рецепторов заключается в закреплении TRAIL при связывании с рецепторами, DED у этих рецепторов отсутствует. TRAIL может связывать также рецептор остеопротегерин, участвующий в процессах остеокластогенеза [86;113;114].

Некоторые исследователи полагают, что физиологические функции TRAIL заключены в поддержании иммунных механизмов и нормального клеточного развития. Имеются указания на то, что опухолевые клетки экспрессируют гораздо больше рецепторов DR4 и DR5, чем нормальные клетки. Вместе с тем, прямой противоопухолевый эффект TRAIL и его влияние на противоопухолевые эффекты клеток, которые могут активироваться этим цитокином, окончательно не установлены [61;82].

Повысить эффективность терапии ТН РМЖ можно только используя дифференцированный и персонифицированный подход, основанный на новой молекулярно-генетической классификации РМЖ или на ее аналоге – экспрессионной классификации РМЖ, в основу которой положен принцип иммуногистохимического разнообразия опухолевой ткани. Персонификация противоопухолевого лечения предполагает проведение терапии, основанной на изучении индивидуальных особенностей тканей не только первичной опухоли, но и ее метастазов [59].

Необходимо отметить, что в отношении ТН РМЖ не существует единого стандарта терапии. Нет ни одного руководства, содержащего специфические указания по лечению пациентов с данным заболеванием. Но на сегодняшний день проводится более 60 клинических исследований различных терапевтических подходов при ТН РМЖ, которые позволят в недалеком будущем глубже понять суть чрезвычайно агрессивной формы РМЖ и, вероятно, усовершенствовать методы борьбы с этим заболеванием.

1.1.5 Рецепторы стероидных гормонов (андрогенов) и их роль в развитии рака молочной железы

Помимо функционирования репродуктивной системы – стероидные гормоны влияют на деятельность мозга, гомеостаз костной ткани, свёртывание крови и т.д. К андрогенам, продуцируемым в организме женщины, относятся следующие гормоны: ДГАС, ДГА, АСл, тестостерон, ДГТ. В организме женщины андрогены синтезируются в основном в яичниках, надпочечниках и периферических тканях (жировой, молочной железе и т.п.) [32;33].

Исследования содержания андрогенов в молочной железе показали наличие тестостерона и ДГТ в нормальной ткани и опухоли, а также то, что их концентрация не зависит от уровня андрогенов в периферической крови [73;83].

Как отмечает ряд авторов AR-регулирующие гены широко варьируют в различных клеточных линиях особенно при патологии. Агонисты андрогена, такие как тестостерон и ДГТ, функционируют через закрепление с внутриклеточным AR. AR экспрессия как указывает Д. Тан выражена в нормальной ткани молочной железы и в клетках большинства биологических подтипов РМЖ [111]. Иммуногистохимически AR локализуется совместно с рецепторами эстрогена и прогестерона в эпителиальных клетках, но отсутствуют в миоэпителии и строме [111;112]. Ряд авторов указывает, что длительное лечение эстрогеном увеличивает риск развития РМЖ как у мужчин, так и у женщин через эстрогенную стимуляцию пролиферации эпителия молочной железы. Некоторые авторы полагают что существует дополнительный канцерогенный эффект метаболитами эстрогена [70;78;91].

Имеются публикации об уровнях андрогенных гормонов и их метаболитов в биологических жидкостях при РМЖ. В первом проспективном исследовании в этой области были найдены очень низкие уровни метаболитов андрогена в моче у женщин, в менопаузе у которых впоследствии развился РМЖ [76;102]. В связи с этим авторы предложили защитную роль андрогенов в возникновении РМЖ. Напротив, в недавнем проспективном исследовании женщин с предклимактерическим периодом между плазменным уровнем андрогена и

риском РМЖ различий обнаружено не было [88]. Кроме того, среди пременопаузальных женщин высокие уровни тестостерона и андрогена ассоциировались с увеличением риска развития инвазивной ER+ PR+ опухоли, хотя различия статистически были не достоверны [105].

В отдельных эпидемиологических исследованиях была обнаружена корреляция между циркуляцией андрогенов, в частности таких как тестостерон, и риском развития РМЖ. Однако эти данные сами авторы подвергают сомнению, вследствие того, что полученные уровни тестостерона и андростендиона были весьма вариабельны, а образцы крови в коллекциях не всегда были стандартизированы [88;109].

В исследовании Ф. Moinfar et al., уровни тестостерона и DHEA-S в слюне были статистически значимо ниже у пациенток с РМЖ, по сравнению с группой контроля, и эти различия были более выраженными у женщин после менопаузы. Пациентки с РМЖ, по сравнению с контролем, характеризовались низким уровнем андрогена и относительным дисбалансом половых гормонов, за счёт уровня эстрогенов [80].

Анализ эпидемиологических проспективных исследований о роли уровня андрогенных гормонов и их метаболитов в биологических жидкостях (плазма, моча, слюна) показывают, что результаты этих исследований можно разделить на 3 группы:

- 1) Повышенный уровень андрогенов связан с увеличением риска развития РМЖ [74;89];
- 2) Высокие уровни андрогенов обладают протекторным действием для возникновения РМЖ [79;91];
- 3) Связь между сывороточной концентрацией андрогенов и риском РМЖ отсутствует [97].

Таким образом, на сегодняшний день нет единого мнения о роли уровня андрогенов и их метаболитов в образцах биологических жидкостей на развитие РМЖ. Вместе с тем, в ряде публикаций о сложностях определения андрогенов и их метаболитов в биологических жидкостях, указывается на необходимость

исследования наличия AR в клетках РМЖ с помощью молекулярно-биологических, в том числе и иммуногистохимических методов [99;112].

Так, согласно данным проведенных в последние годы исследований предполагается наличие иммуногистохимической экспрессии AR клетками ТН РМЖ. По данным литературы RA экспрессируются в 10-90% всех случаев РМЖ и относятся к наиболее часто экспрессируемым ядерным рецепторам [74;109]. В проведенных ретроспективных исследованиях показано, что в ER+ и PR+ опухолях экспрессия AR широко варьирует и составляет по данным разных авторов от 9% [77;91] до 50% [88;99]. Чаще экспрессия хорошо выражена в ER+ опухолях с апокриновой дифференцировкой [109].

В исследовании И. Mrklic et al. представлен обзор AR при РМЖ, а также анализируется экспрессия AR среди достаточно большой выборки пациенток с РМЖ [90]. Авторами было проведено сопоставление значительного числа основных клиничко-морфологических характеристик РМЖ с его биологическими подтипами. Экспрессия AR была обнаружена, в основном, в ER+ опухолях и ассоциировалась с экспрессией прогестерона и вовлечением в процесс лимфатических узлов [90].

Представляется интересным, что ассоциация AR с этими факторами различалась в ER+ и ER- опухолях, что предполагает различную роль AR в патогенезе. Экспрессия AR в ТН РМЖ, по данным отдельных авторов, встречается приблизительно в 2% случаев [88;97]. По данным других авторов, AR экспрессируется в 10-43% ТН РМЖ, но прогностическая ценность AR экспрессии в этом подтипе РМЖ пока недостаточно ясна, хотя в некоторых исследованиях указывается на уменьшение смертности, а некоторые исследователи не находят влияние AR экспрессии [91] или отмечают лучший прогноз [97;102;109].

Например, В. Schippinger et al., анализируя AR экспрессию в 211 случаях ТН РМЖ, отметил в 83% увеличение общей смертности в AR негативной группе [88]. Более того, McGhan et al. обнаружили, что AR экспрессии соответствует более высокая клиническая стадия и увеличение частоты наличия метастазов в подмышечных лимфоузлах [86]. Напротив, в некоторых исследованиях AR

позитивные ТН РМЖ характеризуются уменьшением частоты наличия метастазов в лимфоузлах [74;109], меньшими размерами опухолями, более высокой дифференцировкой [111]. Возможно, эти различия связаны с разными подходами к оценке позитивности AR экспрессии (>0 или $\geq 10\%$) [97;111].

1.2 Рецепторы андрогена как новый способ воздействия (таргетная терапия)

1.2.1 Общие представления о таргетной терапии

Понятие генетической нестабильности опухоли появилось более 20 лет назад и уже тогда авторы прогнозировали, что именно характеристика генетических и фенотипических изменений в конкретной опухоли позволит индивидуализировать методы прогноза и назначения программы лечения у конкретного пациента.

Фундаментальные исследования в области молекулярной биологии, генетики, биотехнологии и генной инженерии привели к созданию новых лекарственных средств, которые получили название «таргетных» препаратов (от английского target – мишень, цель). Основной целью таргетной терапии является «точечное» воздействие на конкретные мишени – белки, рецепторы или гены, имеющие ключевое значение для развития и прогрессирования опухоли. В последнее десятилетие молекулярно-нацеленная, или таргетная, терапия занимает доминирующее место в мировых исследованиях в области онкологии [17;21;61].

Успешное применение таргетной терапии по мнению Т.Ю. Семиглазовой с соавторами возможно только на основе уточненного морфологического диагноза с определением иммунофенотипа опухоли, степени ее злокачественности и прогноза [63].

Принцип таргетной терапии заключается в использовании специфичных моноклональных антител к определенным клеточным детерминантам. По своей химической структуре таргетные средства подразделяют на антитела и низкомолекулярные ингибиторы.

По принципу действия таргетные препараты могут быть разделены на две основные группы:

- нацеленные на пути передачи сигнала в опухолевой клетке;
- нацеленные на уникальный фенотип опухолевой клетки [17].

Как отмечает ряд авторов по сравнению с конвенциональной химиотерапией таргетная терапия имеет ряд преимуществ:

- более низкая токсичность. В отличие от стандартной химиотерапии, для этого класса препаратов характерен другой профиль токсичности, зачастую имеющий тканеспецифический характер.

- индивидуализация назначения;

- таблетированные формы большинства препаратов, что исключает необходимость госпитализации и позволяет при лечении не менять больным свой образ жизни;

- использование таргетных препаратов позволяет улучшить клиническую эффективность лечения в целевых группах, а также снизить его себестоимость за счет отказа от заведомо неэффективных вмешательств [17;20;63].

Мишенями таргетных препаратов являются:

- факторы роста и их рецепторы, в первую очередь рецепторы EGF и VEGF;

- белки, осуществляющие проведение митогенных сигналов от рецепторных молекул;

- белки семейства Ras;

- нерцепторные тирозинкиназы;

- циклинзависимые киназы;

- молекулы, контролирующие апоптоз (Bcl2, p53 и др.);

- ангиогенез.

Необходимо уточнить, что большинство таргетных препаратов по мнению Т.Ю. Семиглазовой с соавторами не обладает способностью убивать или выраженно повреждать опухолевые клетки, то есть проявлять цитотоксическое воздействие, а лишь оказывают ингибирующее влияние на пролиферацию или

стимулируют дифференцировку опухолевых клеток за счет выключения механизмов, отвечающих за формирование злокачественного фенотипа, что характеризует их цитостатическое воздействие. В связи с этим, основным эффектом при использовании таргетной терапии является не полное излечение, а длительное сдерживание роста опухоли или уменьшение опухолевой массы [63].

Таргетные препараты, уже одобренные для терапии РМЖ или изучаемые в клинических исследованиях, согласно данным литературы можно разделить на следующие группы:

- препараты, направленные на конкретные мишени, характерные для определенного подтипа РМЖ;
- препараты, отвечающие за подавление микроокружения опухоли, обеспечивающего ее жизнедеятельность;
- препараты - ингибиторы сигнальных путей потенциально активные вне зависимости от молекулярного подтипа РМЖ [81].

Один из видов таргетной терапии основывается на блокировании в клетках РМЖ рецептора эпидермального фактора роста 2-го типа – HER-2/neu [112]. Сверхэкспрессия (амплификация) гена HER-2/neu в клетках РМЖ во многом определяет прогноз заболевания. Выявление сверхэкспрессии этих рецепторов в опухолевых клетках позволило разработать и внедрить методы селективного или таргетного воздействия на опухоль.

В настоящее время в практике используют два основных класса таргетных препаратов:

- моноклональные антитела, которые получили наибольшее распространение (герцептин, трастузумаб);
- ингибиторы молекул тирозинкиназы (гефитиниб, гапатиниб).

Под воздействием герцептина уменьшается пролиферативная активность опухолевых клеток и повышается их чувствительность к цитостатикам и факторам апоптоза, а наличие подтвержденного HER-2/neu-положительного статуса РМЖ является показанием к применению этого препарата [81].

Попытки улучшить результаты лечения больных РМЖ, в том числе и с

тройным негативным фенотипом, включают в себя отработку новых, преимущественно интенсифицированных режимов химиотерапии, и изучение различных таргетных препаратов. Одной из характеристик ТН РМЖ является экспрессия рецептора эпидермального фактора роста I типа – EGFR, встречающаяся по данным разных исследований в 27-57% случаев [20;21;112]. Учитывая отсутствие доказанных мишеней для таргетного воздействия на ТН РМЖ был проведен ряд исследований, изучавших значения блокады EGFR при помощи тирозин-киназных ингибиторов и моноклональных антител.

Результаты применения цетуксимаба в комбинации с платиносодержащими режимами в качестве 1-2 линии терапии оказались несколько противоречивыми. В исследовании, включившем 173 больных метастатическим ТН РМЖ, добавление цетуксимаба к цисплатину позволило в 2 раза увеличить непосредственную эффективность (20% и 10,3%, соответственно), увеличить медиану времени до прогрессирования (3,7 и 1,5 месяцев соответственно) и несколько улучшить медиану общей выживаемости (12,9 и 9,4 месяцев) [81]. В то же время в другом исследовании, добавление цетуксимаба к комбинации карбоплатин + иринотекан (1-2-я линии, n=72), несмотря на увеличение непосредственной эффективности терапии (49% против 30%), не только не привело к увеличению времени до прогрессирования, а, наоборот, ухудшило этот показатель: медиана времени до прогрессирования в группе с цетуксимабом составила 4,7 месяцев, в то время как в группе химиотерапии – 5,1 месяцев [63]. Более того, в этом исследовании добавление цетуксимаба значительно ухудшило переносимость лечения.

По результатам исследования GeparQuinto, добавление бевацизумаба к неоадьювантному режиму, предусматривающему последовательное использование эпирубицина с циклофосфамидом и затем доцетаксела позволило у больных ТН РМЖ увеличить частоту достижения полной морфологической ремиссии с 28% до 39% [81]. В то же время в исследовании Т.Ю. Семиглазовой с соавторами было показано, что различия в частоте достижения полной морфологической ремиссии у больных получивших и не получивших

бевацизумаб одновременно с неоадьювантной терапией были минимальными: 47% и 51%, соответственно [63].

Изучение эффективности и безопасности добавления бевацизумаба к неоадьювантной терапии в альтернативном режиме продолжается в рамках многих современных исследований.

Об эффективности тирозин-киназных ингибиторов эрлотиниба и gefитиниба можно судить только по результатам исследований их применения в неоадьювантном режиме и на клеточных линиях ТН РМЖ [63]. Так, комбинация эрлотиниба с карбоплатином и доцетакселом позволила добиться полной морфологической ремиссии по данным В.Ф. Семиглазова с соавторами у 40% больных [60].

В ряде исследований продолжает изучаться роль тирозин-киназных ингибиторов в терапии ТН РМЖ [17].

В фазе клинических исследований находится еще ряд препаратов из группы мультикиназных ингибиторов с антиангиогенной активностью: дасатиниб, вандетаниб, пазопаниб и акситиниб.

Большие надежды возлагаются на применение у больных ТН РМЖ m-TOR ингибиторов (темсиролимуса и эверолимуса). В настоящее время ведется несколько исследований по определению значения этой группы препаратов в лечении ТН РМЖ (эверолимус в неоадьювантном режиме, темсиролимус в неоадьювантном режиме, двойной ингибитор m-TOR/PI3K при распространенном РМЖ). Практически все исследования предусматривают неоадьювантное применение m-TOR ингибиторов, что позволит не только получить быстрый ответ на основной вопрос об эффективности, но и, возможно, выделить предикторы этого ответа, то есть сделать препараты по-настоящему таргетными для этой весьма неблагоприятной подгруппы пациентов [17;21].

Таким образом, значение таргетных препаратов в терапии ТН РМЖ в настоящее время пока не определено. Имеющиеся данные уже проведенных исследований являются весьма противоречивыми. При внедрении в клиническую практику таргетной терапии считалось, что для любого таргетного агента можно

будет определить мишень на опухолевых клетках конкретного больного, а наличие или отсутствие такой мишени будет четко коррелировать с клинической эффективностью препарата. Но это предположение оказалось не совсем верным. Одной из причин несовпадения реального и ожидаемого эффекта таргетных препаратов вероятнее всего является гетерогенность клеток в пределах одной опухоли, которая обусловлена генетическими, эпигенетическими, фенотипическими особенностями опухолевых клонов [17;21;63]. Внутриопухолевая гетерогенность является одной из важнейших причин, ограничивающих эффективность таргетной терапии, и оказывается главным препятствием на пути ее использования.

1.2.2 Антиандрогенная терапия, как одно из новых направлений таргетной терапии рака молочной железы

К антиандрогенам относят ряд соединений стероидной и нестероидной структур, способных подавлять физиологическую активность эндогенных андрогенов. Их действие связано с конкурентным блокированием рецепторов андрогенов в тканях-мишенях. Антиандрогенное действие свойственно в той или иной степени ряду эндогенных стероидных соединений, в т.ч. прогестинам, эстрогенам и их синтетическим производным, а также некоторым производным самих андрогенов. В 70-х гг. XX века появились сообщения о высокой антиандрогенной активности нестероидных соединений – производных карбоксианилида [75;88].

Среди антиандрогенов, согласно данным литературы, выделяют вещества, которые только блокируют андрогенные рецепторы и вещества, которые, кроме способности блокировать рецепторы, имеют гонадотропную активность (антиандрогены двойного действия) [97;111].

В последние годы появились публикации, в которых описаны попытки таргетной терапии РМЖ при наличии AR. Антиандрогены и ранее использовались при ряде состояний с гиперандрогенемией. Например, при аменорее, андрогеной алапении и гирсутизме, при некоторых опухолях яичника [78;92].

Ряд авторов указывает на тот факт, что в 5-6% случаев развития ТН РМЖ обнаруживают присутствие AR [74;89;99].

Результаты проведенного Ю.С. Шатовой с соавторами исследования целью которого являлось изучение локального гормонального фона опухоли, перифокальной зоны, а также гормонального рецепторного статуса у больных различными биологическими подтипами РМЖ и репродуктивным статусом, показали несомненные фундаментальные предпосылки для рассмотрения уровня экспрессии AR в качестве потенциальной «мишени» для таргетной терапии РМЖ [70].

В первую очередь, целесообразным является рассмотрение возможности ее применения у больных ТН РМЖ с наличием экспрессии AR, поскольку при этом подтипе, даже у больных в постменопаузе, отмечена в ткани опухоли относительная гиперандрогения, что кардинально отличает этих пациенток от других, находящихся в постменопаузе. Несомненно, что рассмотрение такого показателя, как уровень экспрессии AR, необходимо осуществлять по мнению авторов в сочетании с другими биологическими характеристиками опухоли, в частности учитывать особенности локального гормонального фона у больных с различным репродуктивным статусом. Также авторы отмечают – нельзя исключать тот факт, что непосредственная клиническая эффективность антиандрогенных препаратов вероятнее всего будет зависеть от уровня экспрессии половых гормонов, а также от локального содержания половых гормонов в опухоли и в ее перифокальной зоне [70].

В исследовании Gucalp et al. было проведено изучение эффективности антиандрогенной терапии у пациенток с наличием метастатического РМЖ с наличием AR [57].

Результаты исследования показали, что у 19% пациенток отмечено шестимесячное клиническое улучшение состояния [79].

В исследовании J.L. Robinson et al. сообщается о положительном эффекте при ТН РМЖ с AR путем изучения его клеток *in vivo* [73].

Таким образом, последние публикации о RA посвящены их

иммуногистохимическому выявлению в РМЖ, прогностической роли в его развитии и прогнозе. Гипотеза, что андрогены непосредственно вовлечены в канцерогенез РМЖ, основана на наличии AR в большинстве карцином молочной железы.

Иммуногистохимические данные исследований, проведенных многими авторами, указывают, что значительное количество низкодифференцированных РМЖ являются – эстроген и прогестерон негативными, но при этом позитивными на наличие AR. Данные исследования о прогностической значимости иммуногистохимического исследования AR положительной экспрессии весьма противоречивы, но преобладает мнение, что пациентки с опухолями позитивными к AR, характеризуются лучшим практически безрецидивным выживанием [109;111].

Антиандрогенная терапия на сегодняшний день представляется наиболее перспективной там, где отсутствуют другие терапевтические мишени, например, при развитии резистентности к антиэстрогенной терапии или в лечении ТН РМЖ. В настоящее время активно изучается возможность применения андрогенных антагонистов у пациенток с тройным негативным фенотипом опухоли и наличием экспрессии рецепторов андрогенов [70]. Кроме этого, определение экспрессии AR может служить дополнительным прогностическим фактором.

Выраженная экспрессия AR сопряжена с низким риском рецидива при всех подтипах РМЖ, а в сочетании с экспрессией рецепторов эстрогенов является предиктором лучшей общей выживаемости пациентов [70].

Это подчёркивает необходимость дальнейшего изучения AR и антиандрогенной терапии в различных биологических подтипах РМЖ. В клиническом плане наибольший интерес представляют разработки AR-таргетной терапии при ТН РМЖ.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Общие сведения

Исследование выполнено на базе хирургического отделения №5, отделения патологической анатомии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, а также при участии кафедры онкологии и лучевой терапии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России в период с 2016-2019 гг. В рамках исследования были изучены 627 историй болезни пациенток с морфологически подтвержденным диагнозом рака молочной железы, получавших лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» в период с 2008 по 2015гг., из которых было выделено 113 случаев заболевания с иммуногистохимически подтвержденным тройным негативным фенотипом. Иммуногистохимическое исследование уровня экспрессии рецепторов андрогена было выполнено в 85 случаях из 113. (Рисунок 1). Настоящее исследование представлено двумя группами пациенток: с положительным статусом рецепторов андрогена (I группа AP+) и с отрицательным (II группа AP-).

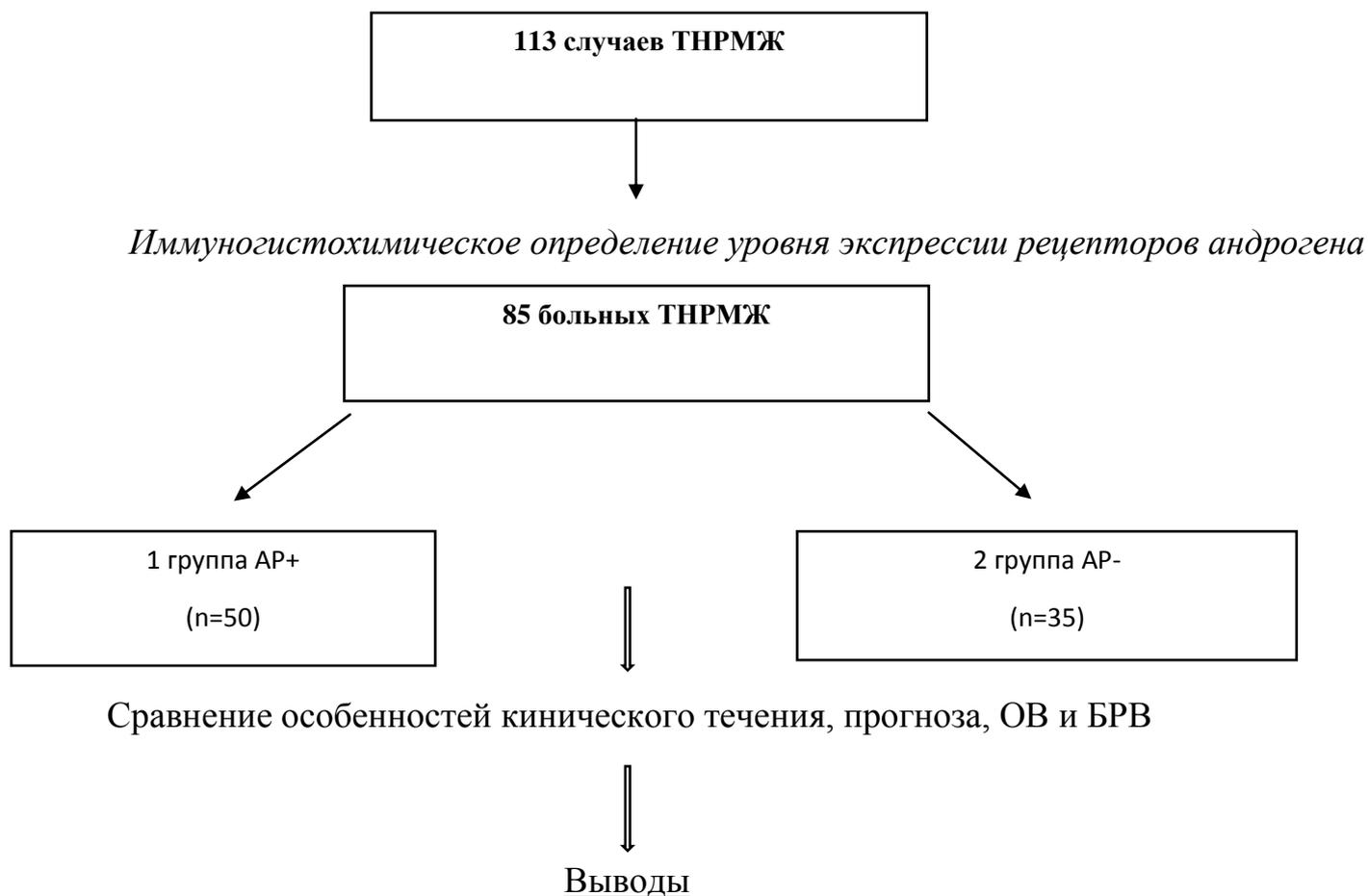


Рисунок 1 - Дизайн исследования

Критерии включения пациенток в I группу:

1. Возраст старше 18 лет
2. Морфологически верифицированный диагноз рака молочной железы
3. Иммуногистохимически подтвержденный тройной негативный фенотип опухоли
4. Положительная экспрессия рецептора андрогена
5. Наличие парафиновых блоков операционного материала первичной опухоли.
6. Продолжительность наблюдения не менее 6 мес.
7. Отсутствие послеоперационной летальности (период – 30 суток).
8. Отсутствие конкурирующих злокачественных новообразований.

Критерии включения пациенток во II группу:

1. Возраст старше 18 лет
2. Морфологически верифицированный диагноз рака молочной железы
3. Иммуногистохимически подтвержденный тройной негативный фенотип опухоли
4. отсутствие экспрессии рецептора андрогена
5. Наличие парафиновых блоков операционного материала первичной опухоли.
6. Продолжительность наблюдения не менее 6 мес.
7. Отсутствие послеоперационной летальности (период – 30 суток).
8. Отсутствие конкурирующих злокачественных новообразований.

Критерии невключения:

1. наличие экспрессии ЭР и/или ПР, а также онкобелка Her2
2. проведение лучевой терапии на первом этапе лечения
3. невозможность проведения иммуногистохимического исследования.

2.2. Общая характеристика пациенток

Доля ТН РМЖ среди всех изученных случаев РМЖ составила 18% (n= 113). Средний возраст пациенток с ТНРМЖ составил $54,5 \pm 1,1$ лет [28,9-79,2]. Максимальное число наблюдений (37,2% n=42) находилось в возрастной группе от 50 до 59 лет. (Рисунок 2)

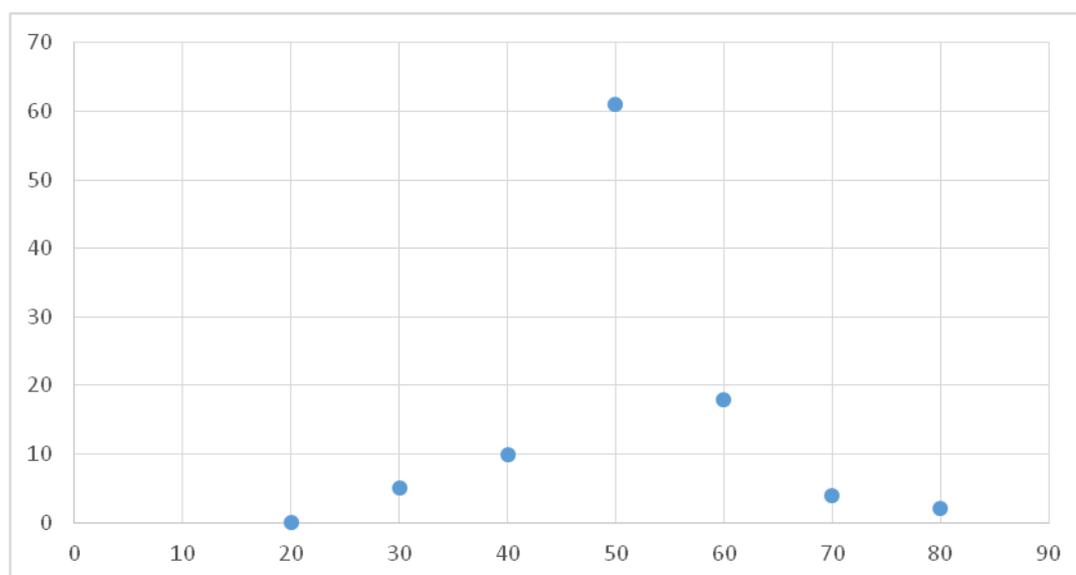


Рисунок 2 - Распределение случаев ТН РМЖ по возрастным группам

Подавляющее большинство пациенток находились в менопаузальном периоде (72 % n= 81), меньшей по количеству оказалась группа пациенток с сохранной менструальной функцией (28% n=32). Наиболее распространенными факторами риска у исследованной группы пациенток стали: курение (16% n=18), отсутствие беременности (13% n=15), а также ожирение (8% n= 9). У 18,5 % пациенток (n=21) установлен отягощенный онкологический анамнез, в 8 % случаев (n= 9) обнаружен рак молочной железы в 1 линии.

В 25% случаев (n=28) пациентки предъявляли жалобу на болезненность в зоне опухолевого узла. Время от обнаружения заболевания до обращения к врачу составило в среднем 4,1 месяца [0,6-39,9 мес.] (Таблица1)

Таблица 1 - Распределение больных ТН РМЖ в зависимости от стадии заболевания и времени от начала первых симптомов до начала лечения

Стадия заболевания	Количество пациентов Абс. (%)	Время от начала первых симптомов до начала лечения (мес.)		
		среднее значение ± ошибка среднего	min	max
I	19 (16,8%)	3,2±0,8	0,1	12,7
II a	38 (33,6%)	2,8±0,4	2,1	10,5
II b	19 (16,8%)	4,0±1,1	0,3	20,4
III a	6 (5,3%)	2,7±0,6	0,7	4,1
III b	18 (15,9%)	8,7±2,7	0,7	40,0
III c	11 (9,7%)	2,4±0,5	0,7	6,0
Всего:	113			

Стадирование процесса осуществлялось с помощью классификации злокачественных опухолей UICC (7 издание TNM, 2009 года). На стадия заболевания была диагностирована в наибольшем количестве случаев- (33,6% n=38), затем I и IIb стадии (по 16,8%, n= 19), IIb в 15,9% случаев (n=18), IIc- 9,7% (n= 11), IIIa- 5,3% (n=6). (Таблица 2, рисунок 3)

Таблица 2 - Распределение больных ТН РМЖ в зависимости от стадии заболевания и среднего возраста пациенток

Стадия заболевания	Средний возраст больных	Абс. (%)
I	54,9 ± 3,5 лет	19 (16,8%)
II а	53,7 ± 1,8 лет	38 (33,6%)
II б	53,4 ± 2,6 лет	19 (16,8%)
III а	46,7 ± 2,8 лет	6 (5,3%)
III б	57,3 ± 2,7 лет	18 (15,9%)
III с	51,3 ± 2,9 лет	11 (9,7%)
Всего	54,5 ± 1,1 лет	113 (100%)

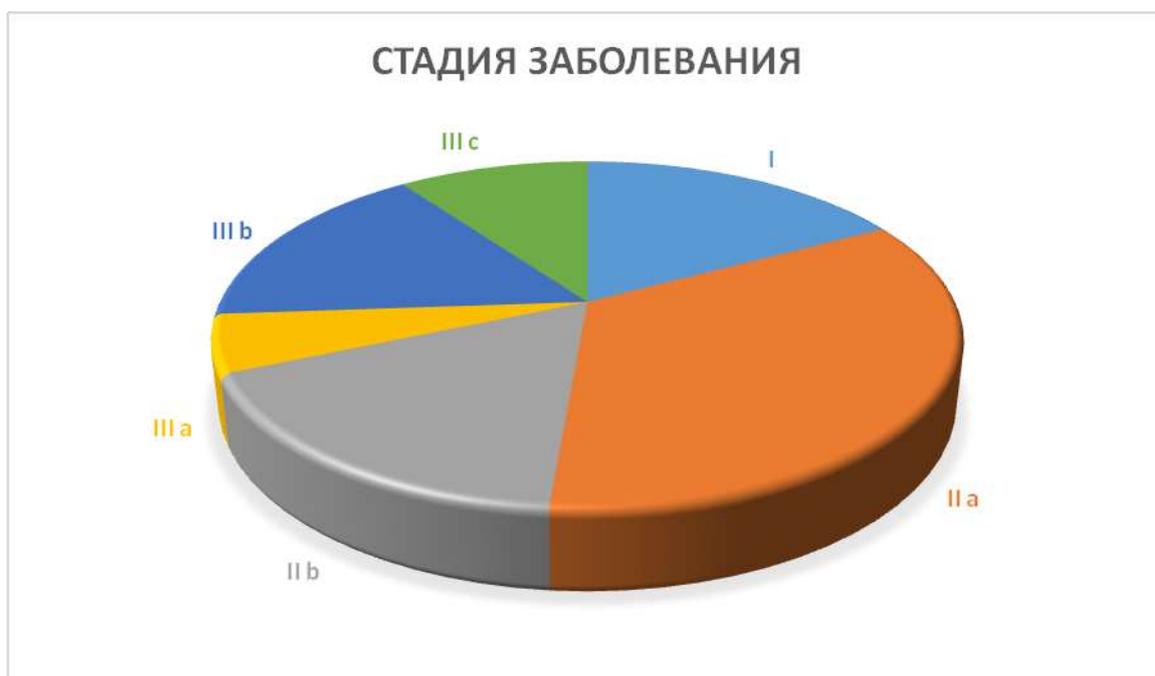


Рисунок 3 - Распределение больных ТН РМЖ по стадиям заболевания.

Для выяснения характера новообразования молочной железы на предоперационном этапе выполнялось цитологическое исследование клеток опухоли с помощью тонкоигольной аспирационной биопсии, которое было выполнено 106 пациенткам (94 %), в 100% случаев цитологически был

верифицирован рак молочной железы. Так же проводилось морфологическое исследование опухолевого материала: core-биопсия (30% n=34) и/или операционный материал, для уточнения гистологического варианта опухоли и степени злокачественности. ЭР, ПР, AP и HER2 определялись с помощью иммуногистохимического (ИГХ) метода. При сомнительном результате ИГХ реакции определения HER2 у 3 пациенток была выполнена реакция флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH реакция). У 6 больных был проведен генетический анализ с целью выявления генетически обусловленного РМЖ, во всех случаях была обнаружена мутация в гене BRCA-1.

2.3 Клинические особенности течения заболевания

Заболевание было обнаружено в левой молочной железе в 61% случаев (n=69), в правой- 39% (n= 44). Наиболее частая локализация опухолевого узла- верхне-наружный квадрант молочной железы (57,5%, n= 65) (Таблица 3)

Таблица 3 - Распределение случаев ТН РМЖ в зависимости от локализации опухоли в молочной железе.

Локализация	Количество больных
	Абсолютное (%)
Верхне-наружный квадрант	65 (57,5%)
Верхне-внутренний квадрант	7 (6,1%)
Нижне-наружный квадрант	8 (7%)
Нижне-внутренний квадрант	3 (2,6%)
Центральный отдел	13 (11,5%)
Граница наружных квадрантов	10 (8,8%)
Граница внутренних квадрантов	2 (1,7%)
Граница верхних квадрантов	1 (0,8%)
Граница нижних квадрантов	3 (2,5%)

Опухолевый узел пальпировался при осмотре в 94% случаев (n=106), средний размер узла составил $3 \pm 0,2$ см. У 60 пациенток (53,1%) при осмотре было

обнаружено вовлечение в процесс аксиллярных лимфатических узлов, у 5 (4,4%) их них так же были обнаружены метастатические надключичные лимфоузлы. В 5 (4,4%) случаях определялся конгломерат подмышечных лимфоузлов.

Максимальный размер опухолевого узла по маммографии составил 6 см., наименьший-1 см. У 8 (7%) пациенток маммографическое исследование не проводилось, из них 1 (0,8%) пациентка с распадом опухоли. В 9 (8%) случаях был обнаружен мультицентричный рост опухоли. Ультразвуковое исследование молочных желез и регионарных зон было выполнено 108 пациенткам (95,6%), в 1 случае был поставлен диагноз фибroadеномы. Размер опухоли по ММГ и УЗИ совпадал в 100% случаев. При ультразвуковом исследовании регионарных зон метастатическое поражение аксиллярных лимфатических узлов было обнаружено у 63 пациенток (55,7%), надключичных- у 14 (12,3%).

2.4 Подготовка гистологических препаратов. Морфологическая характеристика инвазивного рака молочной железы

Стеклопрепараты и парафиновые блоки исследуемых случаев были отобраны из архива патологоанатомического отделения ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Операционный материал первичных опухолей фиксировался в нейтральном забуференном формалине и заключался в парафин. Для парафиновой заливки с использованием стандартных заливочных форм вырезались кусочки размеров, соответствующих типовым заливочным формам – до 5x5 мм, 10x10 мм, 20x20 мм. Тканевой материал, свободно размещенный в маркированных гистологических кассетах, немедленно помещался во флакон с фиксирующей жидкостью, объем которой не менее чем в 10 раз превышал объем фиксируемого препарата. Для фиксации исследуемых кусочков ткани использовался универсальный стандартный метод фиксации в 10% растворе нейтрального формалина (раствор формальдегида 4% на 5% фосфатном буфере, забуференный при pH 6,8-7,4). Время фиксации варьировало в зависимости от объема фиксируемого образца в пределах 24 ч для малых биопсий и 24-48 ч для операционного материала. Используя аппаратную проводку, устанавливали окончательную фиксацию материала продолжительностью не

менее 2-3 часов, независимо от того, насколько полноценно материал зафиксирован до загрузки в аппарат. Для проводки тканевых образцов были использованы тканевые процессоры карусельного типа Shandon Citadel 2000 (United Kingdom) отдельно для эндо- и трепанобиопсий и операционного материала в соответствии с рекомендациями производителя. Для заливки образцов тканей в парафин использовались заливочные станции Leica (Germany). Заливка проводилась по стандартной методике с учетом рекомендаций производителя. Для изготовления парафиновых срезов использовались санный и роторный микротомы Leica (Germany). С парафиновых блоков изготавливались срезы толщиной 3-4 мкм в соответствии со стандартной методикой. Расправление срезов проводилось на нагревательных плитках. Высушивание срезов проводили в инкубаторе (термостате). Окрашивание парафиновых срезов гематоксилином и эозином и заключение микропрепаратов под покровное стекло проводилось с использованием ковер-стейнера Dako (USA) в соответствии с рекомендациями производителя. Пересмотр всех гистологических препаратов был проведен двумя патологоанатомами с последующим унифицированием всех диагнозов в соответствии с требованиями Классификации опухолей молочной железы ВОЗ 2012 года.

Морфологический анализ включал оценку следующих параметров: а). гистологический тип первичной опухоли с указанием степени злокачественности (при отсутствии лечения), б). распространение опухоли в протоки подсосковой зоны, в). наличие неинвазивного компонента опухоли с указанием его гистологической градации, г). наличие/отсутствие сосудистой инвазии, д). митотический индекс, е). подсчет общего количества лимфоузлов и количества метастатически пораженных, ж). в случае проведения неоадьювантного лечения - выраженность лечебного патоморфоза по методике Residual Cancer Burden с помощью онлайн-калькулятора [106].

Оценка гистологического типа опухоли проводилась согласно критериям Классификации опухолей молочной железы ВОЗ (2012) с подразделением исследуемых случаев на инвазивный рак неспецифического типа и специфические

формы рака молочной железы, с уточнением нозологической единицы и гистологического варианта опухоли. Во всех случаях, предусмотренных действующей Классификацией ВОЗ, была проведена оценка степени злокачественности согласно установленной методике (Nottingham Histologic Score) [94], включающей сумму баллов, полученных при вычислении процентного содержания железистых структур в инвазивном компоненте опухоли (более 75% - 1 балл, 10-75% - 2 балла, менее 10% - 3 балла), выраженности ядерной атипии (слабая – 1 балл, умеренная – 2 балла, выраженная – 3 балла) и митотического индекса. Степень злокачественности медуллярного рака определялась согласно схеме оценки ядерной атипии.

Для определения митотического индекса гистологические препараты предварительно оценивались при 200-кратном увеличении с отбором наиболее митотически активных зон, в которых затем при 400-кратном увеличении (репрезентативное поле зрения, РПЗ) митотический индекс оценивался в 10 последовательных полях зрения. 0-4 митоза в 10 РПЗ соответствовали 1 баллу, 5-9 митозов в 10 РПЗ – 2 баллам, ≥ 10 митозов в 10 РПЗ – 3 баллам. Таким образом, согласно Nottingham Histologic Score, сумма в 3-5 баллов соответствовала раку 1 степени злокачественности (G1), 6-7 баллов - раку 2 степени злокачественности (G2), 8-9 баллов - раку 3 степени злокачественности (G3).

При наличии в опухоли неинвазивного компонента, его гистологическая градация проводилась по унифицированной методике, изложенной в Протоколе гистологического исследования неинвазивного рака молочной железы Колледжа Американских Патологов (2009) [95].

Сосудистая инвазия оценивалась на парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, и определялась по наличию комплексов опухолевых клеток внутри пространств, выстланных эндотелием, без дополнительного дифференцирования сосудистых структур на кровеносные или лимфатические.

2.5 Подготовка иммуногистохимических препаратов. Оценка иммуногистохимической экспрессии рецепторов стероидных гормонов, рецептора к эпидермальному фактору роста 2 типа (ERBB2/Her2) и Ki-67

Для иммуногистохимического исследования были использованы парафиновые архивные блоки операционного материала.

Иммуногистохимическое исследование выполнялось на серийных депарафинизированных срезах опухолевой ткани с помощью биотин-стрептавидинового иммунопероксидазного метода с антителами к рецепторам эстрогенов (ER α), рецепторам прогестерона (PR), рецепторам андрогенов (AR), рецептору эпидермального фактора роста 2 типа (her2/neu) и Ki-67 (MIB-1) (Таблица 4).

Для изготовления парафиновых срезов использовались санный и роторный микротомы Leica. С парафиновых блоков с тканевыми образцами, изготовленных по стандартной методике, на микротоме делали срезы толщиной 2-4 мкм в соответствии с рекомендациями производителя антител, фиксировали на полилизиновых (высокоадгезивных) стеклах. Расправление парафиновых срезов на стеклах проводилось на нагревательной плитке, последующее высушивание срезов - в инкубаторе (термостате). Подготовленные предметные стекла с парафиновыми срезами погружают в станцию PT Link для проведения демаскировки антигенов (депарафинизация, промывка). Устанавливаются требуемые параметры (время и температура – 20 минут, 96 оС, рН – 9,0). По окончании процесса демаскировки предметные стекла переносят в промывочную станцию. По окончании промывки стекла переносят в автостейнер Dako Link48 (USA), где после считывания штрих-кода стекол начинался процесс нанесения реактивов на поверхность срезов согласно стандартному протоколу, рекомендованному производителем (DAB, первичные и вторичные антитела, промывка, контр-окрашивание гематоксилином и др.). По завершении процесса окраски стекла из штатива для автостейнера переносят в штативы для дегидратации, включающей следующие этапы: «Вода», «Спирт», «Ксилол», «Заключение».

Оценка иммуногистохимической реакции гормональных рецепторов проводилась только в инвазивном компоненте рака полуколичественным методом с учетом интенсивности окрашивания и количества антиген-позитивных клеток согласно методике Allred и соавт. [96] (Рисунки 4 и 5). Интенсивность иммуногистохимической реакции оценивалась в баллах от 0 до 3: 0 баллов – отсутствует окрашивание ядер опухолевых клеток; 1 балл - однородная бледно-коричневая окраска ядер опухолевых клеток; 2 балла - однородная умеренно насыщенная коричневая окраска ядер опухолевых клеток / неоднородная, варьирующая от бледно- до темно-коричневой окраска ядер опухолевых клеток; 3 балла - однородная темно-коричневая окраска ядер опухолевых клеток. Цитоплазматическая и мембранная экспрессия маркеров не учитывались. Доля окрашенных ядер опухолевых клеток расценивалась следующим образом: до 1% окрашенных клеток - 1 балл, 1-10% окрашенных клеток – 2 балла, 11-33% окрашенных клеток – 3 балла, 34-66% окрашенных клеток – 4 балла, 67-100% окрашенных клеток – 5 баллов.

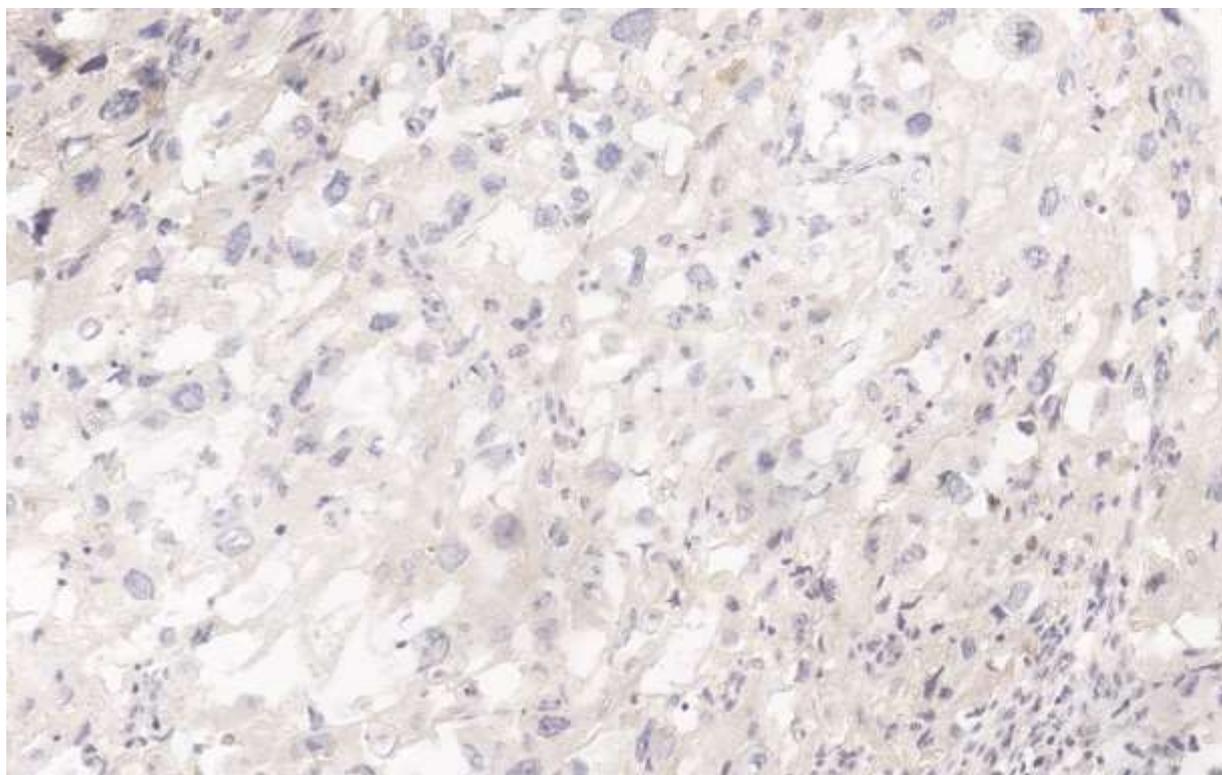


Рисунок 4 - Андроген- негативный ТН РМЖ. (x200)

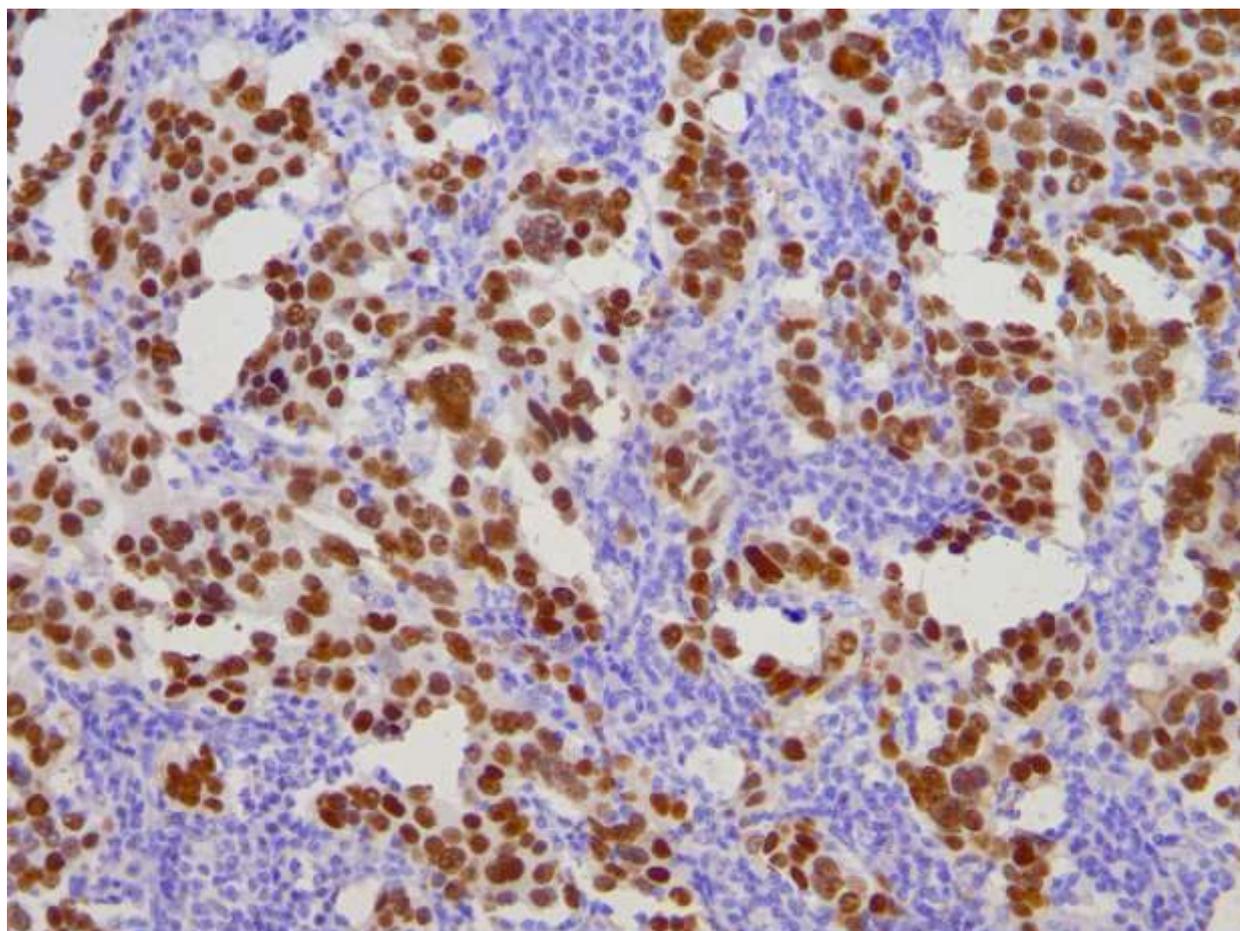


Рисунок 5 - Андроген- позитивный ТН РМЖ. (x200)

Таблица 4 - Характеристика использованных в исследовании антител (Dako).

Антиген	Антитело (клон)	Характеристика	Функция белка
PR	PgR636	Мышиное моноклональное	Рецептор прогестерона
ER	EP1	Мышиное моноклональное	Рецептор эстрогена (альфа)
AR	AR441	Мышиное моноклональное	Рецептор андрогена
Her2/neu	Herceptest	Кроличье поликлональное	Рецептор к человеческому эпидермальному фактору роста 2 типа
Ki-67	MIB-1	Мышиное моноклональное	Антиген делящихся клеток

В связи с отсутствием установленных пороговых значений при оценке экспрессии рецепторов андрогенов в раке молочной железы, результаты экспрессии были оценены по схеме Allred, применяемой для рецепторов эстрогенов и прогестерона, а также по схеме Histologic score (H-score). Учитывалась только ядерная экспрессия маркера только в инвазивном компоненте опухоли; цитоплазматическая и мембранная экспрессия рецептора андрогенов не учитывались.

Оценка иммуногистохимической реакции her2/neu проводилась исключительно в инвазивном компоненте рака согласно установленной методике и с учетом требований Обновленных клинических рекомендаций Американского Общества Клинических Онкологов и Колледжа Американских Патологоанатомов по определению her2/neu в раке молочной железы от 2013 года [115]. При оценке экспрессии маркера рассматривалась окраска только мембран клеток инвазивной опухоли; цитоплазматическая и ядерная экспрессия маркера не учитывались.

Согласно протоколу ASCO/CAP (2013), результаты иммуногистохимической экспрессии her2/neu были оценены в баллах от 0 до 3: где 0 баллов соответствовал отсутствию окраски или неполной (нециркулярной) бледной/едва различимой мембранной окраске $\leq 10\%$ опухолевых клеток; 1 балл – неполной бледной/едва различимой мембранной окраске $\geq 10\%$ опухолевых клеток; 2 балла - неполной яркой/однородной бледной мембранной окраске $> 10\%$ опухолевых клеток или яркой циркулярной мембранной окраске $\leq 10\%$ опухолевых клеток; 3 балла - циркулярной яркой и интенсивной мембранной окраске $> 10\%$ опухолевых клеток.

Результат иммуногистохимической экспрессии her2/neu, равный 0 или 1 баллу, расценивался как негативный, не требующий уточнения с помощью флуоресцентной in situ гибридизации (FISH); равный 2 баллам – как неопределенный, требующий уточнения с помощью FISH; равный 3 баллам - как позитивный, не требующий уточнения с помощью FISH.

Внутренним позитивным контролем иммуногистохимической экспрессии маркеров служили: для всех гормональных рецепторов (ER, PR и AR) –

гетерогенная слабая и/или умеренная окраска ядер клеток предсуществующих долек и протоков молочной железы; для her2/neu – слабая окраска мембраны люминальных клеток предсуществующих протоков молочной железы. Внутренним негативным контролем экспрессии гормональных рецепторов и her2/neu служили мезенхимальные элементы стромы молочной железы.

Индекс пролиферативной активности опухоли устанавливалась на основании оценки экспрессии Ki-67. Для определения индекса Ki-67 использовались моноклональные антитела к MIB-1 (Dako). Индекс Ki-67 оценивался в зонах максимальной экспрессии антигена при 400-кратном увеличении исключительно в инвазивном компоненте опухоли и рассчитывался как процент окрашенных ядер из расчета на 400 опухолевых клеток [108]. При подсчете индекса Ki-67 учитывалась любая интенсивность окрашивания ядер опухолевых клеток; любой тип экспрессии маркера в ядре (перихромосомный, (пери)нуклеолярный, нуклеоплазменный) расценивался как позитивный.

2.6. Морфологические характеристики опухоли

На предоперационном этапе core- биопсия была выполнена 34 (30%) пациенткам. Преобладающим вариантом гистологического строения опухоли стал инфильтративный рак неспецифического типа - 31 случай (27,4%), в 2 случаях (1,7%) был верифицирован слизистый рак, и по 1 (0,8%) случаю инфильтративного долькового рака и медуллярного. У 30 (88,2%) пациенток была также определена степень злокачественности опухоли после биопсии. Вторая степень злокачественности опухоли была определена в 18 случаях из 30 (15,9%), третья- в 12 (10,6%). Во всех случаях иммуногистохимически был верифицирован тройной негативный фенотип (Рисунок 6)

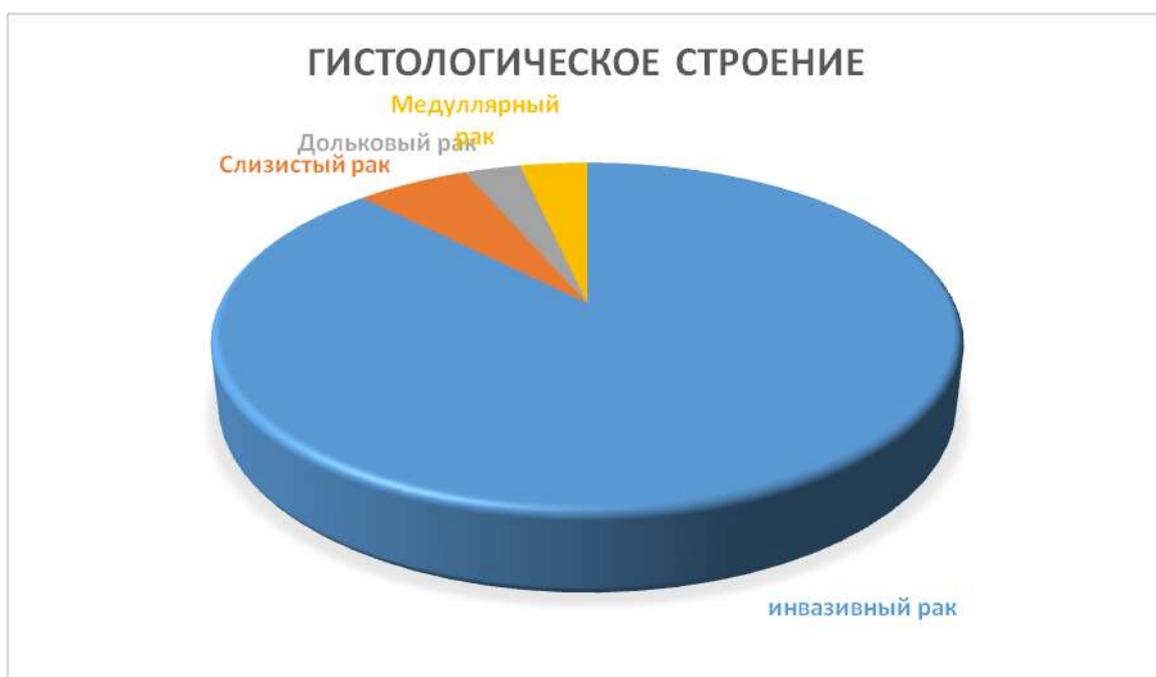


Рисунок 6 - Распределение больных ТН РМЖ по гистологическому строению после core- биопсии

Средний размер опухолевого узла составил 3 см. Наибольший размер 16 см в группе AP+, в некоторых случаях, после неoadьювантного лечения, опухолевый узел не визуализировался. В 3 (2,6%) случаях был обнаружен мультицентричный рост опухоли. Фокусы рака *in situ* обнаружены в 9 случаях (7,9%).

Наиболее распространенным гистологическим вариантом опухоли в обеих группах стал инвазивный рак неспецифического типа (84,9 % n=96), далее по количеству случаев -инфильтративный дольковый рак (3,5 % n= 4), Встречались и редкие формы рака- 9,4% (n=11). Наличие опухолевых клеток в лимфатических сосудах было зарегистрировано в 25,6% (n=29) случаев, в кровеносных сосудах- в 12,3% (n=14) (Таблица 5)

Таблица 5 - Распределение больных по гистологическому строению опухоли

Гистологический вариант опухоли	Количество пациенток
	Абс. (%)
Инвазивный рак неспецифического типа	96 (84,9%)
Инфильтративный дольковый	4 (3,5%)
Редкие формы рака молочной железы*	11 (9,4%)
Всего:	111 (97,8%)

Редкие формы рака молочной железы *- Слизистый, медуллярный, папиллярный, тубулярный, метапластический рак.

Степень злокачественности была определена у 100 (88,3 %) пациенток. Преимущественно встречалась 3 степень злокачественности (49,5 % n=56). 2 степень злокачественности была обнаружена у 42 пациенток (37,1%) (табл.6). Примечательно, что 1 степень злокачественности встречалась только в двух случаях (1,7%), что не противоречит общепринятым данным об агрессивном течении ТНРМЖ. Средний уровень Ki67 составил $48,8 \pm 3,0\%$ (Таблица 6).

Таблица 6 - Распределение больных ТН РМЖ по степени злокачественности опухоли

Степень злокачественности опухоли	Количество пациенток
	Абс. (%)
I	2 (1,7%)
II	49 (43,3%)
III	51 (45,1%)
Всего:	100 (88,3%)

Степень поражения л\у оценивалась на операционном материале, отсутствие вовлеченных в опухолевый процесс лимфатических узлов встречалось в 50,4% случаев (n= 57), степень N1- в 32,5% (n=37), N2- 10,3% (n=12), N3- 1,7% (n=2). Прорастание капсулы лимфоузла было зарегистрировано в 8,8% случаев (n=10) (Таблица 7)

Таблица 7 - Распределение больных в зависимости от уровня поражения лимфатических узлов

Уровень поражения л/у	Число больных
	Абс. (%)
N0	57 (50,4%)
N1	37 (32,5%)
N2	12 (10,3%)
N3	2 (1,7%)
Всего:	108

Морфологическое заключение (операционный материал) после неoadьювантной терапии в обязательном порядке включало указание размеров остаточной опухоли, состояние окружающих опухоль тканей, числа исследованных и пораженных лимфоузлов, а также определение степени выраженности лечебного патоморфоза в первичной опухоли. Степень лечебного патоморфоза рака молочной железы определяли по классификации Г.А. Лавниковой [36]. Под полным лечебным патоморфозом (IV степень по классификации Г.А. Лавниковой) понималось отсутствие морфологических признаков остаточной опухоли в первичной опухоли. Частичная регрессия (ЧР) означает уменьшение на 50% и более произведения двух наибольших взаимно перпендикулярных размеров на срок не менее 4 нед. при отсутствии появления новых очагов. Стабилизация (СТ) подразумевает уменьшение менее чем на 50% или увеличение менее чем на 25% произведения двух наибольших взаимно перпендикулярных размеров. Прогрессирование предполагает увеличение более чем на 25% произведения двух наибольших взаимно перпендикулярных размеров

или появление нового очага. Полного лечебного патоморфоза удалось достичь в 5,3% случаев (n=6), вторая и третья степень патоморфоза были получены в 10,6% (n= 12) и в 2,6% случаев (n=3) соответственно, первая степень – в 7,9% (n=9) случаев.

2.7. Лечение больных ТН РМЖ

Из 113 пациенток, включенных в исследование, 8 (6,6%) получали лечение вне ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Из них 2 пациенткам (1,7%) было проведено комплексное лечение. В других медицинских учреждениях 2 (1,7%) пациенткам было проведено хирургическое лечение, 2 (1,7%) - химиотерапия, и в одном случае (0,8%)- химиолучевая терапия.

Пациентки получали хирургическое лечение с последующей адъювантной химиотерапией (n=37, 32,7%), или комплексное лечение (операция с последующим химиолучевым лечением) в 34 случаях (30%) (Таблица 8). Часть пациенток (4%, n=5) в связи с различными причинами получили только один вид лечения. Так, только химиотерапию получили 4 пациентки (3,5%) и 2 (1,7%) пациенткам было выполнено только хирургическое лечение в объеме санационной мастэктомии.

Таблица 8 - Распределение больных ТН РМЖ в зависимости от вида лечения

Вид лечения	Абс. (%)
Химиотерапия (ХТ)	4 (3,5%)
Химиотерапия+операция+ЛТ	6 (5,3%)
Химиотерапия+операция	1 (0,8%)
ХТ+операция+ХТ+ЛТ	12 (10,5%)
Операция	2 (1,7%)
Операция+ХТ	37 (32,7%)
Операция+ХТ+ЛТ	34 (30%)
Операция+ЛТ	3 (2,6%)
ХТ+операция+ХТ	13 (11,5%)
Всего:	112 (98,6%)

Неoadъювантная химиотерапия была проведена 34 (30%) пациенткам, из них 24 (21.2%) получили так же адъювантную химиотерапию (Таблица 9). Наиболее распространенным вариантом схемы неoadъювантной химиотерапии был режим САФ -14 (12,3%). Далее по частоте назначений- режим АС – у 9 пациенток (7,9%). В 5 случаях (4,4%) был выбран режим FAC ,и в 4 случаях (3,5%)- режим CMF (Рисунок 7).

Таблица 9 - Распределение больных ТН РМЖ в зависимости от схемы проведенной химиотерапии.

Схема химиотерапии	Количество больных
	Абсолютное (%)
АС	9 (7,9%)
САФ	14 (12,3%)
FAC	5 (4,4%)
CMF	4 (3,5%)
Другие*	2 (1,7%)

*TAC, FEC.



Рисунок 7 - Распределение больных ТН РМЖ в зависимости от схемы проведенной химиотерапии.

Полного эффекта от проведения неoadьювантной химиотерапии удалось достичь у 7 больных (6,1%), частичных эффект от неoadьювантного лечения встречался чаще - 19 случаев (16,8%). Стабилизация процесса произошла у 5 пациенток (4,4%), у 2 пациенток на фоне лечения было отмечено прогрессирование заболевания (1,7%) (Рисунок 8).

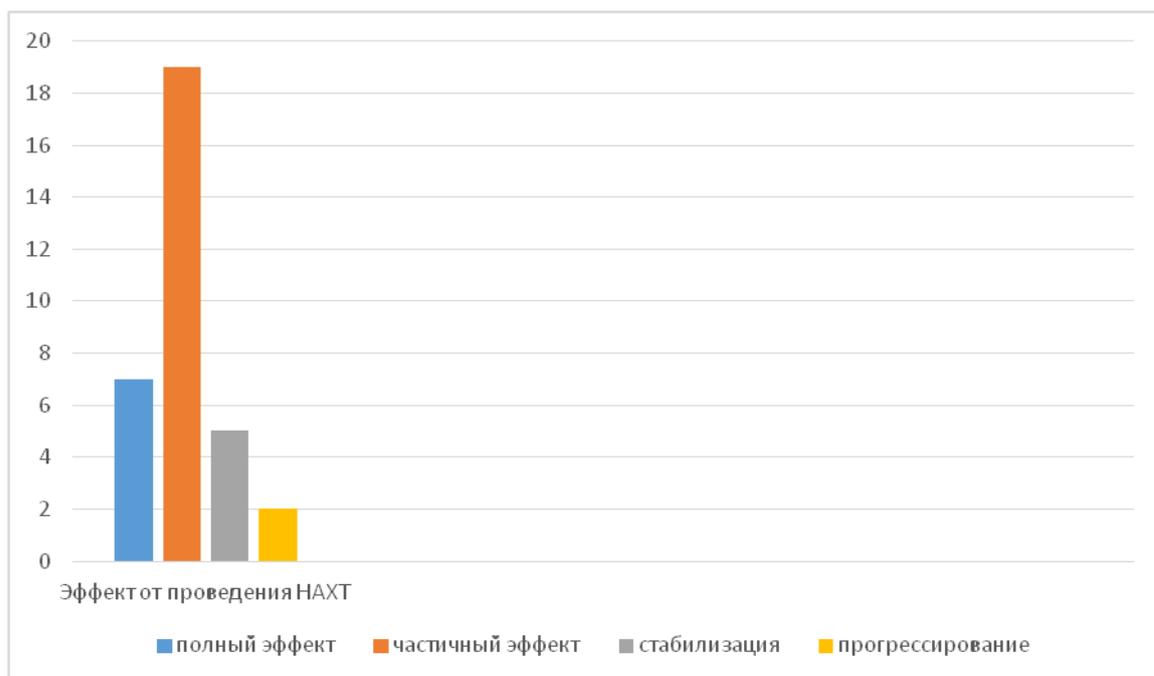


Рисунок 8 - Распределение больных ТН РМЖ в зависимости от эффекта проведенной неoadьювантной химиотерапии.

Х Хирургическое лечение не было проведено у 4 (3,5%) пациенток, у всех остальных была выполнена операция в объеме радикальной мастэктомии с сохранением грудных мышц (57,5% n=65) или радикальной резекции молочной железы со срочным гистологическим исследованием краев резекции (37,1% n=42). В 2 случаях была выполнена санационная мастэктомия. Так же, 4 пациенткам была выполнена профилактическая мастэктомия в связи с обнаружением мутации в гене BRCA-1. Двум из них одновременно была выполнена профилактическая овариэктомия, в 1 случае была верифицирована аденокарцинома яичников (Рисунок 9).

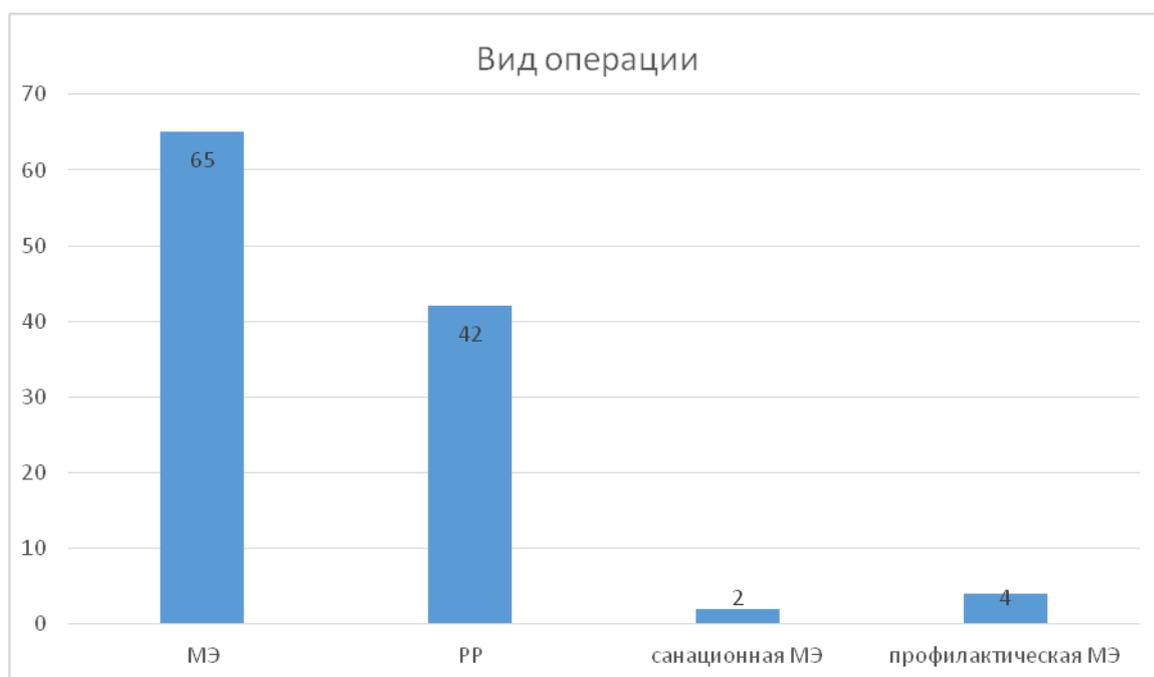


Рисунок 9 - Распределение больных ТН РМЖ в зависимости от вида проведенного хирургического лечения.

Адьювантная химиотерапия была проведена 97 (85,8%) больным, 34 (30%) из них на предоперационном этапе получали также неоадьювантную химиотерапию. Наиболее часто назначалась схема FAC (22,9% n=26), AC и CAF (17,6% n= 20 и 21,2% n=24, соответственно). Паклитаксел (Таксол) — 175 мг/м² 3-часовая в/в инфузия с премедикацией+ Карбоплатин — AUC 5,0-7,5 в/в. получили 10 больных (8,8%). Химиотерапию по схеме TC-4 пациентки (3,5%). В 100% случаев лучевая терапия проводилась в адьювантном режиме, и была проведена 64 пациенткам (56,6%).

При анализе общей и безрецидивной выживаемости пациенток были использованы данные амбулаторных карт, учитывалась дата последнего визита поликлиники ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, состояние на момент последнего контроля. Медиана наблюдения 36,9 месяцев. Средняя продолжительность жизни- 40,2 месяца [0,4 мес.- 142 мес.]. Медиана- 36,8 месяцев.

Возникновение рецидива заболевания было зарегистрировано у 11 (9,7%) пациенток. В подавляющем большинстве рецидив был локализован в

послеоперационном рубце (7% n=8) в обеих группах, а также в 2 (1,7%) случаях в молочной железе. Медиана безрецидивной выживаемости составила 24,4 месяца [4,8 мес.- 93мес.]. (Среднее - 25,8±5,6 мес.)

Всего из 113 больных, отдаленные метастазы были выявлены у 33 пациенток (29,2%), у 7 (6,1%) из них метастазы были обнаружены в нескольких локализациях (табл.10). Медиана времени от начала лечения до обнаружения метастазов составила 23,4 месяца [2,6 мес.- 71,5 мес.]. (Среднее- 30,2±3,2 мес.) (Таблица 10).

Таблица 10 - Распределение больных ТН РМЖ в зависимости от локализации метастазов.

Локализация метастазов	Абсолютное (%)
Печень	6 (5,2%)
Легкие	13 (11,4%)
Кости	12 (10,1%)
Головной мозг	5 (4,3%)
Регионарные л/у	6 (5,2%)
Костный мозг	1 (0,8%)
Кожа	1 (0,8%)
Другое*	1 (0,8%)

Другое*- влагалище, матка.

К Как видно из таблицы, лидирующей локализацией по обнаружению метастазов стали легкие 11,4% (n=13) и кости- 10,3% (n=12), печень- 5,2% (n=6), головной мозг- 4,3% (n=5), в нескольких случаях встречалось метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов- 5,2% (n=6). В редких случаях метастазы локализовались в костном мозге- 0,8% (n=1), в коже 0,8% (n=1), и в 1 случае метастаз был обнаружен в теле матки, также у этой пациентки метастазы были в печени и парастернальных л/у. При этом, одна пациентка умерла с рецидивом заболевания (0,8%), 15 пациенток умерли при наличии метастазов

(13,2%). 3 пациентки на момент исследования умерли с рецидивом и метастазами (6,9%), а так же 7 (6,1%) из исследуемых больных умерли по другой причине.

2.8 Статистическая обработка данных

Показатель общей выживаемости расценивался как время от начала первичного лечения до даты смерти. Показатель безрецидивной выживаемости- время от начала первичного лечения до выявления местно- регионарных рецидивов и отдаленных метастазов. В работе проанализированы показатели общей и безрецидивной выживаемости в обеих группах.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0 for Windows 2000. Использовались корреляционный анализ по Спирмену и тест Манна-Уитни.

2.9 Распределение больных в зависимости уровня экспрессии рецепторов андрогена

В зависимости от уровня экспрессии все РА-содержащие опухоли были разделены на три группы: с отрицательной (менее 10 баллов по шкале HScore), со слабоположительной (от 11 до 99 баллов по шкале HScore) и положительной (более 100 баллов по шкале HScore) экспрессией РА. Однако количество случаев в исследуемых группах оказалось недостаточным для сравнения. Так, в группе с отсутствием экспрессии рецепторов андрогена было 50 человек (60,9%), в группе со слабоположительной экспрессией- 19 случаев (23,1%) и в группе с положительной экспрессией- 13 случаев (15,8%). При оценке экспрессии по схеме Allred исследуемая популяция пациенток была разделена на две группы: 1 группа- РА+ составила 58,8% (n= 50), 2 группа AP- 41,1% (n= 35). При сравнении этих двух групп были выявлены достоверные различия по нескольким признакам.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Клинические особенности течения заболевания ТН РМЖ в зависимости от рецепторного статуса опухоли

В исследованной группе пациенток (85 человек) положительная экспрессия рецепторов андрогена встречалась достоверно чаще, в 58,8% (n=50) случаев, отрицательная - в 41,1% (n=35) случаев (p=0,05).

Средний возраст пациенток в исследуемых группах составил $53,5 \pm 2,1$ лет в первой группе (AP+) и $56,8 \pm 1,7$ лет - во второй (AP-) (p>0,05). В обеих группах преобладала IIa стадия: 32% (n=16) в группе с положительной экспрессией рецепторов андрогена и 48,5% (n=17) в группе AP-. Пациентки с IIIa стадией встречались наиболее редко- 6% (n=3) в первой группе и отсутствовали во второй (Таблица 11). При сравнении количества случаев в зависимости от стадии в двух группах статистически достоверных различий обнаружено не было (p>0,05).

Таблица 11 - Распределение больных ТН РМЖ по стадиям в зависимости от рецепторного статуса опухоли.

Стадия заболевания	Статус рецепторов андрогена	
	AP+	AP-
	Абс.значение(%)	Абс.значение(%)
I	8 (16%)	7 (20%)
II a	16 (32%)	17 (48,5%)
II b	10 (20%)	8 (22,8%)
III a	3 (6%)	—
III b	9 (18%)	2 (5,7%)
III c	4 (8%)	1 (2,8%)
Всего:	50	35

Опухоли, экспрессирующие рецептор андрогена в большинстве наблюдений находились в возрастной группе 60-69 лет (57,9% n=11), опухоли с отрицательной

экспрессией чаще обнаруживались у пациенток возрастной группы от 70 лет и старше (46,7% n=7). ($p>0,05$) (Таблица 12).

Таблица 12 - Распределение больных ТН РМЖ в зависимости от возраста и рецепторного статуса опухоли.

Возрастная группа	Количество пациентов Абс.значение(%)	Статус рецепторов андрогена	Кол-во пациентов Абс.значение(%)
30-39 лет	13 (15,3%)	AP-	5(31,3%)
		AP+	8(50,0%)
40-49 лет	16 (18,8%)	AP-	5(23,8%)
		AP+	11(52,4%)
50-59 лет	27 (31,8%)	AP-	11(26,2%)
		AP+	16(38,1%)
60-69 лет	18 (21,2%)	AP-	7(36,8%)
		AP+	11(57,9%)
70 и старше	11 (12,9%)	AP-	7(46,7%)
		AP+	4(26,7%)
Всего	85		85

В большинстве наблюдений пациентки обеих групп находились в состоянии менопаузы, 64% (n=32) и 74,2% (n=26) ($p>0,05$). Пациентки с сохранной менструальной функцией также достоверно не отличались по количеству случаев в двух группах ($p>0,05$) (Таблица 13).

Таблица 13 - Распределение больных ТН РМЖ в зависимости от менструальной функции и рецепторного статуса опухоли.

Менструальный статус	Статус рецепторов андрогена	
	AP+ Абс.значение(%)	AP- Абс.значение(%)
Менопауза	32 (64%)	26 (74,2%)
Сохраняется функция	18 (36%)	9 (25,7%)
Всего	50	35

У всех пациенток был изучен гинекологический анамнез, при сравнении показателей в двух группах не было выявлено существенных различий, однако, в группе AP+ одним из наиболее часто встречающихся факторов риска стало отсутствие беременности и родов- 18% случаев (n=9), в группе AP- всего у одной пациентки (2,8%) не было беременности. Выявленные различия между группами по этому признаку были статистически значимы (p=0,05).

Ведущим по частоте встречаемости фактором риска заболеваемости ТН РМЖ в группе AP- стало ожирение, которое встречалось в 11,4% случаев (n=4), в группе AP+ этот признак встречался в 8% случаев (n=4) (p>0,05). Среди сопутствующей патологии преобладала миома матки, чаще это заболевание было обнаружено у пациенток группы AP+ (p<0,05), так же были зарегистрированы заболевания, протекающие с нарушением гормонального гомеостаза- сахарный диабет, гипо- и гипертиреоз, кисты яичников, эндометриоз, фиброзно-кистозная мастопатия, а также заболевания, соответствующие возрасту- гипертоническая болезнь, хроническая венозная недостаточность, нарушения работы ЖКТ (Таблица 14).

Таблица 14 - Распределение больных ТН РМЖ в зависимости от фактора риска, сопутствующей патологии и статуса рецепторов андрогена

Фактор риска, сопутствующая патология	Статус рецепторов андрогена	
	AP+ Абс.значение(%)	AP- Абс.значение(%)
Отсутствие беременности и родов	9 (18%)	1 (2,8%)
Среднее количество абортов	1,5±0,2	1,3±0,2
Миома матки	6 (12%)	3 (8,5%)
Ожирение	4 (8%)	4 (11,4%)

В обеих группах в большинстве случаев семейный анамнез был не отягощен (62% n=31 и 68,5% n=24 соответственно), несколько чаще встречались случаи заболевания РМЖ в 1 линии среди пациенток группы AP+ (12% n=6 против 5,7% n=2 в группе AP-), эти различия были статистически достоверны (p=0,05), и случаи заболевания опухолями других локализаций, таких как рак легких, рак желудка и рак толстой кишки, также встречались чаще в группе AP+ (20% n=10 и 14,2% n=5 соответственно). Случаи рака яичников и тела матки не встречались у родственников первой линии пациенток в обеих группах, один случай рака шейки матки в 1 линии был в группе AP+. У одной из пациенток в группе AP+ в анамнезе был рак толстой кишки (2%), в группе AP- в одном случае в анамнезе был рак тела матки (2,8%) (Таблица 15).

Таблица 15 - Распределение больных ТН РМЖ в зависимости от семейного анамнеза и рецепторного статуса опухоли

Семейный анамнез	Статус рецепторов андрогена	
	AP+ Абс.значение(%)	AP- Абс.значение(%)
Не отягощен	31 (62%)	24 (68,5%)
РМЖ в 1 линии	6 (12%)	2 (5,7%)
РМЖ во 2 линии	1 (2%)	1 (2,8%)
РШМ в 1 линии	1 (2%)	-
РШМ во 2 линии	1 (2%)	3 (8,4%)
Другие опухоли	10 (20%)	5 (14,2%)
Рак другой локализации в анамнезе	Рак толстой кишки 1 (2%)	Рак тела матки 1 (2,8%)

Особенности клинического течения заболевания были схожи у пациенток в обеих группах. Поражение левой молочной железы встречалось чаще, также самой распространенной локализацией опухоли в молочной железе стал верхне-наружный квадрант. Практически во всех случаях пациентки обнаруживали наличие опухолевого узла самостоятельно и четверть пациенток в каждой группе отмечали болезненность при пальпации. Различным оказался средний размер опухолевого узла, $3,2 \pm 0,3$ см в группе AP+ и $6 \pm 2,8$ см в группе AP- (p>0,05).

Обнаружение кожных симптомов, таких как симптом «лимонной корки», втяжения кожи, при клиническом обследовании достоверно чаще встречалось в группе AP+ (28% $n=14$ и 8,5% $n=3$ в группе AP-) ($p=0,05$). В ходе осмотра, поражение аксиллярных лимфатических узлов встречалось приблизительно в половине случаев в первой и во второй группе больных, однако поражение надключичных лимфоузлов было зарегистрировано только в группе AP+ у 6%($n=3$) пациенток, при этом максимальный размер достигал 1 см (Таблица 16).

Таблица 16 - Распределение больных ТН РМЖ в зависимости от особенностей клинического течения и рецепторного статуса опухоли

Особенности клинического течения	Статус рецепторов андрогена	
	AP+ Абс.значение(%)	AP- Абс.значение(%)
Левая МЖ (n)	32 (64%)	20 (57,1%)
Правая МЖ (n)	18 (36%)	15 (42,8%)
Опухоль пальпируется (n)	48 (96%)	35 (100%)
Болезненность при пальпации (n)	13 (26%)	9 (25,7%)
Ср.размер опухолевого узла (см)	3,2 \pm 0,3 см (макс.-16 мин.-1)	6 \pm 2,8 см (макс.-8, мин.-1)
Наиболее частая локализация опухоли в молочной железе	Верхне-наружный квадрант 30 (60%)	Верхне-наружный квадрант 17 (48,5%)
Наличие кожных симптомов (n)	14 (28%)	3 (8,5%)

Анализ данных инструментальных исследований показал, что, не смотря на разницу среднего размера опухолевого узла при осмотре, средний размер опухоли при УЗИ и ММГ существенно не отличался в двух группах, и был 2,8 \pm 0,1 см и 2,9 \pm 0,2 см ($p>0,05$) по данным УЗИ в исследуемых группах соответственно и 2,9 [\pm 0,1 см] см и 2,7 \pm 0,1 см см при проведении ММГ ($p>0,05$). Также, не было достоверных различий по количеству случаев вовлечения в процесс регионарных лимфатических узлов. Отличным было количество случаев обнаружения микрокальцинатов при проведении ММГ, чаще этот признак встречался в группе

AP+ (8% $n=4$ и 2,8% $n=1$ в группе AP-), однако статистически значимого различия не достигнуто в связи с небольшим количеством наблюдений ($p>0,05$). Мультицентричный рост опухоли также чаще встречался в группе AP+ (14% $n=7$ и 5,7% $n=2$ в группе AP-), при этом максимальное число узлов было в группе AP- (6 у одной пациентки), однако различия были статистически не достоверны ($p>0,05$) (Таблица 17).

Таблица 17 - Распределение больных ТН РМЖ по диагностическим критериям в зависимости от рецепторного статуса опухоли

Диагностический критерий	Статус рецепторов андрогена	
	AP+ Абс.значение(%)	AP- Абс.значение(%)
Средний размер опухолевого узла по ММГ(см)	2,9 \pm 0,1 см (максимально -6 см, минимально -1 см)	2,7 \pm 0,1 см (максимально- 4,5 см, минимально- 0 см)
Мультицентричность (n)	7 (14%)	2 (5,7%)
Макс.число узлов в железе (n)	3 у 2 (4%)	6 у 1(2,8%)
Микрокальцинаты (n)	4 (8%)	1 (2,8%)
Средний размер опухолевого узла по УЗИ (см)	2,8 (максимально -6 см, минимально -1 см)	2,9 \pm 0,2 см (максимально- 7,8 см, минимально- 1 см)
Активный кровоток	16 (32%)	9 (25,7%)
Поражение аксиллярных л/у (n)	28 (56%)	16 (45,7%)
Макс.размер мтс л/у (см)	2,5 см 2 (4%)	2,1 см- 1 (2,8%)
Поражение надключичных л/у (n)	6 (12%)	4 (11,4%)
Макс.размер мтс л/у (см)	1,6 см 1 (2%)	3,8 см-1 (2,8%)

Мутации в гене BRCA1 были обнаружены с одинаковой частотой в исследуемых группах- 6% ($n=3$) и 5,7%($n=2$).

3.2. Гистологические параметры опухоли в зависимости от рецепторного статуса

Core- биопсия опухоли была выполнена 14 (28%) больным в группе AP+ и 7 (20%) больным в группе AP-. В группе AP- во всех случаях (n=7) был верифицирован инфильтративный рак неспецифического типа, в группе AP+ инфильтративный рак встречался у 12 (24%) пациенток и по одному случаю (2%) долькового и слизистого рака (Рисунок 10).

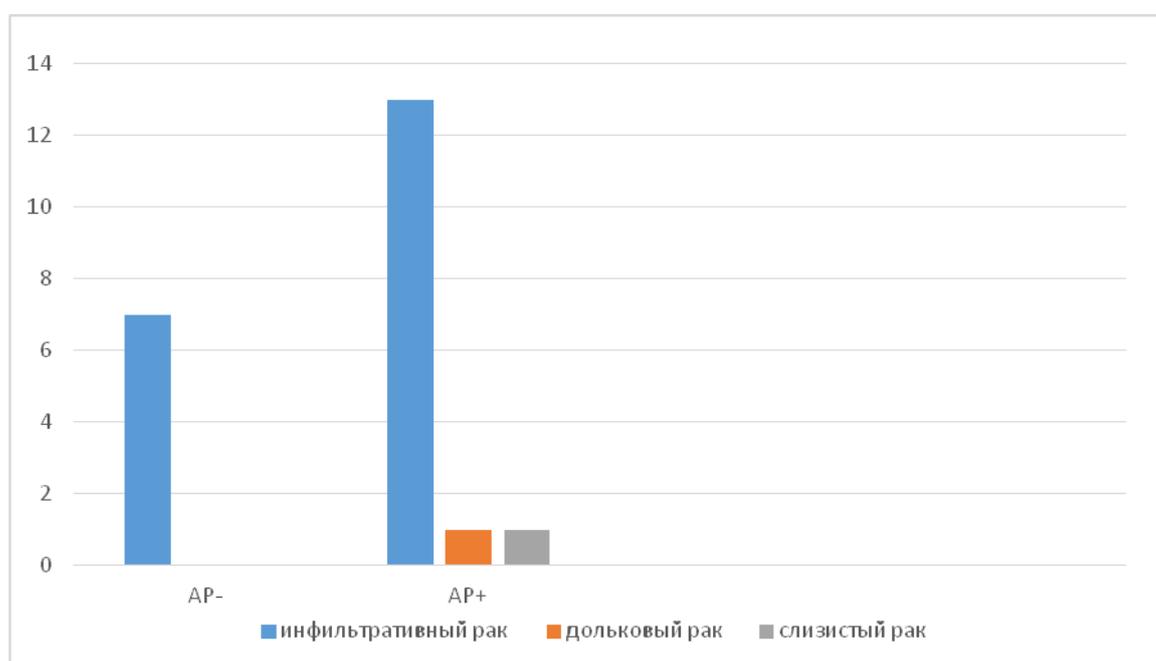


Рисунок 10 - Распределение больных ТН РМЖ в зависимости от гистологического строения опухоли после core- биопсии и от рецепторного статуса опухоли.

Стоит отметить, что в группе AP+ 2 степень злокачественности была определена в 9 случаях (18%), в то время как в группе AP- вторая степень злокачественности встречалась в 2 случаях (5,7%), третья степень злокачественности преобладала в группе AP- и встречалась у 14% (n=5) пациенток, в то время как в группе AP+ 3 степень злокачественности была обнаружена у 4%(n=2) пациенток, однако достоверной статистической разницы обнаружено не было ($p>0,05$).

Среднее значение Ki67 в группе AP+ после проведения биопсии составило $57,5 \pm 5,1\%$ (максимально- 70%, минимально 40%). В группе AP- среднее значение Ki67 составило $65 \pm 6,1\%$ (максимально- 75%, минимально 50%) ($p > 0,05$) (Рисунок 11).

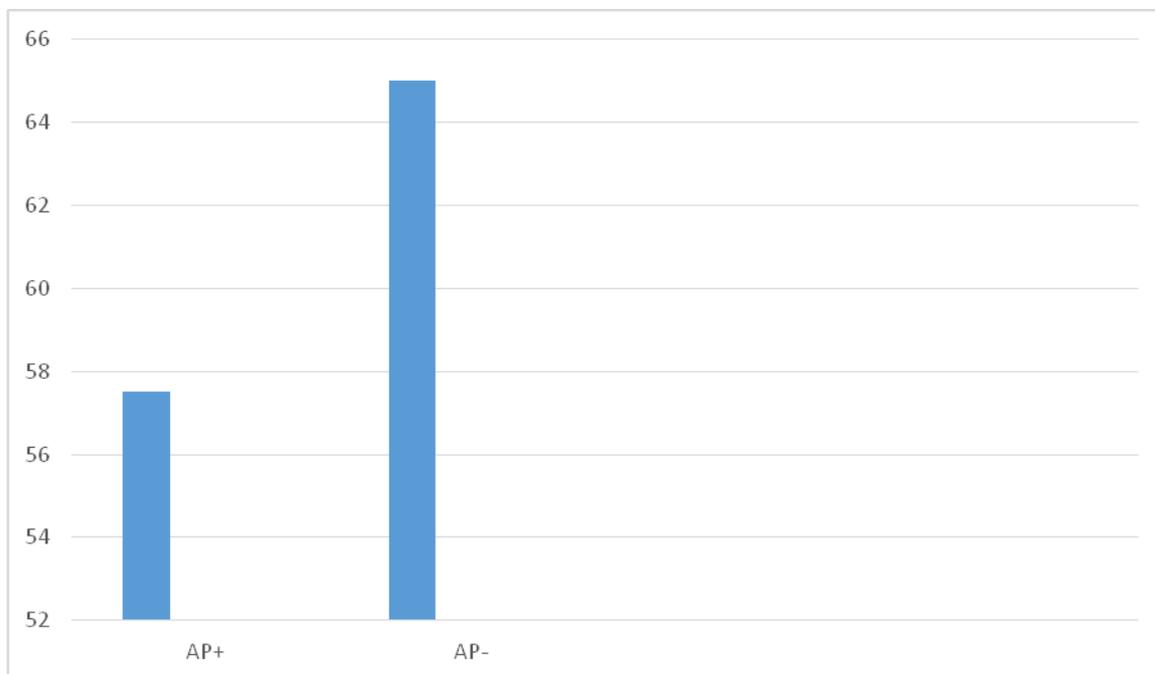


Рисунок 11 - Среднее значение Ki67 в исследуемых группах пациенток

По гистологическому строению все исследованные опухоли ТНРМЖ в обеих группах не обладали отличительными чертами от РМЖ, однако были обнаружены некоторые различия в самих исследуемых группах. Так, средний размер удаленного опухолевого узла был больше в группе AP- $3,1 \pm 0,4$ см, в группе AP+ средний размер составил $2,8 \pm 0,3$ см ($p > 0,05$).

Гистологические варианты опухоли были в основном представлены инфильтративным раком неспецифического типа, однако встречались так же редкие формы. В группе AP+ 86% (n=43) опухолей имели строение инфильтративного рака, в группе AP- 80% (n=28). Однако, также встречались и другие гистологические подтипы: в группе с положительной экспрессией рецепторов андрогена был верифицирован один случай (2%) тубулярного рака и 3 случая (6%) слизистого рака, в группе с отрицательной экспрессией в 3 случаях (8,5%) медуллярный рак, далее по частоте встречаемости был метапластический

рак- 2 случая (5,7%), и в одном случае гистологическим вариантом строения опухоли был папиллярный рак (2,8%). При сравнении количества случаев редких гистологических вариантов опухоли достоверной статистической разницы получено не было ($p>0,05$) (Таблица 18).

Таблица 18 - Распределение больных по гистотипу в зависимости от рецепторного статуса опухоли

Гистологическое строение опухоли	Статус рецепторов андрогена	
	AP+	AP-
	Абс.значение(%)	Абс.значение(%)
Инфильтративный рак неспецифического типа	43 (86%)	28 (80%)
Дольковый рак	3 (6%)	1 (2,8%)
Редкие гистологические формы	4 (8%)	6 (17,1%)
Всего:	50	35

Примечательно, что в группе с отрицательной экспрессией рецепторов андрогена преобладала 3 степень злокачественности- 60% случаев ($n=21$), вторая несколько реже- 37,1% случаев ($n=13$). Опухоли, экспрессирующие рецепторы андрогена были менее злокачественными. Так, в группе AP+ было два случая (4%) с 1 степенью злокачественности, и, в отличие от AP-, преобладала 2 степень злокачественности (50% $n=25$), 3 степень была у 18 пациенток (36%). Достоверная разница была обнаружена при сравнении количества случаев опухолей, имеющих 3 степень злокачественности в двух группах, в группе AP- она встречалась чаще ($p=0,05$). При сравнении случаев со 2 степенью злокачественности достоверных статистических различий обнаружено не было ($p>0,05$) (Таблица 19). Средний уровень Ki67 достоверно выше в группе с отрицательной экспрессией AP- $58,8\pm 5,3\%$ против $41,2\pm 5,3\%$ в группе AP+ ($p=0,05$).

Таблица 19 - Распределение больных по степени злокачественности опухоли в зависимости от рецепторного статуса

Степень злокачественности опухоли	Статус рецепторов андрогена	
	AP+ Абс.значение(%)	AP- Абс.значение(%)
1	2 (4%)	-
2	25 (50%)	13 (37,1%)
3	18 (36%)	21 (60%)
Всего:	45	34

При исследовании операционного материала, было установлено, что в среднем было удалено 10,1[±0,5] лимфоузлов в группе AP+ и 10,9 [±0,5] лимфоузлов в группе AP-. Сравнимые группы не имели существенных различий по количеству метастатических лимфоузлов, в группе AP+ среднее число метастатических лимфатических узлов составило 1,6 [±0,3] в группе AP- 1[±0,3]. Проращение капсулы лимфоузла было найдено в 10% (n=5) случаев в группе AP+ и в 5,7% (n=1) случаев в группе AP-(p>0,05). Наличие опухолевых клеток в лимфатических сосудах и в кровеносном микроциркуляторном русле относится к одной из стадий метастатического процесса и является неблагоприятным прогностическим фактором. В процессе изучения данных параметров в исследуемых группах было установлено, что в данной популяции, более агрессивно ведут себя опухоли группы AP-. Так, лимфо-васкулярная инвазия преобладала в группе опухолей с отрицательной экспрессией- 19 (54,3%) по сравнению с 16 случаями (32%) в группе AP+ (p=0,05). Фокусы рака in situ в 6 случаях (12%) были обнаружены в группе AP+, этот же признак в группе AP- встречался в 2 случаях (5,7%), однако различия оказались статистически не достоверными (p>0,05). Мультицентричный рост опухоли после гистологического исследования материала встречался только в группе AP+ в одном случае (7,6%) (Таблица 20).

Таблица 20 - Распределение больных по гистологическим характеристикам операционного материала в зависимости от рецепторного статуса опухоли

Гистологические характеристики опухоли	Статус рецепторов андрогена	
	AP+ Абс.значение(%)	AP- Абс.значение(%)
Ср. кол-во удаленных л/у	10,1 ±0,5	10,9 ±0,5
Ср.кол-во метастатических л/у	1,6 ±0,3 (макс.-11 мин.-0)	1 ±0,3 (макс.-10 мин.-0)
Прорастание капсулы л/у	5 (10%)	2 (5,7%)
Лимфоидная инфильтрация опухоли	9 (18%)	5 (14,2%)
Лимфо- васкулярная инвазия	16 (32%)	19 (54,3%)
Фокусы рака in situ	6 (12%)	2 (5,7%)
Мультицентричность	1 (7,6%)	-

Степень лечебного патоморфоза была различна в двух группах, при исследовании в группе AP- было 2 случая (5,7%) патоморфоза 1 степени. В группе AP+ 1 степень была у 7 пациенток (14%), 2 степень в 8 случаях (16%), и в 1 случае (2%)- 3 степень (Рисунок 12).

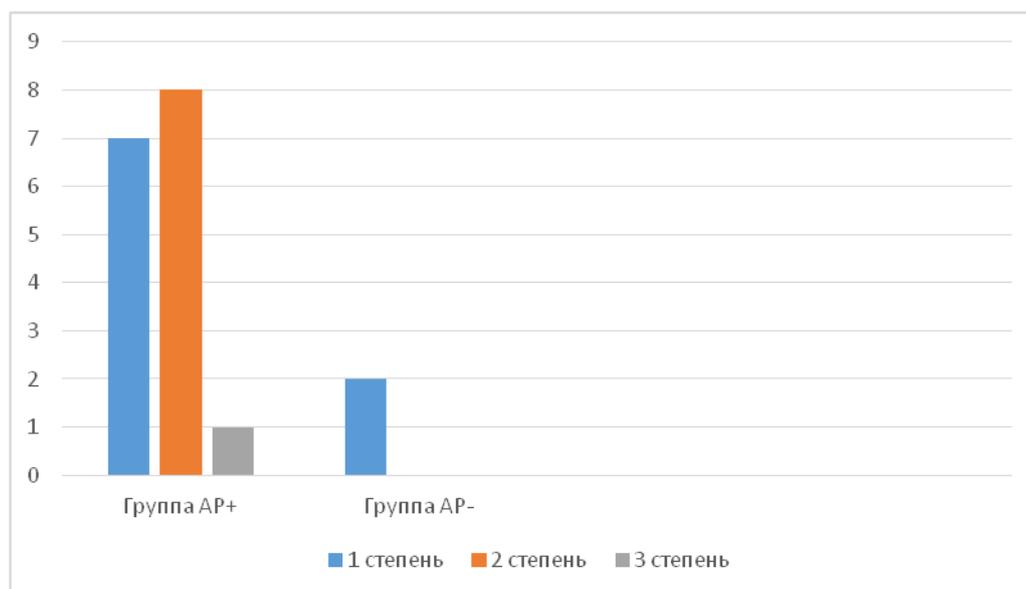


Рисунок 12 - Распределение больных в зависимости от степени злокачественности опухоли и рецепторного статуса опухоли

3.3. Лечение пациентов ТН РМЖ в зависимости от рецепторного статуса опухоли

Подавляющее большинство пациенток как в первой (97% n=49), так и во второй (97% n=34) группе получили хирургическое лечение. При анализе объема проведенного хирургического лечения были получены следующие данные: в группе AP+ , радикальная мастэктомия была выполнена в 56% (n= 28) случаев, радикальная резекция в 40% (n=20) случаях и 1 (2%) случай санационной мастэктомии. Также в этой группе выполнено 3 профилактические мастэктомии и в 1 случае профилактическая овариэктомия. В группе AP- в 57,1% (n= 20) была выполнена радикальная мастэктомия, в 37,1% (n= 13) радикальная резекция и 1 (2,8%) случай санационной мастэктомии. Профилактическая мастэктомия с одномоментной профилактической овариэктомией была выполнена 1 пациентке, при гистологическом исследовании операционного материала верифицирована аденокарцинома яичников (Таблица 21, Рисунок 13).

Таблица 21 - Распределение больных ТН РМЖ в зависимости от вида лечения и рецепторного статуса опухоли

Вид лечения	Статус рецепторов андрогена	
	AP+ Абс.значение(%)	AP- Абс.значение(%)
Комплексное	24 (48%)	14 (39,9%)
Комбинированное	24 (48%)	19 (54,2%)
Только ХТ	12 (4%)	1 (2,8%)
Только операция	-	1 (2,8%)
Всего	50	35

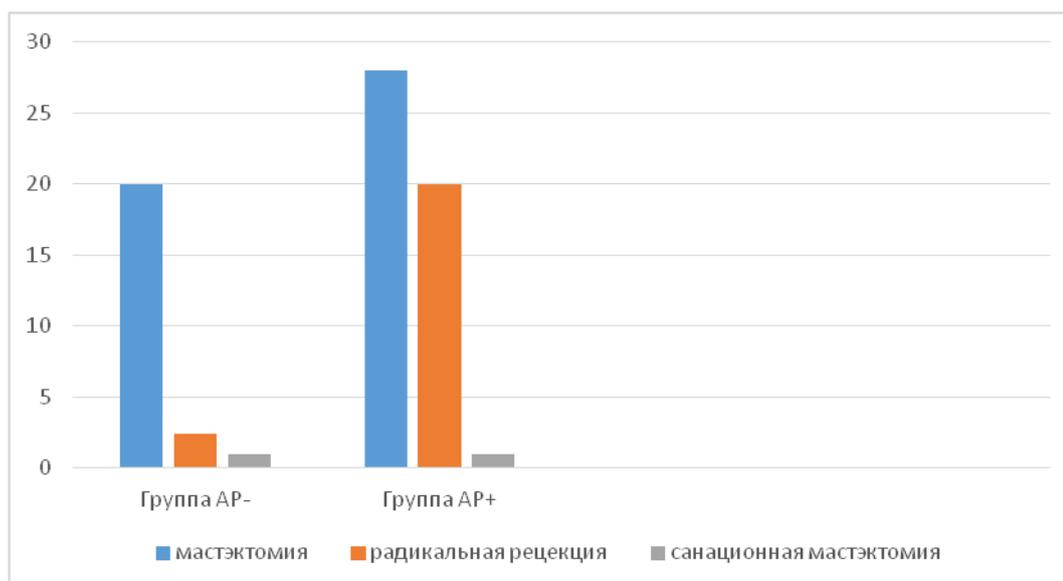


Рисунок 13 - Распределение больных в зависимости от вида хирургического лечения и рецепторного статуса опухоли.

В группе AP+ неoadъювантную химиотерапию получили 16 человек (32%) из них 13 (26%) получили также адъювантную химиотерапию. Среднее число курсов НеоАХТ в группе AP+ составило $5,1 \pm 0,8$, максимально 15, минимально-2.

Неoadъювантную химиотерапию в группе AP- получили 4 пациентки (11,2%), из них 3 (8,5%) в дальнейшем получили также адъювантное лечение. Среднее число курсов НеоАХТ в группе AP- было $4,2 \pm 1,1$. Максимальное количество курсов составило 6, минимально-1. в группе AP+ адъювантную химиотерапию получили 31 пациентка (62%). Среднее число курсов АХТ в группе AP+ 4, макс.- 8, мин.-1. Наиболее часто назначаемая схема ХТ- АС и САФ.

При оценке эффективности проведенного неoadъювантного лечения были получены следующие данные: в группе AP- в 2 (5,7%) случаях был получен частичный эффект и в 1 (2,8%) случае было зарегистрировано прогрессирование заболевания. В группе AP+ так же встречался один случай прогрессирования заболевания, однако, в целом опухоли этой группы лучше отвечали на химиотерапию, данные представлены в таблице 22.

Таблица 22 - Эффективность проведенного неоадьювантного лечения в зависимости от рецепторного статуса опухоли.

Эффект неоадьювантной химиотерапии	Статус рецепторов андрогена	
	AP+ Абс.значение(%)	AP- Абс.значение(%)
1	2 (4%)	2 (5,7%)
2	9 (18%)	1 (2,8%)
3	4 (8%)	-
4	1 (2%)	1 (2,8%)

Адьювантную химиотерапию в группе AP- получили 31 пациентка (88,5%). Среднее число курсов АХТ в группе AP- было 6. Макс.19 минимально 1. Наиболее часто назначаемая схема АХТ – САФ.

Лучевая терапия была проведена в половине случаев в каждой группе- 56% пациенток получили лучевое лечение в группе AP+ и 57,1% пациенток в группе AP-. Во всех случаях лечение проводилось в адьювантном режиме, среднее СОД составило $48,9 \pm 0,4$ Гр. К молочной железе подводилась доза методом обычного фракционирования до СОД - 48-50 Гр, а в случае патологоанатомической оценки критерия N1-2 к подмышечной и над-подключичной областям подводилась доза до СОД – 44-46 Гр. Пациенткам с центральной и внутренней локализацией опухоли проводилось облучение зоны парастеральных лимфоузлов, используя одну из методик: дистанционное до СОД - 44-46 Гр или внутритканевое до СОД - 80 Гр.

3.4. Отдаленные результаты лечения пациенток с ТН РМЖ в зависимости от рецепторного статуса опухоли

Медиана наблюдения за пациентами составила 36,8 месяцев [$40,2 \pm 2,4$ мес.]. За время наблюдения за пациентками исследуемых групп рецидив заболевания был зарегистрирован с практически одинаковой частотой в обеих группах: у пациенток группы AP- 14,2% (n=5) случаев, в группе AP+ в 8% (n=4) случаев ($p > 0,05$). Локализация рецидива в группе AP- п/о рубец в 100% случаев. Среднее

расстояние от п/щ рубца до рецидива 1см. Локализация рецидива в группе AP+ в 2 (4%)случаях- п/о рубец, и в 1 (2%) случае- молочная железа. У двух пациенток группы AP+ было выполнено гистологическое и иммуногистохимическое исследование рецидивной опухоли. При исследовании опухолевой ткани рецидива заболевания, отсутствовала 1 степень злокачественности, в одном случае (2%)- 2 степень и в одном (2%)- 3. Обращает на себя внимание индекс пролиферативной активности, резко отличающийся в этих двух случаях. В первом случае опухоль имела 2 степень злокачественности и индекс Ki67 был 18%, при этом во втором случае рецидива заболевания, имеющим 3 степень злокачественности, Ki67 был 80%.

Возникновение отдаленных метастазов так же с практически одинаковой частотой встречалось в обеих группах: 26% (n=13) в группе AP+ и 20% (n=7) в группе AP- ($p>0,05$) (Таблица 23).

Таблица 23 - Распределение случаев обнаружения метастазов у больных ТН РМЖ в зависимости от локализации метастазов и рецепторного статуса опухоли

Локализация метастазов	Статус рецепторов андрогена	
	AP+ Абс.значение(%)	AP- Абс.значение(%)
Печень	4 (8%)	1 (2,8%)
Легкие	4 (8%)	3 (8,5%)
Кости	6 (12%)	3 (8,5%)
Головной мозг	2 (4%)	-
Надключич.л/у	-	1 (2,8%)
Подключич.л/у	-	1 (2,8%)
Парастеральные л/у	-	1 (2,8%)
Костный мозг	1 (2%)	-
Кожа	-	1 (2,8%)

Как видно из таблицы, наиболее распространенная локализация метастазов в группе AP+ кости (12% n= 6), в группе AP- по 8,5% (n=3) случаев легкие и кости (Рисунок 14 и 15).

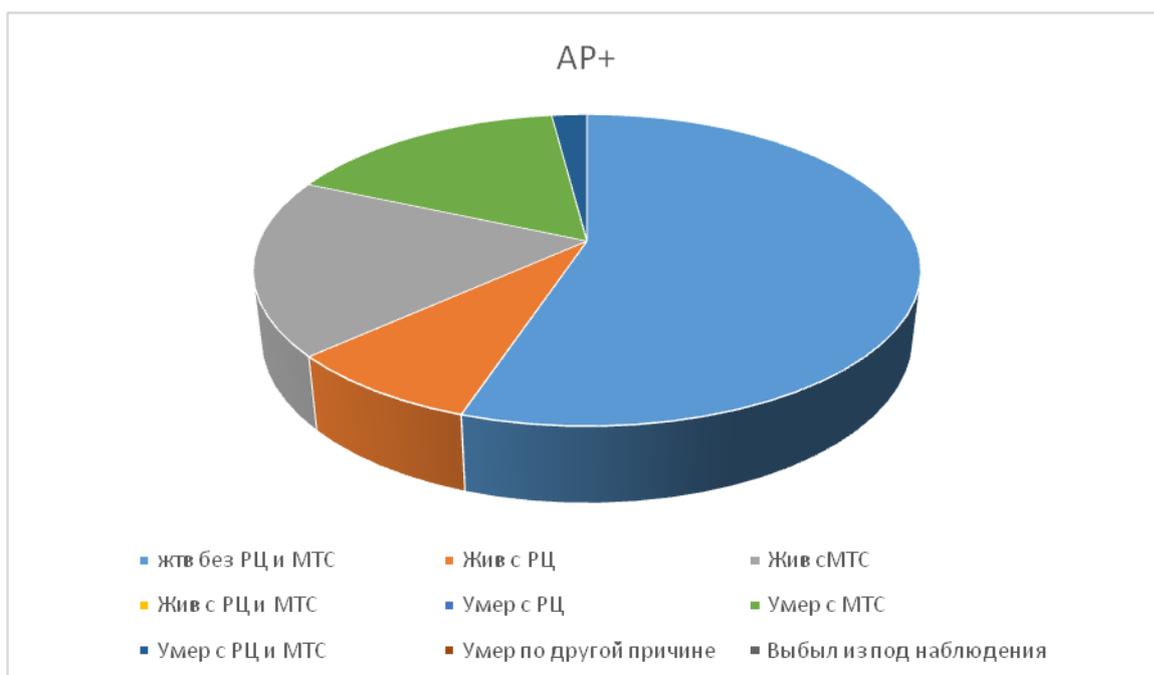


Рисунок 14 - Распределение больных ТН РМЖ в зависимости от статуса на момент последнего контроля в группе AP+

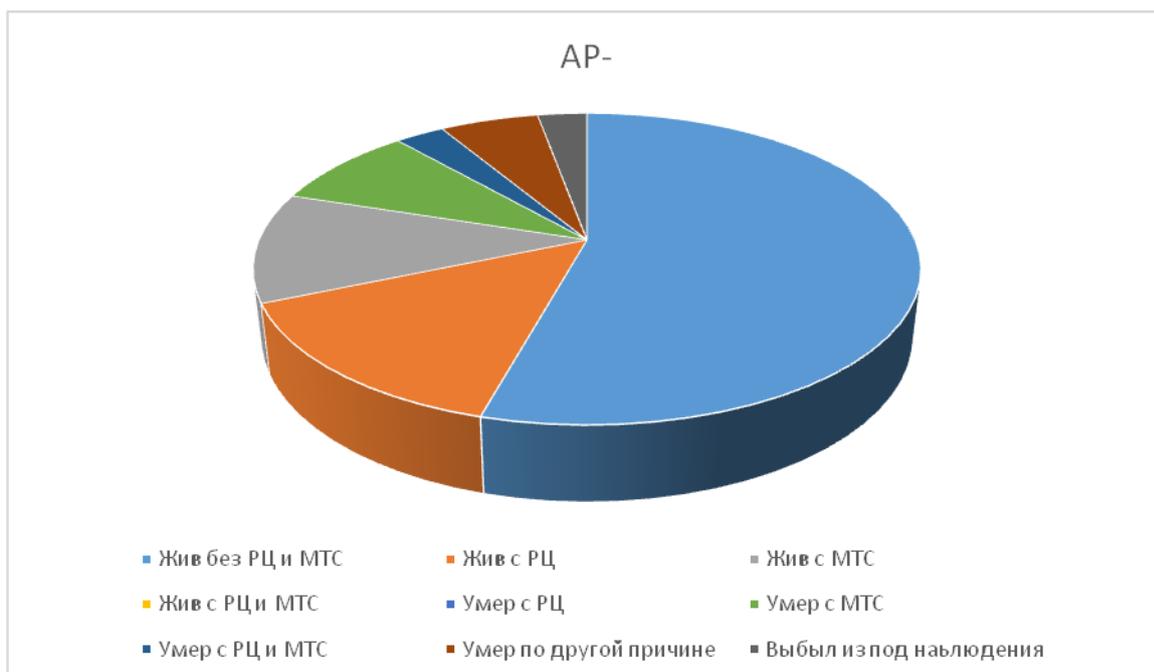


Рисунок 15 - Распределение больных ТН РМЖ в зависимости от статуса на момент последнего контроля в группе AP-

При изучении статуса пациенток на момент последнего контроля в сравниваемых группах, статистически достоверных различий найдено не было ($p > 0,05$). На момент последнего контроля в обеих группах были живы 80%

пациенток (40 человек в 1 группе, и 28 во второй), в группе AP+ умерли 10 пациенток (20%), в группе AP- умерли 6 больных (17,1%)($p>0,05$) (Таблица 24).

Таблица 24 - Распределение больных ТН РМЖ в зависимости от статуса на момент последнего контроля и статуса рецепторов андрогена.

Статус на момент последнего контроля	Статус рецепторов андрогена	
	AP+ Абс.значение(%)	AP- Абс.значение(%)
Жив без РЦ и МТС	27 (54%)	19 (54,2%)
ЖИВ с РЦ	4 (8%)	5 (14,2%)
Жив с МТС	9 (18%)	4 (11,4%)
ЖИВ с РЦ и МТС	-	-
Умер с РЦ	-	-
Умер с МТС	8 (16%)	3 (8,5%)
Умер с РЦ и МТС	1 (2%)	1 (2,8%)
Умер по другой причине	1 (2%)	2 (5,7%)

Таким образом, в 85 случаях заболевания ТН РМЖ, изученных в данной работе, положительная экспрессия рецепторов андрогена встречалась достоверно чаще ($p=0,05$). При сравнении клинического течения заболевания в исследуемых группах было отмечено, что случаи РМЖ в 1 линии чаще наблюдались у пациенток группы AP+. Наличие кожных симптомов так же чаще было в группе AP+, однако, в обеих группах преобладала IIa стадия. При анализе различий по гистологическим критериям в группах AP+ и AP-, было выявлено, что лимфо-васкулярная инвазия в наибольшем числе наблюдений встречалась в группе AP-, так же как и третья степень злокачественности опухоли, что говорит о более агрессивном течении ТН РМЖ с отрицательной экспрессией рецепторов андрогена.

3.5. Клиническое и прогностическое значение уровня экспрессии рецепторов андрогена

Средний балл экспрессии рецепторов андрогена в группе AP+ ($n=50$) составил $4,36 \pm 0,2$ балла. В зависимости от уровня экспрессии рецепторов

пациентки были разделены на две подгруппы: со слабоположительной экспрессией (1-3 балла согласно методике Allred) - 19 человек (38%) и с высокоположительной экспрессией (4-8 балла)- 31 человек (62%). При сравнении этих двух групп по количеству случаев, опухолей с высокоположительной экспрессией оказалось достоверно больше ($p=0,05$). Средний балл экспрессии в группе AP+ (1-3 балла) составил $2,74 \pm 0,1$, в группе AP (4-8 балла)- $5,3 \pm 0,2$.

Средний возраст пациенток составил $52,5 \pm 3,1$ лет (медиана- 53,7, минимально- 31,1 лет, максимально- 78,8 лет) в группе AP+ (слабоположительный) и $54,2 \pm 2,2$ лет (медиана- 54,3лет, минимально- 31,1лет, максимально- 79,2 лет) в группе AP+ (высокоположительный). Преимущественно в исследуемых группах также встречалась IIa стадия (Таблица 25).

Таблица 25 - Распределение больных AP+ ТН РМЖ по стадиям заболевания в зависимости от уровня экспрессии рецепторов андрогена.

Стадия заболевания	Уровень экспрессии рецепторов андрогена	
	AP+ (слабоположительный 1-3 балла) Абс.значение(%)	AP+ (высокоположительный 4-8баллов) Абс.значение(%)
I	4 (21%)	4 (12,9%)
II a	6 (31,5%)	10 (32,2%)
II b	5 (26,3%)	5 (16,1%)
III a	1 (5,2%)	2 (6,4%)
III b	2 (10,5%)	7 (22,5%)
III c	1 (5,2%)	3 (9,6%)
Всего:	19	31

Пациентки обеих подгрупп в основном находились в состоянии менопаузы, по количеству случаев статистически достоверной разницы не было ($p>0,05$) (Таблица 26).

Таблица 26 - Распределение больных AP+ ТН РМЖ в зависимости от менструальной функции и уровня экспрессии рецепторов андрогена

Менструальный статус	Уровень экспрессии рецепторов андрогена	
	AP+ (слабоположительный 1-3 балла) Абс.значение(%)	AP+ (высокоположительный 4-8 баллов) Абс.значение(%)
Менопауза	12 (63,1%)	20 (64,5%)
Сохр.функция	7 (36,8%)	11 (35,4%)
Всего	19	31

Пациентки, у которых не было беременности преобладали в группе AP+ (4-8 баллов) ($p>0,05$). При сравнении частоты встречаемости сопутствующих заболеваний и наиболее распространенных факторов риска статистически достоверных различий найдено не было ($p>0,05$) (Таблица 27).

Таблица 27 - Распределение больных AP+ ТН РМЖ в зависимости от фактора риска, сопутствующей патологии и уровня экспрессии рецепторов андрогена

Сопутствующая патология, фактор риска	Уровень экспрессии рецепторов андрогена	
	AP+ (слабоположительный 1-3 балла) Абс.значение(%)	AP+ (высокоположительный 4-8 баллов) Абс.значение(%)
Отсутствие беременности и родов	2 (10,5%)	7 (22,5%)
Среднее количество аборт	1,5±0,2	1,4±0,3
Миома матки	3 (15,7%)	3 (9,6%)
ожирение	2 (10,5%)	2 (6,4%)
курение	3 (15,7%)	4 (12,9%)

В исследуемых подгруппах в подавляющем большинстве наблюдений не было случаев онкологических заболеваний среди родственников пациенток, однако, как в группе AP+ (1-3 балла) так и в группе AP+(4-8 баллов) были случаи РМЖ в 1 линии (10,5%, n=2 и 12,9%, n=4 соответственно) ($p>0,05$) и опухолей других локализаций (15,7%, n=3 и 22,5%, n=7) ($p>0,05$) (Таблица 28).

Таблица 28 - Распределение больных AP+ ТН РМЖ в зависимости от семейного анамнеза и уровня экспрессии рецепторов андрогена

Семейный анамнез	Уровень экспрессии рецепторов андрогена	
	AP+ (слабоположительный 1-3 балла) Абс.значение(%)	AP+ (высокоположительный 4-8 баллов) Абс.значение(%)
Не отягощен	13 (68,4%)	18 (58%)
РМЖ в 1 линии	2 (10,5%)	4 (12,9%)
РМЖ во 2 линии	1 (5,2%)	1 (2,8%)
РШМ в 1 линии	-	1 (3,2%)
РШМ во 2 линии	-	1 (3,2%)
Другие опухоли	3 (15,7%)	7 (22,5%)
Рак другой локализации в анамнезе	Рак толстой кишки 1 (5,2%)	-

Поражение левой молочной железы встречалось существенно чаще, чем правой в обеих подгруппах, в большинстве случаев пациентки самостоятельно обнаруживали опухолевый узел. Средний размер опухоли составил 3,2 см в обеих подгруппах ($p>0,05$) (Таблица 29)

Таблица 29 - Распределение больных AP+ ТН РМЖ по данным клинического обследования и уровню экспрессии рецепторов андрогена.

Особенности клинического течения	Уровень экспрессии рецепторов андрогена	
	AP+ (слабоположительный 1-3 балла) Абс.значение(%)	AP+ (высокоположительный 4-8 баллов) Абс.значение(%)
Левая МЖ (n)	14 (73,6%)	18 (58%)
Правая МЖ (n)	5 (26,3%)	13 (41,9%)

Опухоль пальпируется (n)	18 (94,7%)	30 (96,7%)
Болезненность при пальпации (n)	7 (36,8%)	6 (19,3%)
Ср.размер опухолевого узла (см)	3,2 ±0,7 см (макс.-16 см, мин.-1 см)	3,2 ±0,2 см (макс.-6 см, мин.-1 см)
локализация опухоли в верхне-наружном квадранте молочной железы	11 (57,8%)	19 (61,2%)
Наличие кожных симптомов (n)	6 (31,5%)	8 (25,8%)

При сравнении данных клинического обследования (ММГ и УЗИ) выявлены различия: средний размер опухолевого узла при проведении маммографии и ультразвукового исследования молочных желез и регионарных зон был больше в группе AP+ (4-8 балла) - 3,1±0,2 см и 2,4 ±0,2 см в группе AP+(1-3 балла)(p=0,05). По количеству случаев обнаружения мультицентричного роста опухоли, наличия микрокальцинатов, состоянию кровотока, количеству пораженных регионарных лимфоузлов статистически значимых различий не было (p>0,05) (Таблица 30).

Таблица 30 - Распределение больных AP+ ТН РМЖ по диагностическим критериям в зависимости уровня экспрессии рецепторов андрогена.

Диагностический критерий	Уровень экспрессии рецепторов андрогена	
	AP+ (слабоположительный 1-3 балла) Абс.значение(%)	AP+ (высокоположительный 4-8 баллов) Абс.значение(%)
Средний размер опухолевого узла по ММГ(см)	2,4 ±0,2 см (максимально-6 см, минимально -1 см)	3,1 ±0,2 (максимально-6 см, минимально- 1 см)
Мультицентричность (n)	4 (21%)	3 (9,6%)
Макс.число узлов в железе (n)	3 у 2 (10,5%)	2 у 3 (9,6%)
Микрокальцинаты (n)	1 (5,2%)	3 (9,6%)

Средний размер опухолевого узла по УЗИ (см)	2,4 ±0,9 см (максимально-4,8 см, минимально-1 см)	3,1±0,2 см (максимально- 6 см минимально- 1 см)
Поражение аксиллярных л/у (n)	11 (57,8%)	17 (54,8%)
Макс.размер мтс л/у (см)	2 см у 2 (10,5%)	2,5 см- 2 (6,4%)
Кровоток (n)	8 (42,1%)	8 (25,8%)
Поражение надключичных л/у (n)	2 (10,5%)	4 (12,9%)
Макс.размер мтс л/у (см)	1 см у 1 (5,2%)	1,6 см-1 (3,2%)

Мутации в гене BRCA1 были обнаружены только в группе со слабоположительной экспрессией рецепторов андрогена, у трех пациенток (15,7%), в группе AP+ (4-8 баллов) не было ни одного случая обнаружения мутации

3.6. Гистологические параметры опухоли в зависимости от уровня экспрессии рецепторов андрогена

Core- биопсия опухоли была выполнена 5 (26,3%) пациенткам из группы со слабоположительной экспрессией рецепторов, во всех случаях гистологически был верифицирован инфильтративный рак неспецифического типа. Опухоли этой группы имели вторую (n=3 15,7%) и третью (n=2 10,5%) степени злокачественности. Средний уровень Ki67 составил 66,6% ±3,3 в группе со слабоположительной экспрессией и 48,3%±6 в группе с высокоположительной экспрессией рецепторов андрогена, что достоверно меньше, чем в группе со слабоположительной экспрессией (p=0,05) (Таблица 31).

В группе AP+ (4-8 баллов) трепан-биопсия до лечения была выполнена 9 (29%) пациенткам, при гистологическом анализе было верифицировано 7 (22,5%) случаев инфильтративного рака, 1 случай долькового рака (3,2%) и 1 – слизистого (3,2%). В этой группе степень злокачественности опухоли была определена

только в 6 (19,3%) случаях, во всех случаях была обнаружена вторая степень злокачественности.

Таблица 31 - Распределение случаев AP+ ТН РМЖ в зависимости от гистологического заключения после Core-биопсии и уровня экспрессии рецепторов андрогена

Гистологическое строение опухоли после core-биопсии	Уровень экспрессии рецепторов андрогена	
	AP+ (слабоположительный 1-3 балла) Абс.значение(%)	AP+ (высокоположительный 4-8 балла) Абс.значение(%)
Инфильтративный рак неспецифического типа	5 (26,3%)	7 (22,5%)
Дольковый рак	-	1 (3,2%)
Редкие гистологические формы	-	1 (3,2%)
Всего:	5	9

При гистологическом исследовании операционного материала в подавляющем большинстве случаев был верифицирован инфильтративный рак неспецифического типа (94,7%, n=18 и 80,6%, n=25 соответственно), в группе AP+ (1-3 балла) был так же один случай (5,2%) слизистого рака, в то время как в группе AP+ (4-8 баллов) было по 3 случая (9,6%) долькового рака и редких форм (2 случая слизистого рака 6,4% и 1 случай тубулярного 3,2%)(p>0,05) (Таблица 32).

Таблица 32 - Распределение больных AP+ ТН РМЖ по гистотипу в зависимости от уровня экспрессии рецепторов андрогена.

Гистологическое строение опухоли	Уровень экспрессии рецепторов андрогена	
	AP+ (слабоположительный 1-3 балла) Абс.значение(%)	AP+ (высокоположительный 4-8 баллов) Абс.значение(%)
Инфильтративный рак неспецифического типа	18 (94,7%)	25 (80,6%)
Дольковый рак	-	3 (9,6%)
Редкие гистологические формы	1 (5,2%) слизистый	3 (9,6%)
Всего:	19	31

Анализируя данные, полученные после оценки степени злокачественности опухоли из операционного материала, статистически достоверных различий найдено не было, вторая степень злокачественности встречалась в 57,8%(n=11) случаев в группе AP+ (1-3 балла) и в 45,1%(n=14) случаев во второй группе ($p>0,05$). Третья степень злокачественности встречалась реже, чем вторая в обеих группах и составила: 31,5%(n=6) в первой группе и 41,9%(n=13) во второй ($p>0,05$) (Таблица 33).

Таблица 33 - Распределение больных AP+ ТН РМЖ по степени злокачественности опухоли в зависимости от уровня экспрессии рецепторов андрогена.

Степень злокачественности опухоли	Уровень экспрессии рецепторов андрогена	
	AP+ (слабоположительный 1-3 балла) Абс.значение(%)	AP+ (высокоположительный 4-8 баллов) Абс.значение(%)
1	-	1 (3,2%)

2	11 (57,8%)	14 (45,1%)
3	6 (31,5%)	13 (41,9%)
Всего:	17	28

При сопоставлении данных гистологического исследования в подгруппах статистически достоверных различий обнаружено не было (Таблица 34).

Таблица 34 - Распределение больных AP+ ТН РМЖ по гистологическим характеристикам операционного материала в зависимости от рецепторного статуса опухоли.

Гистологические характеристики опухоли	Уровень экспрессии рецепторов андрогена	
	AP+ (слабоположительный 1-3 балла) Абс.значение(%)	AP+ (высокоположительный 4-8 баллов) Абс.значение(%)
Ср. кол-во удаленных л/у (n)	10,1 ±1	10 ±0,7
Ср. кол-во метастатических л/у (n)	1,6 ±0,6 (макс.-11, мин.-0)	1,6 ±0,4 (макс.-9, мин.-0)
Проращение капсулы л/у (n)	2 (10,5%)	3 (9,6%)
Лимфоидная инфильтрация опухоли (n)	4 (21%)	5 (16,1%)
Лимфо- васкулярная инвазия (n)	5 (26,3%)	11 (35,4%)
Фокусы рака in situ (n)	3 (15,7%)	3 (9,6%)
Мультицентричность (n)	2 (10,5%)	1 (3,2%)
Микрокальцинаты (n)		-

Прогрессирование заболевания на фоне неoadъювантной химиотерапии встречалось в группе AP+ (1-3 балла) в 1 (5,2%) случае, в этой же подгруппе у двух пациенток (10,5%) отмечен полный эффект. При сравнении случаев

стабилизации и частичного эффекта от неoadъювантной химиотерапии статистически достоверных различий не было ($p>0,05$) (Таблица 35).

Таблица 35 - Эффективность проведенного неoadъювантного лечения в группе AP+ в зависимости от уровня экспрессии рецепторов андрогена.

Эффект неoadъювантной химиотерапии	Уровень экспрессии рецепторов андрогена	
	AP+ (слабоположительный 1-3 балла) Абс.значение(%)	AP+ (высокоположительный 4-8 баллов) Абс.значение(%)
полный эффект	2 (10,5%)	-
частичный эффект	2 (10,5%)	7 (22,5%)
стабилизация	1 (5,2%)	3 (9,6%)
прогрессирование	1 (5,2%)	-

В исследуемых подгруппах преимущественно встречалась 1 и 2 степени лечебного патоморфоза ($p>0,05$), 3 степень была в 1 случае (5,2%) в группе со слабоположительной экспрессией (Таблица 36).

Таблица 36 - Распределение больных AP+ ТН РМЖ в зависимости от степени лечебного патоморфоза и уровня экспрессии рецепторов андрогена.

Степень лечебного патоморфоза	Уровень экспрессии рецепторов андрогена	
	AP+ (слабоположительный 1-3 балла) Абс.значение(%)	AP+ (высокоположительный 4-8 баллов) Абс.значение(%)
1	3 (15,7%)	4 (12,9%)
2	2 (10,5%)	6 (19,3%)
3	1 (5,2%)	-
4	-	-

3.7. Лечение больных AP+ ТН РМЖ в зависимости от уровня экспрессии рецепторов андрогена

Комбинированное лечение заболевания (операция+ химиотерапия, операция+ лучевая терапия) было проведено у половины пациенток в каждой из исследуемых групп и составило: 11 (57,8%) пациенток в группе AP+ (1-3 балла) и

17 (54,8%) в группе AP+ (4-8 баллов). Комплексное лечение (операция+ химиотерапия+ лучевая терапия) получили 7 (36,8%) пациенток в группе AP+ (1-3 балла) и 13 (41,8%) в группе AP+ (4-8 баллов). Только химиотерапия была проведена одной пациентке (5,2%) в 1 группе (AP+ 1-3 балла) и одной пациентке в группе 2 (AP+ 4-8 баллов) (Таблица 37).

Таблица 37 - Распределение больных AP+ ТН РМЖ в зависимости от вида проведенного лечения и уровня экспрессии рецепторов андрогена.

Вид лечения	Уровень экспрессии рецепторов андрогена	
	AP+ (слабоположительный 1-3 балла) Абс.значение(%)	AP+ (высокоположительный 4-8 баллов) Абс.значение(%)
Комплексное	7 (36,8%)	13 (41,8%)
Комбинированное	11 (57,8%)	17 (54,8%)
Только ХТ	1 (5,2%)	1 (3,2%)
Только операция	-	-
Всего:	19	31

При этом основная масса пациенток в обеих группах получила хирургическое лечение (n=18, 94,7% в 1 группе и n=30, 96,7% во второй группе). Радикальная мастэктомия чаще была проведена пациенткам группы с высокоположительной экспрессией (64,5%, n=20), чем в группе AP+ (1-3 балла) (p=0,05) (Таблица 38).

Таблица 38 - Распределение наблюдений в зависимости от объема проведенного хирургического лечения и уровня экспрессии рецепторов андрогена.

Объем операции на молочной железе	Уровень экспрессии рецепторов андрогена	
	AP+ (слабоположительный 1-3 балла) Абс.значение(%)	AP+ (высокоположительный 4-8 баллов) Абс.значение(%)
Радикальная мастэктомия	7 (36,8%)	20 (64,5%)
Радикальная резекция	10 (52,6%)	10 (32,2%)

Санационная мастэктомия	1 (5,2%)	
Всего:	18	30

Также в группе AP (1-3 балла) выполнено 3 профилактические мастэктомии и в 1 случае профилактическая овариэктомия (гистологически- нормальное строение яичников).

Неoadьювантная химиотерапия была проведена с практически одинаковой частотой в исследуемых группах: 31,5% (n=6) в группе AP (1-3 балла) и 32,2% (n=10) в группе AP (4-8 баллов) (p>0,05). Среднее число курсов не отличалось в двух группах: 5,1±1,3 в 1 группе и 5,2±1,1 во второй. Однако, различной оказалась наиболее часто назначаемая схема химиотерапии: в группе AP (1-3 балла) в 15,7% (n=3) случаев была назначена схема AC, в группе AP (4-8 баллов)- CAF 16,1%(n=5). Адьювантная химиотерапия была проведена практически всем пациенткам обеих групп (89,5%, n=17 и 96,7%, n=30 соответственно) (p>0,05), среднее число курсов составило 4,3±0,2 в группе AP(1-3), наиболее часто назначаемая схема- AC (31,5% n=6). В группе AP (4-8 баллов) среднее число курсов адьювантной химиотерапии составило 4,6±0,2, чаще была назначена схема CAF (29%, n=9) (Таблица 39).

Таблица 39 - Распределение больных AP+ ТН РМЖ в зависимости от вида проведенной химиотерапии и уровня экспрессии рецепторов андрогена.

Вид химиотерапии	Уровень экспрессии рецепторов андрогена	
	AP+ (слабоположительный 1-3 балла) Абс.значение(%)	AP+ (высокоположительный 4-8 баллов) Абс.значение(%)
Неoadьювантная химиотерапия	6 (31,5%)	10 (32,2%)
Адьювантная химиотерапия	16 (84,1%)	28 (90,3%)
Всего:	17 (89,5%)	30 (96,7%)

Лучевая терапия в обеих группах была проведена в адъювантном режиме 12(63,1%) пациенткам из первой группы (AP+1-3 балла) и 16 (51,6%) во второй группе (AP+ 4-8 баллов) ($p>0,05$).

3.8. Отдаленные результаты лечения пациенток с AP+ ТН РМЖ в зависимости от уровня экспрессии рецепторов андрогена

Медиана наблюдения за пациентами составила 36,8 месяцев [40,2±2,4 мес.]

При сравнении частоты обнаружения рецидивов заболевания и возникновения отдаленных метастазов статистически значимой разницы получено не было, рецидив заболевания возник у 3 пациенток (15,7%) группы AP+ (1-3 балла) и у одной пациентки из второй группы ($p>0,05$). Метастазы заболевания встречались чаще, с примерно одинаковой частотой в двух группах: 6 (31,5%) случаев в 1 группе и 7 (22,5%) в группе AP+ (4-8 баллов) (Таблица 40).

Таблица 40 - Распределение больных AP+ ТН РМЖ по отдаленным результатам лечения в зависимости от уровня экспрессии рецепторов андрогена.

Отдаленные результаты лечения	Уровень экспрессии рецепторов андрогена	
	AP+ (слабоположительный 1-3 балла) Абс.значение(%)	AP+ (высокоположительный 4-8 баллов) Абс.значение(%)
Рецидив	3 (15,7%)	1 (3,2%)
метастазы	6 (31,5%)	7 (22,5%)
Всего:	9 (47,2%)	8 (25,7%)

Не было зарегистрировано случаев метастазирования опухоли в головной мозг, подключичные и парастернальные лимфатические узлы. При гистологическом исследовании метастатической опухоли (5,2%, n=1) в группе AP+ (1-3 балла) был получен инфильтративный рак неспецифического типа (РЭ-5 баллов, РП-0 баллов, РА-0 баллов), her2 3+, Ki67- 80%. В группе AP+ (4-8 баллов) гистологическое исследование метастаза было выполнено в 2 случаях (6,4%), получен также инфильтративный рак (Таблица 41).

Таблица 41 - Распределение случаев обнаружения метастазов у больных AP+ ТН РМЖ в зависимости от рецепторного статуса опухоли.

Локализация метастазов	Уровень экспрессии рецепторов андрогена	
	AP+ (слабоположительный 1-3 балла) Абс.значение(%)	AP+ (высокоположительный 4-8 баллов) Абс.значение(%)
Печень	1 (5,2%)	3 (9,5%)
Легкие	2 (10,5%)	2 (6,4%)
Кости	3 (15,7%)	3 (9,5%)
Головной мозг	-	-
Надключич.л/у	2 (10,5%)	-
Подключич.л/у	-	-
Парастернальные л/у	-	-
Костный мозг	-	-
Кожа	-	1 (3,2%)

Н На момент последнего контроля большая часть пациентов были живы (78,8%, n=15 в 1 группе и 80,6%, n=25 во второй). В группе AP+ (1-3 балла) умерли 4 (21%) пациентки, в группе AP+ (4-8 баллов)- 6 (19,3%) (p>0,05) (Таблица 42).

Таблица 42 - Распределение больных AP+ ТН РМЖ в зависимости от статуса на момент последнего контроля и уровня экспрессии рецепторов андрогена.

Статус на момент последнего контроля	Статус рецепторов андрогена	
	AP+ (слабоположительный 1-3 балла) Абс.значение(%)	AP+ (высокоположительный 4-8 баллов) Абс.значение(%)
Жив без РЦ и МТС	7 (36,8%)	20 (64,5%)
ЖИВ с РЦ	4 (21%)	-
Жив с МТС	4 (21%)	5 (16,1%)
ЖИВ с РЦ и МТС	-	-
Умер с РЦ	-	-

Умер с МТС	4 (21%)	4 (12,9%)
Умер с РЦ и МТС	-	1 (3,2%)
Умер по другой причине	-	1 (3,2%)

Изученные подгруппы пациенток отличались по следующим признакам: средний размер опухолевого узла при проведении маммографии и УЗИ молочных желез был больше у пациенток группа AP+ (4-8), однако при клиническом осмотре статистически достоверных различий по среднему размеру опухолевого узла не было. При сравнении среднего уровня KI67 после трепан- биопсии значения этого показателя были больше в группе с низкоположительной экспрессией рецептора андрогена, по гистологическому строению и степени злокачественности опухоли после трепан- биопсии статистически значимых различий не было.

3.9. Общая и безрецидивная выживаемость пациенток с ТН РМЖ в зависимости от рецепторного статуса опухоли

Медиана общей выживаемости пациенток с AP+ ТН РМЖ составила 80,3 месяца, в группе в отрицательной экспрессией- 102 месяца, однако эти различия оказались статистически недостоверными ($p= 0,46$) (Таблица 43).

Таблица 43 - Общая выживаемость пациенток с ТН РМЖ в зависимости от рецепторного статуса опухоли.

Общая выживаемость	1 год	3 года	5 лет	Медиана (мес.)
AP- Абс. (%)	93,7±4,3	81,8±8,0	72,5±12,8	102
AP+ Абс. (%)	100	89,6±5,0	69,6±9,7	80,3

Следует отметить, что как при сравнении 5-летней, так и 3-летней общей выживаемости среди пациенток исследуемых групп статистически достоверных различий получено не было ($p>0,05$) (Рисунок 16).

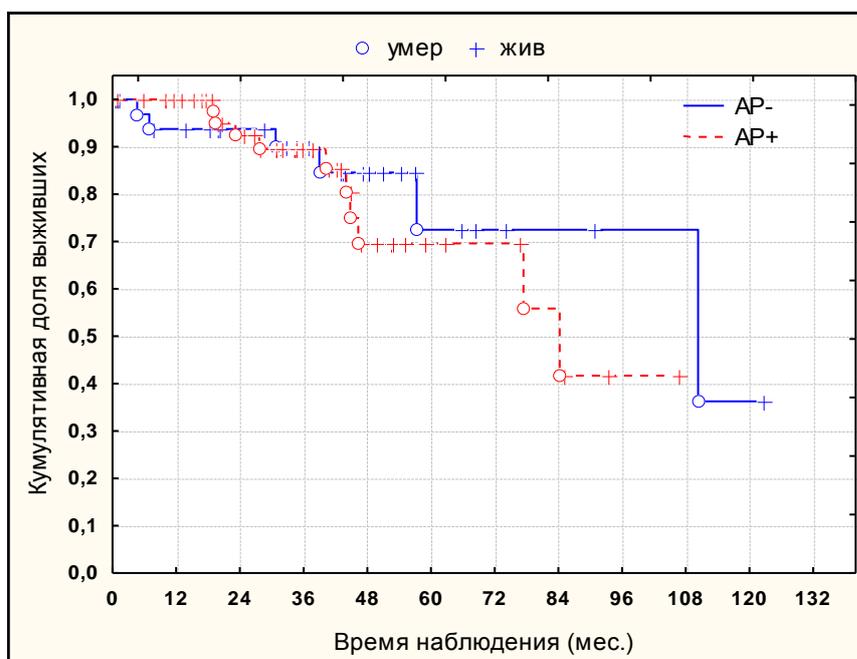


Рисунок 16 - Общая выживаемость пациенток с ТН РМЖ в зависимости от рецепторного статуса опухоли

Медиана времени до прогрессирования заболевания составила 64 месяца в Группе AP+, что статистически достоверно не отличается от выживаемости пациенток в группе AP-, где медиана не была достигнута ($p=0,86$). При анализе 3-х и 5-летней безрецидивной выживаемости в двух группах статистически значимых различий также получено не было ($p>0,05$) (Таблица 44 и рисунок 44).

Таблица 44 - Безрецидивная выживаемость пациенток с ТН РМЖ в зависимости от рецепторного статуса опухоли.

	1 год	3 года	5 лет	Медиана (мес.)
AP- Абс. (%)	93,7±4,3	72,7±8,3	51,8±11,8	
AP+ Абс. (%)	100	65,0±8,0	51,4±10,8	64,0

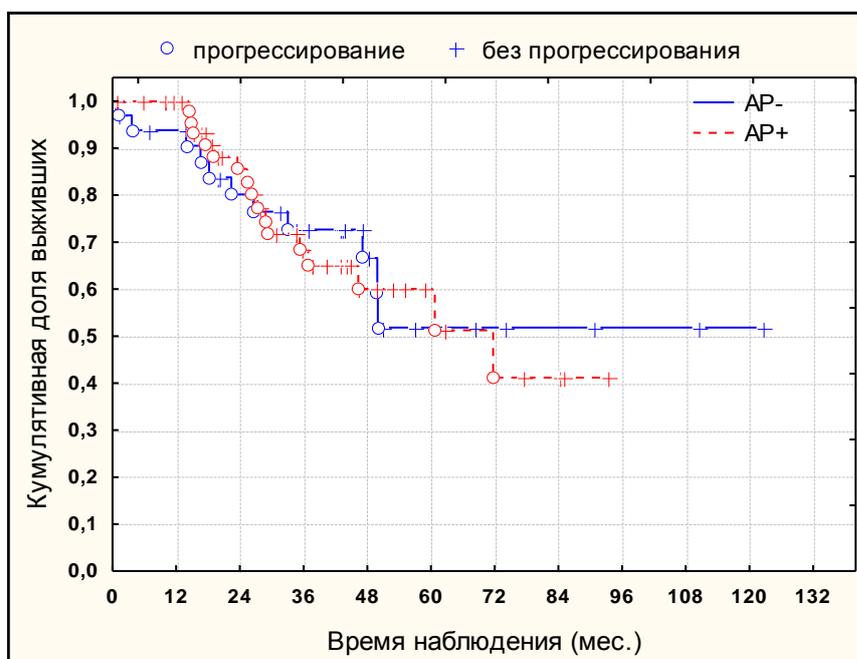


Рисунок 17 - Безрецидивная выживаемость пациенток с ТН РМЖ в зависимости от рецепторного статуса опухоли

II При сравнении показателей общей выживаемости пациенток с AP+ ТН РМЖ в зависимости от уровня экспрессии рецепторов андрогена статистически значимых различий не было ($p > 0,05$) (Таблица 45), однако анализ показателей безрецидивной выживаемости показал, что выше было значение показателя кумулятивной доли выживших при среди пациенток с высокоположительным AP+ ТН РМЖ ($p = 0,05$) (Таблица 46, рисунок 18).

Таблица 45 - Общая выживаемость пациенток с ТН РМЖ в зависимости от уровня экспрессии рецепторов андрогена

	1 год	3 года	5 лет	Медиана (мес.)
AP+ (слабоположительный) Абс. (%)	100	87,1±8,6	56,0±19,1	
AP+ (высокоположительный) Абс. (%)	100	91.5±5,8	76,8±10,7	80,2

Таблица 46 - Безрецидивная выживаемость пациенток с AP+ ТН РМЖ в зависимости от уровня экспрессии рецепторов андрогена

	1 год	3 года	5 лет	Медиана (мес.)
AP+ (слабоположительный) Абс. (%)	100	56,7±12,1	38,7±12,4	41,2
AP+ (высокоположительный) Абс. (%)	100	75,6±9,5	75,6±9,5	

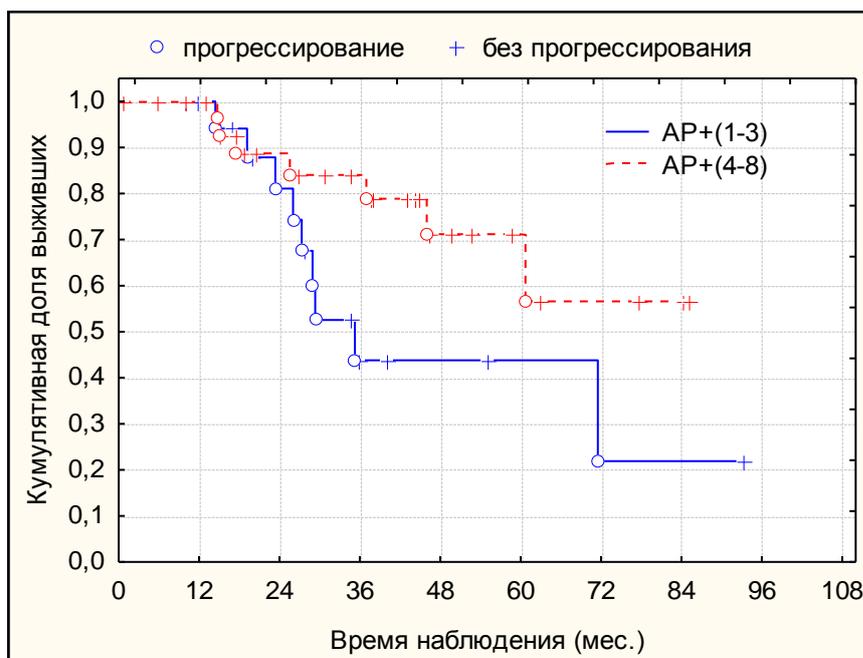


Рисунок 18 - Безрецидивная выживаемость пациенток с AP+ ТН РМЖ в зависимости от уровня экспрессии рецепторов андрогена.

Исследование зависимости общей выживаемости пациенток от стандартных факторов прогноза течения заболевания (средний размер опухолевого узла, степень злокачественности опухоли, лимфоваскулярная инвазия, средний уровень Ki67) не показало статистически достоверных отличий в двух группах (Рисунок 19).

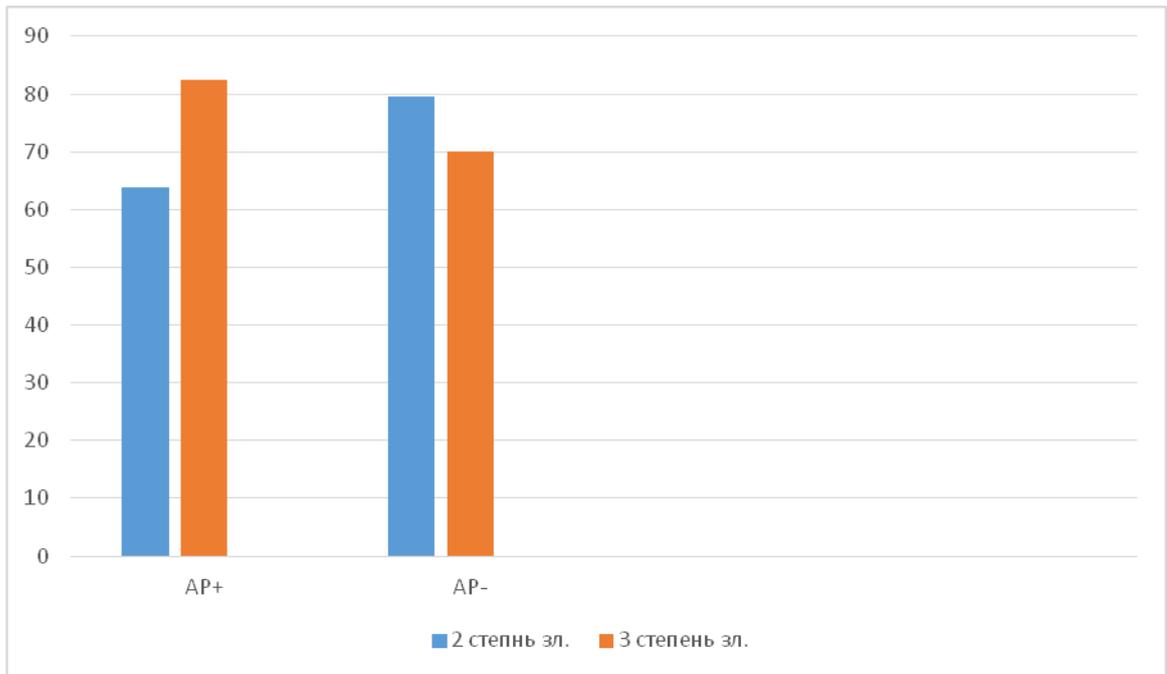


Рисунок 19 - Показатели общей 5-летней выживаемости пациенток в зависимости от степени злокачественности опухоли и рецепторного статуса опухоли.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Частота встречаемости AP+ ТН РМЖ по данным различных авторов варьирует от 10-90% [74;109]. В ходе нашей работы, положительная экспрессия рецепторов андрогена была обнаружена в 58,8% (n=50) случаев.

Проведенное нами исследование показало, что гистологически среди ТН РМЖ преимущественно встречается инфильтративный рак неспецифического типа, однако опухоль может быть представлена редкими гистологическими формами- слизистый, медулярный, папиллярный и т.д. В нашем исследовании было обнаружено большое число случаев ТН РМЖ с высокой степенью злокачественности, с лимфо-вазкулярной опухолевой инвазией, высокими показателями индекса Ki67, что свидетельствует о достаточно агрессивном поведении данного подтипа РМЖ. Эти данные не противоречат результатам мировых исследований [41;49;66].

В представленной работе проанализированы показатели общей и безрецидивной выживаемости 85 пациенток с ТН РМЖ в зависимости от рецепторного статуса опухоли, а также, в зависимости от уровня экспрессии рецепторов андрогена у больных AP+ ТН РМЖ (58,8%, n=50). полученные результаты позволяют предположить прогностическую ценность рецепторов андрогена на поверхности клеток ТН РМЖ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рак молочной железы является одним из самых распространенных злокачественных новообразований у женщин во всем мире. Данное заболевание является гетерогенным, что обусловлено комплексным взаимодействием молекулярных, биологических и генетических факторов. Одним из наиболее изучаемых и, в тоже время плохо поддающимся лечению подтипом РМЖ является тройной негативный рак. ТНРМЖ- относительно новый термин, используемый для описания множества подтипов рака молочной железы, характеризующегося отсутствием экспрессии рецептора эстрогена (ЭР), рецептора прогестерона (ПР) и белка HER2. На долю ТНРМЖ приходится примерно 15-20% всех новых диагностированных случаев рака молочной железы, однако на него же приходится непропорционально большое число смертей, связанных с раком молочной железы, составляющих 5% всех случаев смерти от рака в год [1, 2] из-за отсутствия рецепторов пациенты с ТНРМЖ не имеют возможности использовать эндокринную терапию, направленную на ЭР и HER2. Данный тип рака молочной железы протекает более агрессивно, имеет более высокий риск прогрессирования и характеризуется низкой общей выживаемостью.

В последние годы было опубликовано множество исследований, подтверждающих наличие экспрессии рецепторов андрогена при РМЖ [88], при этом, положительная экспрессия АР встречается в 10- 50% случаев ТН РМЖ. [111,109]. Было проведено большое количество исследований для понимания отношений между уровнями андрогенов и риском рака молочной железы у женщин, но результаты противоречивы. На сегодняшний день не существует четкой взаимосвязи между уровнями циркулирующих андрогенов и риском РМЖ, однако экспрессия рецепторов андрогена опухолями ТНРМЖ может рассматриваться как потенциальная мишень для использования антиандрогенной терапии.

Таким образом, целью нашего исследования являлось изучение влияния содержания и уровня экспрессии рецепторов андрогена на выживаемость больных тройным негативным раком молочной железы и оценка диагностической и прогностической значимости этого маркера.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи: Изучить частоту встречаемости ТН РМЖ, оценить процентное соотношение АР+ ТН РМЖ и АР- ТН РМЖ, сравнить особенности клинического течения АР+ ТН РМЖ и АР- ТН РМЖ, изучить показатели общей и безрецидивной выживаемости больных АР+ ТН РМЖ и АР- ТН РМЖ, определить клинические факторы прогноза АР+ ТН РМЖ и АР- ТН РМЖ.

В рамках исследования были изучены 627 историй болезни пациенток с морфологически подтвержденным диагнозом рака молочной железы, получавших лечение в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» в период с 2008 по 2015гг., из которых было выделено 113 случаев заболевания с иммуногистохимически подтвержденным тройным негативным фенотипом. Иммуногистохимическое исследование уровня экспрессии рецепторов андрогена было выполнено в 85 случаях из 113. Настоящее исследование представлено двумя группами пациенток: с положительным статусом рецепторов андрогена (I группа АР+) и с отрицательным (II группа АР-).

В нашем исследовании доля ТН РМЖ составила 18% (n=113), положительная экспрессия рецепторов андрогена обнаружена в 58,8% (n=50) случаев, отрицательная - в 41,1% (n=35) случаев (p=0,05).

В работе был проведен анализ клинического течения заболевания ТН РМЖ и выявлены следующие закономерности: средний возраст пациенток с ТН РМЖ составил $54,5 \pm 1,1$ лет [28,9-79,2], большая часть пациенток находились в состоянии менопаузы. У 18,5 % пациенток (n=21) установлен отягощенный онкологический анамнез, в 8 % случаев (n= 9) обнаружен рак молочной железы в 1 линии. Па стадия заболевания была диагностирована в наибольшем количестве случаев- (33,6% n=38). Средний размер опухолевого узла составил $3 \pm 0,2$ см.

Нами были выявлены следующие гистологические критерии опухоли с тройным негативным фенотипом:

1. Наиболее распространенным гистологическим вариантом опухоли в обеих группах стал инвазивный рак неспецифического типа (84,9 % n=96)
2. Преимущественно встречалась 3 степень злокачественности (49,5 % n=56)
3. Средний уровень Ki67 составил $48,8 \pm 3\%$.

В основном пациентки получали хирургическое лечение с последующей адъювантной химиотерапией (n=37, 32,7%), или комплексное лечение (операция с последующим химио-лучевым лечением) в 34 случаях (30%).

В нашей работе было проведено сравнение клинического течения заболевания ТН РМЖ в зависимости от наличия рецепторов андрогена. Средний возраст пациенток в исследуемых группах составил $53,5 \pm 2,1$ лет в первой группе (AP+) и $56,8 \pm 1,7$ лет - во второй (AP-) ($p > 0,05$). Опухоли, экспрессирующие рецептор андрогена в большинстве наблюдений обнаруживались у пациенток в возрастной группе 60-69 лет (57,9% n=11), опухоли с отрицательной экспрессией чаще обнаруживались у пациенток возрастной группы от 70 лет и старше (46,7% n=7). ($p > 0,05$). В большинстве наблюдений пациентки обеих групп находились в состоянии менопаузы, 64% (n=32) и 74,2% (n=26) ($p > 0,05$).

При сопоставлении гистологических параметров в двух исследованных группах, были выявлены следующие достоверные различия:

1. лимфо-вазкулярная инвазия в наибольшем числе наблюдений встречалась в группе AP-
2. третья степень злокачественности чаще обнаруживалась в группе AP-ТН РМЖ
3. Среднее значение Ki67 было достоверно выше в группе AP- ($58,8 \pm 5,3\%$) по сравнению с $41,2 \pm 5,3\%$ в группе AP+ ($p = 0,05$).

Эти данные свидетельствуют о наличии неблагоприятных гистологических параметрах опухолей с отрицательной экспрессией.

По данным различных авторов, AR экспрессируется в 10-43% ТНРМЖ, однако прогностическая ценность AR экспрессии в этом подтипе РМЖ пока неясна, хотя в некоторых исследованиях показано уменьшение смертности и лучший прогноз в случае андроген-позитивного ТН РМЖ [91]. Например, Hu et al. (2011 г.), анализируя AR экспрессию в 211 случаях ТНРМЖ, отметил в 83% увеличение общей смертности в AR негативной группе [97]. в некоторых исследованиях AR-позитивные ТН РМЖ характеризовались уменьшением частоты наличия метастазов в лимфоузлах [77, 111], меньшими размерами опухолями, более высокой дифференцировкой [74].

В исследовании также был проведен анализ клинической и прогностической значимости уровня экспрессии рецепторов андрогена. Средний балл экспрессии рецепторов андрогена в группе AP+ (n=50) составил $4,36 \pm 0,2$ балла. Средний возраст пациенток составил $52,5 \pm 3,1$ лет. Мы не обнаружили клинически значимых достоверных различий в клиническом течении заболевания ТН РМЖ в подгруппах с разным уровнем экспрессии (со слабоположительной экспрессией (1-3 балла согласно методике Allred) - 19 человек (38%) и с высокоположительной экспрессией (4-8 балла)- 31 человек (62%)). Так же, при сравнении 5-летней, так и 3-летней общей выживаемости среди пациенток исследуемых групп статистически достоверных различий получено не было ($p > 0,05$), однако анализ показателей безрецидивной выживаемости показал, что выше было значение показателя кумулятивной доли выживших при среди пациенток с высокоположительным AP+ ТН РМЖ ($p = 0,05$).

Таким образом, проведенное нами исследование показало, что гистологически среди ТН РМЖ преимущественно встречается инфильтративный рак неспецифического типа, однако опухоль может быть представлена редкими гистологическими формами- слизистый, медуллярный, папиллярный и т.д. В нашем исследовании было обнаружено большое число случаев ТН РМЖ с высокой степенью злокачественности, с лимфо-вазкулярной опухолевой инвазией, высокими показателями индекса Ki67, что свидетельствует о

достаточно агрессивном поведении данного подтипа РМЖ. Эти данные не противоречат результатам мировых исследований [41;49;66].

В представленной работе проанализированы показатели общей и безрецидивной выживаемости 85 пациенток с ТН РМЖ в зависимости от рецепторного статуса опухоли, а также, в зависимости от уровня экспрессии рецепторов андрогена у больных AP+ ТН РМЖ (58,8%, n=50). полученные результаты позволяют предположить прогностическую ценность рецепторов андрогена на поверхности клеток ТН РМЖ.

Определение основных признаков, характеризующих биологические особенности рака молочной железы (экспрессия стероидных гормонов, Ki67, HER2, циклин D1, mTOR и др.) позволяет индивидуализировать системную терапию, применяя в каждом случае патогенетически направленные лечебные мероприятия. Необходимо подчеркнуть, что исследования в данной области и разработка новых мишеней для лечения ТНРМЖ принципиально важны, так как это позволяет расширить арсенал эффективных средств воздействия на опухоль. Определение чувствительности опухоли к андрогенам позволяет открыть новые горизонты в лечении одного из самых распространенных онкологических заболеваний.

ВЫВОДЫ

1. Доля ТН РМЖ среди всех случаев РМЖ составила 18% (n= 113).
2. Частота опухолей с положительной экспрессией рецепторов андрогена при ТН РМЖ составляет 58,8%, с отрицательной — 41,1% (p=0,05).
3. Особенности клинического течения АР+ТН РМЖ: преобладает IIa стадия заболевания и II степень злокачественности опухоли (p=0,05); АР-ТН РМЖ: преобладает IIa стадия заболевания и III степень злокачественности опухоли (p=0,05). Средний уровень Ki67 достоверно выше в группе с отрицательной экспрессией АР- 58,8±5,3% против 41,2±5,3% в группе АР+ (p=0,05). Лимфо-васкулярная инвазия преобладала в группе опухолей с отрицательной экспрессией- 19 (54,3%) по сравнению с 16 случаями (32%) в группе АР+ (p=0,05).
4. Наличие положительной экспрессии рецепторов андрогена при ТН РМЖ не является независимым фактором прогноза и не оказывает влияние на показатели ОВ и БРВ больных (p>0,05). Достоверным фактором неблагоприятного прогноза возврата заболевания ТН РМЖ является низкий уровень экспрессии (0-3 балла согласно методике Allred) по сравнению с высоким. Показатели БРВ составили 38,7±12,4% в группе с низким уровнем экспрессии и 75,6±9,5% в группе АР+ ТН РМЖ с высокоположительной экспрессией (p=0,05).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Из-за отсутствия рецепторов эстрогена и прогестерона, пациенты с ТН РМЖ не имеют возможности использовать эндокринную терапию, направленную на эти рецепторы, однако, учитывая данные мировой литературы о наличии рецепторов андрогена на поверхности опухолей ТН РМЖ, а так же успешное использование антиандрогенов нового поколения, таких как Энзалутамид и Арбератерон, для лечения метастатического резистентного рака простаты (Biggell et al.), привело к предположению, что их можно использовать и для улучшения клинического течения AP+ рака молочной железы. Не вызывает сомнений необходимость изучения влияния антигормональной терапии на опухоли AP+ ТН РМЖ.

Таким образом, уровень экспрессии рецепторов андрогена может быть использован в клинической практике, как рутинный метод обследования у пациенток, страдающих раком молочной железы, так же, как уровень экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона, как на послеоперационном материале, так и после выполнения Core- биопсии, а также может рассматриваться как потенциальная мишень для терапии.

Учитывая тот факт, что уровни экспрессии стероидных гормонов (ЭР,ПР,АР), а так же амплификация гена Her2 в рецидивной и/или метастатической опухоли могут меняться, рекомендуется проводить иммуногистохимическое исследование опухолевой ткани рецидивной и/или метастатической опухоли для определения их иммунофенотипа.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ASCO (American Society of Clinical Oncology) – Американское общество клинической онкологии

DED – death effector domain

EGF – рецепторы эпидермального фактора роста

HER-2 – human epidermal growth factor receptor 2 – рецептор эпидермального фактора роста II типа

PARP – Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitors demonstrate - ингибиторы поли (АДФ-рибоза) полимеразы

TNM (аббревиатура от tumor, nodus и metastasis) – международная классификация стадий злокачественных новообразований

VEGF – рецепторы фактора роста эндотелия сосудов

AR – андроген рецептор

АСл – андростендион

ген BRCA1 - ген-супрессор, ответственный за развитие рака молочной железы

ген СНЕК2 – опухолевый ген-супрессор (содержится в 22-й хромосоме)

ДГА – дегидроэпиандростендион

ДГАС – дегидроэпиандростендиона сульфат

ДГТ – дигидротестостерон

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

НАПХТ – неоадьювантная полихимиотерапия

пПР – полная патоморфологическая регрессия

РМЖ – рак молочной железы

РП – рецепторы прогестерона

РЭ – рецепторы эстрогенов

ТН РМЖ – рак молочной железы с тройным негативным фенотипом

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аксель, Е.М. Злокачественные новообразования молочной железы: состояние онкологической помощи, заболеваемость и смертность / Е.М. Аксель // Маммология. – 2006. – № 1. – С. 9-13.
2. Андреева, Ю.Ю. Методологические аспекты морфологической диагностики и оценки лечебного патоморфоза тройного негативного рака молочной железы / Ю.Ю. Андреева, Л.Э. Завалишина, Н.В. Данилова и др. // Фарматека. – 2014. – № 8 (281) – С. 13-18.
3. Ашрафян, Л.А. Опухоли репродуктивных органов (этиология и патогенез) / Л.А. Ашрафян, В.И. Киселев. – М.: Изд-во Димитрейд График Групп, 2008. – 216 с.
4. Ашрафян, Л.А. Уровень баланса эстрогенных метаболитов при раке молочной железы и пути его коррекции / Л.А. Ашрафян, Н.А. Бабаева, И.Б. Антонова и др. // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2015. – № 3. – С. 22-29.
5. Бабешкин, Р.Н. Оптимизация лекарственного лечения больных трижды негативным раком молочной железы: автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.12 / Р.Н. Бабешкин. – СПб, 2017. – 35 с.
6. Берштейн, Л.М. Современная эндокринология гормонзависимых опухолей / Л.М. Берштейн // Вопросы онкологии. – 2002. – Т. 48. – № 4. – С. 496-503.
7. Берштейн, Л.М. Гормональный канцерогенез / Л.М. Берштейн. – СПб.: Наука, 2000. – 199 с.
8. Берштейн, Л.М. Подтипы рака молочной железы и их гормонально-метаболическое «обеспечение»: прикладной аспект / Л.М. Берштейн, В.Ф. Семиглазов // Вопросы онкологии. – 2011. – Т. 57, № 5. – С. 559-566.
9. Борисова, Е.И. Эндокринотерапия рака молочной железы: оптимальная последовательность и вопросы преодоления резистентности / Е.И. Борисова, С. Л. Гуторов, А. Ю. Воронцов // Фарматека. – 2012. – № 18. – С. 56-60.

10. Высоцкая, И.В. Эндокринно-чувствительные опухоли репродуктивной системы: руководство для врачей / И. В. Высоцкая, Б.И. Поляков – М.: СИМК, 2014. – 126 с.
11. Гарин, А.М. Десять наиболее распространенных злокачественных опухолей / А.М. Гарин, И.С. Барин. – М.: Макс-Пресс. – 2010. – 380 с.
12. Горелик, М.З. Новые аспекты патогенеза и классификации базальноподобного рака молочной железы / М.З. Горелик, Ю.Ю. Андреева, Л.Э. Завалишина // Архив патологии. – 2013. – Т. 75. – № 4. – С. 48-53.
13. Гуревич, Л.Е. Значение иммуногистохимии для таргетной терапии и прогнозирования в онкологии / Л.Е. Гуревич, И.А. Казанцева, Н.А. Корсакова и др. // Альманах клинической медицины. – 2012. – № 27. – С. 27-34.
14. Диагностика рака молочной железы / под ред. В. А. Хайленко, Д.В. Комова, В. Н. Богатырева. – М.: МИА, 2005. – 240 с.
15. Жукова, Л.Г. Клинические и фундаментальные аспекты прогноза и рационального лечения рака молочной железы с тройным негативным фенотипом: авторефер. дис. ... д-ра мед. наук: 14.01.12 / Л.Г. Жукова. – М., 2015. – 35 с.
16. Жукова, Л.Г. Рак молочной железы с тройным негативным фенотипом у российской популяции больных. Клинико-морфологические особенности / Л.Г. Жукова // Вопросы онкологии . – 2015. – Т. 61, № 2. – С. 189-194.
17. Жукова, Л.Г. Современные возможности и перспективы таргетной терапии при раке молочной железы / Л.Г. Жукова // Практическая онкология. – 2010. – Т.11. – № 3. – С. 182-191.
18. Завалишина, Л.Э. Исследование HER2/neu - статуса рака молочной железы. Методические аспекты / Л.Э. Завалишина и др. // Архив патологии. – 2011. – № 1. – С. 51-54.
19. Зайратьянц, О.В. Особенности экспрессии рецепторов эстрогенов, прогестерона и HER-2 клетками рака молочной железы / О.В. Зайратьянц, С.В. Колобов, К.В. Акопян и др. // Архив патологии. – 2004. – № 5. – С. 9-12.

20. Иванов, В.Г. Таргетная (целевая) терапия рака молочной железы. Миф или реальность / В.Г. Иванов, В.Ф. Семиглазов, В.В. Семиглазов // Русский медицинский журнал. – 2007. – № 14. – С. 4-9.
21. Имянитов, Е.Н. Общие представления о таргетной терапии / Е.Н. Имянитов // Практическая онкология. – 2010. – Т. 11, № 3. – С. 123-130.
22. Карселадзе, Д.А. Морфология тройного негативного рака молочной железы / Д.А. Карселадзе, И.В. Поддубная, А.И. Карселадзе // Архив патологии. – 2010. – Т. 72. – № 2. – С. 8-12.
23. Карселадзе, Д.А. Статус генов рецептора эпидермального фактора роста и топоизомеразы $\text{P}\alpha$ в клетках тройного негативного рака молочной железы / Д.А. Карселадзе, И.В. Поддубная, А.И. Карселадзе // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2010. – № 4. – С. 33-39.
24. Карселадзе, Д.А. Тройной негативный рак молочной железы (клинико-биологические особенности): автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.12 / Д.А. Карселадзе. – М., 2010. – 25 с.
25. Киселев, В.И. Роль метаболитов эстрогенов в канцерогенезе репродуктивных органов / В.И. Киселев, Е.Л. Муйжлек // Клиническая гинекология под ред. В.Н. Прилепской. – М., 2007. – С. 104-114.
26. Кит, О.И. Уровень половых гормонов и пролактина в ткани злокачественных опухолей молочной железы у больных разного возраста / О.И. Кит [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 7. – С. 560-564.
27. Кит, О.И. Частота встречаемости различных молекулярно-биологических подтипов рака молочной железы в зависимости от репродуктивного статуса / О.И. Кит [и др.] // Российский онкологический журнал. – 2014. – № 5 (19). – С. 24-27.
28. Клинические рекомендации по профилактике, диагностике и лечению больных раком молочной железы / Ассоциация онкологов России; Коллектив авторов. – М.: ИГ РОНЦ, 2014. – 51 с.

29. Комов, Д.В. Диагностика рака молочной железы / Под редакцией В.А. Хайленко, Д.В. Комова, В.Н. Богатырева. – М.: Медицинское информационное агентство, 2005. – 240 с.
30. Копп, М.В. Индивидуальная терапия рака молочной железы / М.В. Копп, И.А. Королева // РМЖ. – 2014, № 1(121). – С. 34-37.
31. Красильников, М.А. Сигнальные пути, регулируемые эстрогенами, и их роль в опухолевой прогрессии: новые факты и направления поиска. М.А. Красильников, А. М. Щербаков // Успехи молекулярной онкологии. – 2014. – №1(1) – С. 18-26.
32. Крылов, А.Ю. Андрогены и рак молочной железы (обзор литературы). / А.Ю. Крылов, Ю.В. Крылов // Вестник ВГМУ. – 2015. – Т. 14, № 5. – С. 5-15.
33. Крылов, А.Ю. Определение андрогеновых рецепторов в клетках тройного негативного рака молочной железы / А.Ю. Крылов, Ю.В. Крылов, В.В. Янченко и др. // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2016. – № 1. – С. 32-36.
34. Кулигина, Е.Ш. Эпидемиологические и молекулярные аспекты рака молочной железы / Е.Ш. Кулигина // Практическая онкология. – 2010. – № 11. – С. 203-216.
35. Лимарева, С.В. Таксаны в адъювантной и неадъювантной терапии рака молочной железы / С.В. Лимарева // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2010. – № 4. – С. 15-24.
36. Лисаева, А.А. Лечебный патоморфоз злокачественных опухолей: клинические и морфологические критерии. Классификации. Прогностическое значение лечебного патоморфоза при раке молочной железы и других опухолях / А.А. Лисаева, Я.В. Вишневская, Е.М. Рощин и др. // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2011. – № 4. – С. 19-23.
37. Мационис, А.Э. Тестирование Her2-статуса при раке молочной железы иммуногистохимическим методом / А.Э. Мационис, И.А. Павленко, А.В. Петров и др. // Архив патологии. – 2012. – Т. 74. – № 2. – С. 42-45.

38. Минимальные клинические рекомендации Европейского Общества Медицинской Онкологии (ESMO) / Ред. перевод. С.А. Тюляндин, Д.А. Носов, Н.И. Переводчикова. – М.: Издательская группа РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 2010. – 436 с.
39. Надыров, Э.А. Иммуногистохимические методы исследования новообразований различного генеза / Э.А. Надыров и др. – Гомель. – 24 с.
40. Невожай, В.И. Иммуногистохимическое исследование рецепторов стероидных гормонов при раке молочной железы / В.И. Невожай, Е.С. Мюллер // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2007. – № 4 – С. 79-80.
41. Нефедова, Н.А. Клинико-морфологическая характеристика подтипов тройного негативного рака молочной железы / Н.А. Нефедова, Н.В. Данилова // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 9-5. – С. 881-885.
42. Нефедова, Н.А. Характеристика подтипов тройного негативного рака молочной железы / Н.А. Нефедова // Вестник РГМУ. – 2014. – № 2 – С. 55-56.
43. Новикова, И.А. Проллиферативные и иммунологические характеристики молекулярно-биологических подтипов рака молочной железы / И.А. Новикова, Ю.С. Шатова, Е.Ю. Златник и др. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – № 11. – С. 116-119.
44. Пак, Д.Д. Подтипы рака молочной железы / Д.Д. Пак, Е.А. Рассказова, Т.В. Данилова // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2012. – № 4. – С. 13-18.
45. Переводчикова, Н.И. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний / Н.И. Переводчикова – М.: Практическая медицина – 2011. – 512 с.
46. Петкау, В.В. Возрастные особенности рака молочной железы / В. В. Петкау, И.С. Булавина, Д.Д. Сакаева и др. // Уральский медицинский журнал. – 2012. – № 4. – С. 24-26.
47. Поддубная, И.В. Клиническая характеристика тройного негативного рака молочной железы / И.В. Поддубная // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. – 2010. – Т. 22, № 1. – С. 71-76.

48. Поддубная, И.В. Морфология тройного негативного рака молочной железы. / И. В. Поддубная, А. И. Карселадзе, Е. Е. Кулевич // Архив патологии. – 2010. – Т. 72(2) – С. 8-12.
49. Поддубная, И.В. Тройной негативный рак молочной железы / И.В. Поддубная, Д.А. Карселадзе // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. – 2009. – № 20 (3). – С. 12-20.
50. Пожарисский К.М., Леенман Е.Е. Значение иммуногистохимических методик для определения характера лечения и прогноза опухолевых заболеваний // Архив патологии. – 2000. – Вып. 5. – С. 3-11.
51. Пономарева, О.В. Современные представления о возможностях лекарственной терапии пациенток с тройным негативным раком молочной железы / О.В. Пономарева // Онкология. – 2011. – № 13 (3). – С. 214-223.
52. Практические рекомендации по лекарственному лечению злокачественных опухолей (RUSSCO) / под редакцией: В.М. Моисеенко. – М.: Общество онкологов-химиотерапевтов, 2013. – 384 с.
53. Рак молочной железы / под ред. У. И. Чен, Э. Уордли, пер. с англ. – М.: Рид Элсивер, 2009. – 205 с.
54. Рассказова, Е.А. Лечение тройного негативного подтипа рака молочной железы / Е.А. Рассказова, А.Д. Зикиряходжаев, М.А. Фролова и др. // Тезисы II Национального конгресса «Онкология репродуктивных органов: от профилактики и раннего выявления к эффективному лечению» 11-13 мая 2017. – М., 2017. – С. 78.
55. Семиглазов, В.В. Рак молочной железы / В.В. Семиглазов, Э.Э. Топузов. Под ред. Семиглазова В.Ф. – М.: Медпресс-информ. – 2009. – 172 с.
56. Семиглазов, В.Ф. Биологическое обоснование планирования лечения рака молочной железы / В.Ф. Семиглазов, В.В. Семиглазов, Р.М. Палтуев и др. // Врач. – 2012. – № 11. – С. 2-4.
57. Семиглазов, В.Ф. Лечение трижды негативного рака молочной железы / В.Ф. Семиглазов, Г.А. Дашян, В.В. Семиглазов и др. // Фарматека. – 2009. – № 18. – С. 14-17.

58. Семиглазов, В.Ф. Новые подходы к лечению рака молочной железы. / В.Ф. Семиглазов // Вопросы онкологии. – 2013. – № 59 (3) – С. 288-291.
59. Семиглазов, В.Ф. Опухолевые маркеры при раке молочной железы / В.Ф. Семиглазов, В.В. Семиглазов, Г.А. Дашян и др. // Врач. – 2011. – № 12 . – С. 2-7.
60. Семиглазов, В.Ф. Рак молочной железы. Биология, местное и системное лечение / В.Ф. Семиглазов, В.В. Семиглазов. – М.: СИМК, 2014. – 352 с.
61. Семиглазов, В.Ф. Рак молочной железы. Химиотерапия и таргетная терапия. / В.Ф. Семиглазов, В.В. Семиглазов, А.Г. Манихас. – М.: «Медпресс-информ», 2012. – 360 с.
62. Семиглазов, В.Ф. Стратегические и практические подходы к решению проблемы рака молочной железы / В.Ф. Семиглазов // Вопросы онкологии. – 2012. – № 58 (2) – С. 148-152.
63. Семиглазова, Т.Ю. Новые таргетные препараты в лечении рака молочной железы / Т. Ю. Семиглазова, В. В. Семиглазов, Л. В. Филатова и др. // Вопросы онкологии. – 2011. – № 5. – С. 592-600.
64. Семикопенко, В.А. Современное состояние диагностики заболеваний молочной железы / В.А. Семикопенко // Медицинская визуализация. – 2011. – № 6. – С. 92-102.
65. Сенча, А.Н. Методики ультразвукового исследования в диагностике рака молочной железы / А.Н. Сенча, Е.В. Евсеева, Д.А. Петровский и др. – М.: Видар. – 2011. – 152 с.
66. Середа, Е.Н. Клинико-морфологическая характеристика тройного негативного рака молочной железы / Е.Н. Середа, Г.А. Хамидуллина, К.Ш. Нургазиев и др. // Сибирский онкологический журнал – 2010. – № 1. – С. 92-93.
67. Стенина, М.Б. Базальноподобный (тройной негативный) рак молочной железы: молекулярные особенности, течение и возможные терапевтические подходы. / М.Б. Стенина, М. Фролова, М. Скрыпникова и др. // Врач. – 2010. – № 3. – С. 24-28.

68. Тюляндин, С.А. Тройной негативный рак молочной железы / С.А. Тюляндин, М.Б. Стенина, М.А. Фролова // Практическая онкология. – 2010. – № 11 (4). – С. 247-252.
69. Франк, Г.А. Классификация опухолей молочной железы ВОЗ 2012 года / Г.А. Франк, Н.В. Данилова, Ю.Ю. Андреева и др. // Архив патологии. – 2013. – № 2. – С. 53-63.
70. Шатова, Ю.С. Антиандрогенная терапия: новое направление таргетной терапии рака молочной железы? / Ю.С. Шатова, Е.М. Франциянц И.А. Новикова и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 3. – С. 18-22.
71. Шацева, Т.А. Иммуногистохимическое исследование рецепторов стероидных гормонов. / Т.А. Шацева, М.С. Мухина // Вопросы онкологии. – 2004. – Т. 50. – № 2. – С. 157-163.
72. Abdel-Fatah, T.M.A. Bcl2 as a surrogate prognostic and predictive marker in triple-negative breast cancer. / T.M.A. Abdel-Fatah, P.D. Dickinson, P.Moseley et al. // J. Clin. Oncol., ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition). – 2011. – Vol. 29, N 15, suppl. (May 20 Supplement). – P. 1024.
73. Androgen receptor driven transcription in molecular apocrine breast cancer is mediated by FoxA1 / J.L. Robinso, S. McArtur, C.S. Ross-Inness et al. // EMBO J. – 2011. – Vol. 30, N 15. – P. 3019-3027.
74. Androgen receptor expression and breast cancer survival in postmenopausal women / R. Hu, S. Dawood, M.D. Holmes et al. // Clin. Cancer. Res. – 2011 Apr. – Vol. 17, N 7. – P. 1867-1874.
75. Androgen receptor expression is significantly associated with better outcomes in estrogen receptor-positive breast cancers / S. Park, J.S. Koo, M.S. Kim et al. // Ann. Oncol. – 2011. – Vol. 22, N 8. – P. 1755-1762.
76. Androgen receptor expression shows distinctive significance in ER positive and negative breast cancers / J.Y. Tsang, Y.B. Ni, S.K. Chan et al. // Ann. Surg. Oncol. – 2014. – Vol. 21, N 7. – P. 2218-2228.

77. Androgen receptor in breast cancer: expression in estrogen receptor-positive tumors and in estrogen receptor-negative tumors with apocrine differentiation / L.A. Niemeier, D.J Dabbs, S. Beriwal et al. // *Mod. Pathol.* – 2010. – Vol. 23, N 2. – P. 205-212.

78. Androgen receptor-positive triple negative breast cancer: a unique breast cancer subtype / L.J. McGhan, A.E. McCullough, C.A. Protheroe et al. // *Ann. Surg. Oncol.* – 2014. – Vol. 21, N 2. – P. 361-367.

79. Androgen receptors frequently are expressed in breast carcinomas: potential relevance to new therapeutic strategies / F. Moinfar, V. Okcu, O. Tsybrovsky et al. // *Cancer.* – 2003. – Vol. 98, N 4. – P. 703-711.

80. Biswas, D.K. Epidermal growth factor-induced nuclear factor kappa B activation: A major pathway of cell-cycle progression in estrogen-receptor negative breast cancer cells / D.K. Biswas, A.P. Cruz, E. Gansberger et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2000. – Vol. 97. – P. 8542-8547.

81. Blum, J.L. A phase II trial of trabectedin in triple-negative and HER2-overexpressing metastatic breast cancer / J.L. Blum, A. Gonçalves, N.Efrat et al. // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2016. – Vol. 155(2). – P. 295-302.

82. Brufsky, A. Second-line bevacizumab-containing therapy in patients with triple-negative breast cancer: subgroup analysis of the RIBBON-2 trial / A. Brufsky, V. Valero, B. Tiangco et al. // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2012. – Vol. 133(3). – P. 1067-1075.

83. Brys, M. Androgens and androgen receptor: do they play a role in breast cancer? / M. Brys // *Med. Sci. Monit.* – 2000 Mar-Apr. – Vol. 6, N 2. – P. 433-438.

84. Carey, L. Triple negative breast cancer: disease entity or title of convenience? / L. Carey, E. Winer, G. Viale et al. // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* – 2010. – Vol. 7, N 12. – P. 683-692.

85. Cheang, M.C. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype / M.C. Cheang, D.Voduc, C. Bajdik et al. // *Clin. Cancer. Res.* – 2008. – Vol. 14, N 5. – P. 1368-1376.

86. Cure, H. Neoadjuvant chemotherapy (NACT) in hormone receptor-positive (HR+) or triplenegative (TN) operable breast cancer (BC): A randomized study comparing standard to response-adapted sequence / H. Cure, Q. Wang-Lopez, M. Mouret-Reynier et al. // ASCO Annual Meet, June 3–7, Chicago, IL, 2011. - P. 1133.
87. Estrogen receptor-negative breast carcinomas: a review of morphology and immunophenotypical analysis / T.C. Putti, D.M. El Rehim, E.A. Rakha et al. // Mod. Pathol. – 2005. – Vol. 18. – P. 26-35.
88. Evaluation of the prognostic significance of androgen receptor expression in metastatic breast cancer / W. Schippinger, P. Regitnig, N. Dandachi et al. // Virchows Arch. – 2006. – Vol. 449, N 1. – P. 24-30.
89. Expression of androgen receptors in primary breast cancer / S. Park, J. Koo, H.S. Park, et al. // Ann. Oncol. – 2010. – Vol. 21, N 3. – P. 488-492.
90. Expression of androgen receptors in triple negative breast carcinomas / I. Mrklič, Z. Pogorelić, V. Capkun et al. // Acta Histochem. – 2013. – Vol. 114, N 4. – P. 344-348.
91. Gao, W. Androgen receptor as a therapeutic target / W. Gao // Adv. Drug. Deliv. Rev. – 2010. – Vol. 62, N 13. – P. 1277-1284.
92. Gonzalez-Angulo, A.M. Androgen receptor levels and association with PIK3CA mutations and prognosis in breast cancer / A. M. Gonzalez-Angulo, K. Stemke-Hale, S.L Palla et al. // Clin. Cancer. Res. – 2009. – Vol. 15, N 7. – P. 2472-2478.
93. Jönsson, G. Genomic subtypes of breast cancer identified by array comparative genomic hybridization display distinct molecular and clinical characteristics / G. Jönsson, J. Staaf, J. Vallon-Christersson et al. // Breast Cancer Res. – 2010. – Vol.12. – P. 42.
94. Lakhari SR, Ellis IO, Schnitt SJ, Tan PH. (Eds.): World Health Organization classification of tumours of the breast // IARC. – Lyon. – 2012.
95. Lester, S.C. Protocol for the examination of specimens from patients with ductal carcinoma in situ of the breast / S.C. Lester, S. Bose, Y.Y. Chen et al. // Arch. Pathol. Lab. Med. – 2009. – Vol. 133(1). – P. 15-25.

96. Lester, SC. Protocol for the examination of specimens from patients with invasive carcinoma of the breast / S.C. Lester, S. Bose, Y.Y. Chen et al. // Arch. Pathol. Lab. Med. – 2009. – Vol.133. – P. 1515-1538.

97. Liao, D.J. Roles of androgens in the development, growth, and carcinogenesis of the mammary gland / D. J. Liao, R. B. Dickson // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. – 2002. – Vol. 80, N 2. – P. 175-189.

98. Low incidence of methylation of the promoter region of the FANCF gene in Japanese primary breast cancer / E.Tokunaga, S.Okada, H.Kitao et al. // Breast Cancer. – 2009. – Vol. 4(8). – P. 239-315.

99. Multiple Molecular Subtypes of Triple-Negative Breast Cancer Critically Rely on Androgen Receptor and Respond to Enzalutamide in vivo / V.N. Barton, N.C D'Amato, M.A Gordon et al. // Mol. Cancer Ther. – 2015. – P. 769-778.

100. Outcomes in young women with breast cancer of triple-negative phenotype: the prognostic significance of CK19 expression / R.R. Parikh, Q.Yang, S.A. Higgins, B.G. Haffty // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. – 2008. – Vol. 1(1). – P. 35-42.

101. Overexpression of c-KIT (CD-117) in triple-negative breast cancer / M. Tahany, E. Mohamed // Egypt. J. Pathol. – 2011. – Vol. 31, Is. 2. – P. 113-117.

102. Plasma adrenal androgens and risk of breast cancer in premenopausal women / J.H. Page, G.A. Colditz, N. Rifai et al. // Cancer. Epidemiol. Biomarkers. Prev. – 2004. – Vol. 13, N 6. – P. 1032-1036.

103. Prat, A. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer / A. Prat, J.S. Parker, O. Karginova et al. // Breast Cancer Res. – 2010. – Vol. 12. – P. 68.

104. Prognostic markers in triple-negative breast cancer / E.A. Rakha, M.E El-Sayed, A.R Green et al. // Cancer. – 2007. – Vol. 109, N 1. – P. 25-32.

105. Prognostic value of androgen receptor expression in operable triple-negative breast cancer: a retrospective analysis based on a tissue microarray / J. He, R. Peng, Z. Yuan et al. // Med. Oncol. – 2012. – Vol. 29, N 2. – P. 406-410.

106. Residual Cancer Burden Calculator.
<http://www3.mdanderson.org/app/medcalc/index.cfm?pagename=jsconvert3>

107. Risk of having BRCA1 mutation in high-risk women with triple-negative breast cancer: a meta-analysis / N.M. Tun, G. Villani, K. Ong et al. // *Clin. Genet.* – 2014. – Vol. 85(1). – P. 43-48.
108. Romero, Q. Ki-67 proliferation in core biopsies versus surgical samples – a model for neoadjuvant breast cancer studies / Q. Romero, P.O. Bendahl, M. Klintman, et al. // *BMC Cancer* – 2011. – Vol. 11. – P. 341.
109. Shah, P.D. The role of the androgen receptor in triplenegative breast cancer / P.D. Shah, A. Gucalp, T.A. Traina // *Women's Health.* – 2013. – Vol. 9, N 4. – P. 351-360.
110. Targeting the androgen receptor (AR) in women with AR+ ER-/PR- metastatic breast cancer (MBC) / A. Gucalp, S.M. Tolaney, S.J. Isakoff et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2012. – Vol. 20, 18 suppl.
111. The expression and clinical significance of the androgen receptor and E-cadherin in triple-negative breast cancer / D. Tang, S. Xu, Q. Zhang, W. Zhao // *Medical. Oncol.* – 2012. – Vol. 29, N 2. – P. 526-533.
112. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes / L.A. Carey, E.C. Dees, L. Sawyer et al. // *Clin. Cancer Res.* – 2007. – Vol. 13, N 8. – P. 2329-2334.
113. Triple-negative breast cancer and PTEN (phosphatase and tensin homologue) loss are predictors of BRCA1 germline mutations in women with early-onset and familial breast cancer, but not in women with isolated late-onset breast cancer / S.Y. Phuah, L.M. Looi, N. Hassan et al. // *Breast Cancer Res.* – 2012. – Vol. 14, N 6. – P. 142.
114. Triple-negative breast cancer: BRCAness and concordance of clinical features with BRCA1-mutation carriers / E.H. Lips, L. Mulder, A. Oonk et al. // *Br. J. Cancer.* – 2013. – Vol. 108, N 10. – P. 2172-2177.
115. Wolff, A.C. Recommendations for human epi-dermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: ASCO/CAP clinical practice guideline update / A.C. Wolff, E.H. Hammond, D.G. Hicks, et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2013. – Vol. 31. – P. 3997-4014.