

Министерство здравоохранения
Донецкой Народной Республики
Государственная образовательная организация
высшего профессионального образования
«Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького»

На правах рукописи

Мотрий Алексей Владимирович

**ВЛИЯНИЕ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ
НА ИЗМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ФЕНОТИПА
МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ.
ПЕРСОНИФИКАЦИЯ ТАКТИКИ АДЬЮВАНТНОГО ЛЕЧЕНИЯ**

14.01.12 – онкология

Диссертация

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Седаков Игорь Евгеньевич

Экземпляр диссертации идентичен
по содержанию с другими экземплярами,
которые были представлены в диссертационный совет

Ученый секретарь диссертационного совета
Д 01.011.03
Золотухин С.Э.

Донецк – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
РАЗДЕЛ 1. МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННЫЙ РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ФЕНОТИП И АДЪЮВАНТНОЕ ЛЕЧЕНИЕ (обзор литературы).....	11
РАЗДЕЛ 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	24
2.1. Общая характеристика больных исследуемой группы.....	26
2.2. Общая характеристика больных группы сравнения.....	30
2.3. Методы диагностики и основные принципы лечения.....	33
2.4. Методы навигации.....	34
2.5. Методика забора биоптата опухоли молочной железы.....	36
2.6. Цитологическое исследование.....	40
2.7. Патоморфологические исследования.....	45
2.8. Иммуногистохимические исследования.....	47
2.8.1. Иммуногистохимические исследования рецепторов стероидных гормонов.....	47
2.8.2. Иммуногистохимическое исследование онкопротеина HER-2/neu.....	50
2.8.3. Иммуногистохимическое исследование белка Ki-67.....	51
2.9. Оценка непосредственной эффективности проводимого комплексного лечения.....	52
2.10. Оценка отдаленной эффективности проводимого комплексного лечения.....	53
2.11. Статистические методы обработки полученных результатов.....	53
РАЗДЕЛ 3. ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА МЕСТНО- РАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (ЦИТОЛОГИЯ, ГИСТОЛОГИЯ, ИММУНОГИСТОХИМИЯ).....	55
3.1. Общая характеристика больных.....	55

3.2. Цитологическая картина местно-распространенного рака молочной железы.....	59
3.3. Морфогенез местно-распространенного рака молочной железы.....	62
3.4. Гормональный статус местно-распространенного рака молочной железы.....	66
РАЗДЕЛ 4. ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ.....	73
РАЗДЕЛ 5. ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ФЕНОТИПА МЕСТНО- РАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДЛЯ ПЕРСОНИФИКАЦИИ ТАКТИКИ АДЬЮВАНТНОГО ЛЕЧЕНИЯ (обсуждение полученных результатов).....	86
ВЫВОДЫ.....	95
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	97
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	98
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	99

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Рак молочной железы (РМЖ) занимает лидирующие позиции в структуре онкологических заболеваний среди женского населения во всем мире [25, 84, 159, 174]. Статистические данные последних лет свидетельствуют о том, что в экономически развитых странах ежегодно наблюдается рост заболеваемости и смертности от рака этой локализации [37, 75, 102, 158, 202], за последние тридцать лет частота случаев рака молочной железы увеличилась более чем на 20% [49, 100, 103, 164, 177].

В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями женского населения Донецкой Народной Республики (ДНР) заболеваемость раком молочной железы в 2018 году занимает первое место и составляет 21,2 на 100 тыс. женского населения. Смертность от злокачественных новообразований молочной железы в ДНР в 2018 г. составила 32,1 на 100 тыс. женского населения, что превышает данный показатель в России (28,1 на 100 тыс. женского населения) и в Украине (28,3 на 100 тыс. женского населения).

Современные комплексные и комбинированные подходы в лечении РМЖ предусматривают обязательное определение иммуногистохимического статуса опухоли [89, 114]. Причем, если 10 лет назад доминирующим в определении тактики специального лечения были такие факторы, как размеры опухолевого узла, гистологический тип опухоли, степень гистологической злокачественности, то, на сегодня, без определения биологического статуса РМЖ, тактику лечения сформировать не представляется возможным [27, 105, 108, 118]. Несмотря на это, определение иммуногистохимического (ИГХ) статуса проводят исключительно перед началом лечения [10, 16, 157]. В литературе имеются единичные сообщения об изменении ИГХ статуса РМЖ после проведенного лечения [39, 72, 134, 179].

По данным Американской ассоциации клинических патологов карцинома молочной железы имеет значительную гетерогенность, особенно это касается

опухолей с уровнем экспрессии Her-2/neu 2+ (для ИФА метода). Около 68% случаев имеют отличающийся уровень эпидермального фактора роста при исследовании другого среза или ее метастаза (регионарного или отдаленного) [172, 226].

Разница между ИГХ статусом первичной опухоли и рецидивных очагов составляет от 15 до 40% [50, 241]; в 7-26% случаев изменяется статус Her-2/neu рецепторов [185]. Следует отметить, что фенотип первичной опухоли и пораженных лимфатических узлов отличается в 75% случаев [219].

Представляет научный интерес и имеет практическую значимость уточнение влияния неоадьювантной химиотерапии на статус эпидермального фактора роста. Согласно исследованию H.Skalova et al. [226], в 30% случаев определялось минимальное изменение экспрессии Her-2/neu, а в 10% – полное изменение с положительного на отрицательный. На наш взгляд, изменения в ИГХ статусе опухоли могут существенно повлиять на адьювантную тактику лечения пациентов РМЖ, чему и посвящено настоящее исследование.

Степень разработанности темы

В литературе имеются единичные сообщения об изменении ИГХ статуса РМЖ после проведенного лечения. Так, немецкими онкологами было проведено исследование группы пациенток с РМЖ, основанное на молекулярно-биологических внутренних подтипах и реакциях химиотерапии в попытке установить связь между pCR и выживаемостью для пациентов каждого из подтипов [182, 214]. Данный анализ показал, что выявление молекулярно-биологического подтипа является необходимой частью определения тактики терапии, поскольку от этого напрямую зависит связь между pCR и выживаемостью. В исследовании O. Brouckaert et al. (2012) использовались молекулярно-биологические подтипы для определения различных прогностических групп РМЖ [167].

В некоторых исследованиях речь идет о том, что не все пациенты имеют одинаковую реакцию на неоадьювантную терапию, результат варьируется в

зависимости от биологической характеристики опухоли и от их иммуногистохимии на основе молекулярного подтипа. Так, в мета-анализе, проведенном D. Mauri et al. (2005), доказано, что в базально-подобных опухолях достижение полного патологического ответа наблюдается у 45% (95% ДИ: 24-68), HER2+ – у 45% (95% ДИ: 23-68) и «Люминальный А» – у 6% (95% ДИ: 1-21) [202]. В исследовании F.M. Robertson et al. (2010) предполагается, что pCR может быть суррогатным маркером для общей выживаемости (ОВ), особенно в подгруппах «трижды негативный» и HER2, при этом HER2+ / гормон-рецептор (HR) – отрицательный представляет более высокую частоту ОВ, чем пациенты HER2+ / HR+ [197]. Несмотря на то, что pCR постоянно ассоциируется с превосходной выживаемостью, это не единственный прогностический фактор, как в случаях менее агрессивных опухолей, таких как «Люминальный А». Так, в исследованиях, проведенных A. I. Goldhirsch et al. (2011) и I. Meattini et al. (2017), достижение pCR во время операции было связано с благоприятным прогнозом [195, 231]. В исследовании S. Loibl et al. (2011) отсутствие pCR показало худшие результаты при тройном отрицании и опухолях HER2+, хотя эта прогностическая корреляция не наблюдалась в опухолях HR+ [214].

Связь работы с научными программами, планами, темами

Работа является фрагментом совместной плановой НИР кафедр онкологии и онкологии и радиологии факультета интернатуры и последипломного образования Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького «Разработать эффективные способы первично-восстановительных органосохраняющих и органозамещающих радикальных и паллиативных операций, повысить эффективность комбинированного, комплексного и паллиативного лечения опухолей основных локализаций» (шифр работы УН 16.03.23). Аспирантом в рамках данной НИР проведено изучение стандартного лечения пациенток с раком молочной железы; аспирант принимал участие в диагностике, в определении тактики лечения, в хирургическом лечении данной категории больных в составе хирургических бригад, был ответственным за

выполнение комбинированного и комплексного лечения больных с раком молочной железы.

Цель исследования: персонифицировать программу адъювантного лечения у больных с местно-распространенным раком молочной железы на основании изменения молекулярно-биологических свойств опухоли в процессе неoadъювантной терапии.

Для реализации поставленной цели были сформулированы следующие **задачи:**

1. Изучить причины неудовлетворительных результатов лечения местно-распространенного рака молочной железы в РОЦ им. Г.В. Бондаря.
2. Изучить динамику изменений биологических свойств опухоли молочной железы на фоне проведенной неoadъювантной химиотерапии.
3. Модифицировать протокол адъювантного лечения больных раком молочной железы на основании изменения иммуногистохимического статуса опухоли.
4. Представить сравнительную оценку отдаленных результатов стандартного и персонифицированного лечения.

Объект исследования: рак молочной железы T4N0-2M0.

Предмет исследования: изменения ИГХ статуса РМЖ T4N0-2M0 после проведенного неoadъювантного лечения.

Научная новизна

Впервые изучена динамика изменений биологических подтипов опухоли молочной железы на фоне проведенного неoadъювантного лечения. На основании изменения ИГХ статуса опухоли модифицирован протокол лечения больных РМЖ.

Теоретическая и практическая значимость работы

На основании выполненного исследования доказано, что проведение неoadъювантного лечения приводит к изменению ИГХ-статуса опухоли у пациенток, что, в свою очередь, изменяет стратегию дальнейшей адъювантной

терапии, тем самым улучшает ближайшие и отдаленные результаты лечения больных РМЖ.

Материалы диссертационной работы внедрены в практику Республиканского онкологического центра им. проф. Г.В.Бондаря (акт внедрения от 01.11.2019), Городского онкологического диспансера г. Донецка (акт внедрения от 02.10.2019), ГУ ЛНР «Луганский республиканский клинический онкологический диспансер» (акт внедрения от 24.10.2019).

Личный вклад соискателя

Автором самостоятельно проведен информационно-патентный поиск, обоснована актуальность и необходимость проведения исследования, сформулированы его цель и задачи, определена программа работы. Диссертантом выполнен отбор и формирование групп наблюдения, клиническое обследование с оценкой результатов, оценка лабораторных и инструментальных данных, результатов патогистологических исследований. Автором самостоятельно проведена статистическая обработка полученных в ходе исследования данных, проанализированы результаты исследования, сформулированы выводы и рекомендации. Подготовлены данные для публикаций и выступлений на конференциях, оформлена диссертационная работа и автореферат.

В работах, выполненных в соавторстве, реализованы идеи соискателя. В процессе выполнения работы не использованы идеи и разработки соавторов.

Методология и методы исследования

При проведении работы использованы общеклинические (сбор анамнеза, физикальный осмотр, пальпация); клиничко-лабораторные (общий анализ крови и мочи, биохимический анализ крови, коагулограмма); инструментальные (ультразвуковое исследование, маммография, рентгенография, мультисрезовая компьютерная томография, сцинтиграфия); патогистологические (патогистологические, иммуногистохимические); статистические (программа RStudio версия 1.2.1335 © 2009-2019 RStudio, Inc., GPL).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Фенотип опухоли на разных стадиях ее генеза отличается, в связи с чем представляет научный интерес и имеет практическую значимость повторное изучение послеоперационного материала, полученного после проведения неoadъювантного лечения.

2. Определение молекулярно-биологических подтипов рака молочной железы на основе иммуногистохимической оценки экспрессии ER, PR и Her2/neu является достаточно информативным и упрощенным методом диагностики.

3. Проведенное неoadъювантное лечение привело к изменению биологических свойств опухоли молочной железы у 81 (44,5%) пациентки, что послужило основанием для модификации протокола лечения больных: в 10% случаев «трижды негативного» подтипа РМЖ, учитывая высокую чувствительность данной опухоли к препаратам таксанового ряда, режим адъювантной химиотерапии требует применения инфузии паклитаксела; в 5% случаев HER2 позитивного РМЖ в лечебную схему включены анти-HER2 препараты; в 4% случаев выявления люминального РМЖ адъювантное лечение осуществлялось с применением гормональной терапии.

4. Маркировка опухоли танталовыми скобами до начала неoadъювантной терапии и установка локализационного «гарпуна» непосредственно перед операцией позволяют избежать позитивного края резекции и выполнить прицельное морфологическое исследование ложа опухоли в случае ее полной патоморфологической регрессии.

Степень достоверности и апробация результатов диссертации

Достоверность результатов исследования определяется достаточным объемом и корректным формированием изучаемых выборок, применением принципов, технологий и методов доказательной медицины, высокой информативностью современных методов обследования, адекватностью математических методов обработки данных поставленным задачам.

Сформулированные выводы и практические рекомендации аргументированы, логически вытекают из результатов исследования.

Апробация работы состоялась 08.11.2019 г. на заседании кафедры онкологии и радиологии ФИПО им. акад. Г.В.Бондаря Государственной образовательной организации высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького».

Основные положения диссертационной работы докладывались и обсуждались на: II Петербургском онкологическом форуме «Белые ночи» (г. Петербург, 2016 г.), 9-м съезде онкологов и радиологов стран СНГ и Евразии (г. Минск, 2016 г.) Международном медицинском форуме Донбасса «Наука побеждать болезнь» (г. Донецк, 2017, 2018, 2019 гг.).

Публикации

Результаты диссертационной работы полностью изложены в 6 печатных работах, из них 3 статьи – в изданиях, рекомендованных ВАК МОН ДНР, 1 патент Украины на полезную модель.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на русском языке на 126 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, 3 разделов собственных исследований, анализа и обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 17 таблицами на 9 страницах и 37 рисунками на 21 странице. Список использованной литературы содержит 244 научные публикации, из них 161 изложена кириллицей, 83 – латиницей и занимает 28 страниц.

РАЗДЕЛ 1
МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННЫЙ РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ.
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ФЕНОТИП И АДЪЮВАНТНОЕ ЛЕЧЕНИЕ
(обзор литературы)

В структуре онкозаболеваемости среди женщин рак молочной железы занимает лидирующее положение [25, 84, 159, 174]. Ежегодно в мире регистрируется около 1,7 млн. новых случаев РМЖ, которые составляют социальную и медицинскую проблему в связи с высокой смертностью среди женского населения [3, 17, 85, 145, 128, 206]. Смертность от злокачественных новообразований молочной железы в ДНР в 2018 г. составила 32,1 на 100 тыс. женского населения, что превышает данный показатель в России (28,1 на 100 тыс. женского населения) и в Украине (28,3 на 100 тыс. женского населения). Положительный темп прироста заболеваемости раком молочной железы и смертности, связанной с данной патологией, заставляют максимально сконцентрировать внимание на решении данной проблемы [16, 142, 147].

Понятие местно-распространенного рака молочной железы, по определению G.Hortobagi (1990 г.), включает в себя опухоли больших размеров (более 5 см в диаметре), образования меньших размеров, которые занимают большую часть маленькой железы, или первичные опухоли любого размера, распространяющиеся на кожу молочной железы, вызывающие изъязвление, отек или сопровождающиеся появлением сателлитов. Кроме того, сюда же включаются опухоли, которые распространяются на структуры грудной стенки. Больных с фиксированными или спаянными аксилярными лимфатическими узлами и клинически определяемыми внутренними грудными или надключичными лимфатическими узлами также относят к этой группе [1, 4, 40, 76, 119, 223, 237].

Сложности, с которыми встречаются онкологи при планировании лечения больных данной формой РМЖ, связаны во многом с чрезвычайным многообразием клинических вариантов болезни, затрудняющим установление

индивидуального прогноза и выбор метода терапии [11, 64, 132, 133, 135, 136, 161]. Одна из причин указанного разнообразия кроется в гетерогенности самой микроскопической структуры РМЖ [5, 73, 140, 144, 146, 236].

Впервые неоднородность клеток по форме и морфологии в пределах одной опухоли была описана еще Рудольфом Вирховым в XIX веке. Со времен Вирхова представления о феномене внутриопухолевой гетерогенности значительно расширились [6, 7, 65, 86, 228, 239].

На сегодняшний день под опухолевой гетерогенностью понимают совокупность фенотипических, генетических, эпигенетических и других характеристик, демонстрирующих меж и/или внутриопухолевые различия, и присущих отдельным клеткам или популяциям клеток [8, 191, 205, 208, 209, 220, 244]. Механизмы формирования такой неоднородности до конца не изучены. Считается, что внутриопухолевое разнообразие развивается либо из-за генетических (эпигенетических) нарушений в самих опухолевых клетках, либо под влиянием опухолевого микроокружения, либо на фоне взаимодействия этих факторов [51, 52, 180, 181, 186, 198, 211].

Наиболее изучена внутриопухолевая гетерогенность при РМЖ [12, 13, 31, 146, 150, 162, 166, 199, 201]. Для опухолей молочной железы описано внутриопухолевое кариотипическое разнообразие, аллельный имбаланс различной природы, а также наличие субпопуляций клеток с различной чувствительностью к терапии [9, 123, 138, 139, 143, 153, 155, 160, 156, 218].

Позиционное клонирование и другие технологии молекулярной генетики позволили идентифицировать гены, которые ответственны за возникновение, течение и прогноз семейных форм РМЖ. К генам с высокой пенетрантностью относятся BRCA (Breast Cancer Associated) 1 и 2. Доля BRCA 1- и BRCA 2-ассоциированного РМЖ составляет 45 и 35%, соответственно [15, 193, 200, 203, 221, 224].

Наследственные мутации гена BRCA 1 обуславливают 56–87% риска развития РМЖ в возрасте 70 лет и 33-50% – в возрасте 50 лет [19, 22, 70, 199].

Риск развития контралатерального РМЖ у носителей мутаций гена BRCA 1 составляет 64% в возрасте 70 лет; рака яичников – 44%. Мутации гена BRCA 2 отвечают за 65-95% риска развития РМЖ (доля двустороннего РМЖ составляет 5-20%); 6% РМЖ у мужчин; 27% рака яичников, возникшего после 50 лет [41, 120, 127, 187]. Кроме того, риск развития второй первичной опухоли молочной железы составляет 58% [43, 150].

Отмечено, что опухоли, ассоциированные с мутациями генов BRCA 1 и BRCA 2, имеют более высокую степень злокачественности (преимущественно III), по сравнению со спорадическим РМЖ [48, 148, 149, 163, 192, 196]. Некоторыми авторами отмечен выраженный лимфоцитарный инфильтрат вокруг опухолей, обусловленных мутациями генов BRCA 1/2, что в свою очередь может быть причиной агрессивной реакции иммунной системы, которая благоприятно отражается на прогнозе [42, 46, 233, 234, 235].

При изучении уровня стероидных рецепторов опухоли молочной железы у пациентов с известным BRCA-статусом приводятся противоречивые данные. Так, C.Szabo et al. [170] отмечают отсутствие рецепторов эстрогенов и прогестерона в большинстве случаев развития опухоли, обусловленной герминальными мутациями гена BRCA 1. J.Marcus et al. был отмечен парадоксально высокий уровень рецепторов эстрогенов и прогестерона в опухолях пациентов-носителей мутаций BRCA 2 по сравнению с группой спорадического рака [192]. N.Loman et al. не нашли разницы в уровнях рецепторов между РМЖ, обусловленным герминальными мутациями гена BRCA 2, и спорадическим РМЖ [229].

Что касается прогноза течения заболевания, то до недавнего времени считалось, что наследственный РМЖ характеризуется лучшей выживаемостью по сравнению со спорадическим РМЖ [53, 55, 56, 57, 68]. Однако проведенные исследования показывают, что РМЖ, обусловленный мутациями гена BRCA 2, имеет сходный прогноз с группой пациентов, страдающих спорадическим РМЖ, отобранных по возрасту и стадии заболевания: 5-летняя безрецидивная выживаемость составила 52% для каждой группы, общая выживаемость составила

74% для носителей BRCA 2 герминальных мутаций и 75% для спорадических случаев. Безрецидивная же выживаемость контралатерального метакронного рака, обусловленного мутацией BRCA 2, была значительно хуже по сравнению со спорадическим РМЖ [33, 34, 44, 171].

Одним из перспективных направлений современной онкологии является исследование и внедрение в клиническую практику молекулярных и биохимических факторов прогноза [8, 40, 58, 59, 130]. Такие традиционные факторы, как размер опухоли, степень злокачественности и чувствительность к стероидным гормонам, не позволяют оценить риск и назначение адекватной терапии при раке молочной железы, из-за различной иммуногистохимической структуры каждой опухоли [18, 79, 83, 95, 116, 190]. Значение этого положения было продемонстрировано в ходе следующего наблюдения: адъювантная терапия тамоксифеном при раке молочной железы оказывается полезной только для больных с опухолями, негативными по c-erb B-2. У больных с гиперэкспрессией c-erb B-2 тамоксифен оказывал даже неблагоприятное действие [165, 233, 234, 235].

Попытки классифицировать РМЖ по клиническим признакам оказались неудачными, поскольку клинические формы заболевания, включая стадию TNM, не всегда коррелируют с отдаленными результатами лечения [32, 77, 82, 107, 112]. Современная онкологическая практика требует не только верификации гистологического диагноза, но и обязательной оценки прогноза течения болезни и предсказания ответа на терапию [26, 45, 50, 54, 61, 71].

Так, коллегия американских патологов в 1999 г. разработала комплекс прогностических факторов, имеющих принципиальное значение при РМЖ, которые структурированы в три категории по степени клинической значимости и востребованности [185].

Категория 1: размер опухоли, статус лимфоузлов, гистологическая форма и степень дифференцировки опухоли, рецепторы к эстрогену и прогестерону, количество митотических фигур.

Категория 2: экспрессия эпидермального фактора роста, p53-онкопротеина, маркера пролиферации Ki-67 и наличие инвазии в лимфатические или кровеносные сосуды.

Категория 3: плоидность опухоли, активность ангиогенеза, экспрессия pS2-протеина, bcl-2-онкопротеина, катепсина D, EFGF.

В настоящее время большее количество исследований посвящено второй и третьей категориям прогностических факторов. Подобная ситуация вполне объяснима, т.к. ген p53 и ген ERBB2 являются идеальным примером для демонстрации успехов молекулярной онкологии в понимании фундаментальных механизмов возникновения рака, и в разработке принципиально новых методов диагностики онкологических заболеваний и, наконец, в поиске патогенетически обоснованных индивидуальных подходов к терапии опухолей [20, 28, 29, 30, 115, 189, 214].

Большое значение в диагностике и лечении РМЖ на сегодняшний день имеют биологические маркеры, определяемые непосредственно в опухолевой ткани [35, 48, 125, 126, 137, 141, 216]. Данные маркеры характеризуют индивидуальные особенности опухоли: склонность к инвазии, метастазированию, гормональную чувствительность и т.д. В этом отношении чрезвычайно важен иммуногистохимический профиль злокачественного новообразования, его морфофункциональная характеристика [67, 94, 99, 101, 104, 106, 109]. Достижения методов молекулярной визуализации, в частности, прочтение и секвенирование генома с помощью техники микрочипов, позволило изучить транскрипционную активность генома раковой клетки и получить индивидуальные экспрессионные профили различных опухолей [110, 111, 117, 122, 124, 151].

В 2001 г. T.Sorlie, C.M.Perou [227] использовали кластерный анализ 465 генов, которые координировались в гибридизационных пробах 8102 мРНК и образовали 5 различных молекулярных подтипов РМЖ. Последние разделились на две подгруппы с положительным статусом рецепторов эстрогенов,

формирующих люминальный А и люминальный В подтипы, одну подгруппу с амплификацией гена HER/2-neu (HER/2 позитивная подгруппа) и одну подгруппу базального типа РМЖ, характеризующуюся отсутствием экспрессии рецепторов эстрогенов и второго рецептора эпидермального фактора роста при отсутствии амплификации соответствующих кодирующих генов. Еще одна подгруппа обозначена как неклассифицируемый РМЖ.

Это была первая молекулярно-генетическая онкологическая классификация, созданная не на основе клиничко-анатомической и морфологической гетерогенности опухолевых клеток, а по признаку их молекулярно-генетической гетерогенности. Последующие анализы, проведенные с помощью геномных, транскриптомных и протеомных методов, выявили еще большую молекулярную гетерогенность РМЖ. К примеру, показана вариабельная экспрессия генов TOP2a, c-myc, CyclinD1, микроРНК в пределах опухоли [194, 204, 215].

Вся работа клинического онколога начинается с морфологического заключения о природе опухоли и ее биологических характеристиках [60, 62, 63, 74, 80, 97, 98]. Уточнение молекулярно-биологических и патогенетических характеристик РМЖ позволяет ближе подойти к индивидуализации системной терапии и в ряде случаев отказаться от заведомо неэффективного, токсичного и дорогостоящего лечения [78, 129, 131, 232, 202].

Изучение рецепторного статуса клеток РМЖ давно позволило выявить существование двух основных групп опухолей этого органа – эстрогенположительных и эстрогенотрицательных, а внедрение иммуногистохимических методов диагностики позволило превратить определение рецепторов, как эстрогенов, так и прогестерона в повседневную, практически доступную процедуру [81, 87, 90, 91, 92, 238]. Вскоре методический арсенал изучения РМЖ был расширен с включением иммуногистохимического изучения экспрессии гена Her2/neu и FISH-реакции для установления статуса его амплификации. Последняя характеристика оказалась обязательной для определения показаний к назначению герцептина – моноклонального антитела,

связывающего продукт гена Her2/neu на клеточной мембране опухолевых клеток. В конце 90-х гг. XX века в литературе появились сообщения о том, что РМЖ, клетки которого не экспрессируют рецепторы эстрогенов и прогестерона, а также содержат неамплифицированный ген Her2/neu, обладает четкими клиническими особенностями, и это позволило выделить новый вариант РМЖ – так называемый тройной негативный рак [93, 94, 96, 210, 217].

По рекомендациям American Society of Clinical Oncology для определения опухолевых маркеров для рака молочной железы, начиная с 2007 года, необходимым становится исследование уровня экспрессии эстрогеновых, прогестероновых рецепторов и Her-2/neu [173, 176].

В 2009 г. была предложена упрощенная суррогатная модель молекулярно-генетической классификации РМЖ, основанная на показателях экспрессии рецепторов эстрогенов (ER), прогестерона (PR), HER2 и уровня пролиферативной активности Ki67. Согласно международным и отечественным рекомендациям в настоящее время выделено 5 биологических подтипов РМЖ: люминальный А (высокодифференцированные раки ER+PR+HER2-Ki67<20%), люминальный В HER2-негативный (низкодифференцированные раки ER+PR±HER2-Ki67 > 20%), люминальный В HER2-позитивный (ER+PR±HER2+Ki67 любой), тройной негативный рак (ER-PR-HER2-Ki67 любой), не люминальный HER2-позитивный (ER-PR-HER2+Ki67 любой) [129]. Используемая классификация биологических подтипов опухоли неслучайна. В многочисленных исследованиях показано различное прогностическое и предсказывающее значение иммуногистохимических характеристик опухоли при РМЖ.

Таким образом, были сформированы молекулярно-биологические подтипы, принадлежность к которым, на сегодняшний день, имеет важное прогностическое значение.

РМЖ люминального А типа: частота 30-45%, эстроген-зависимые опухоли. Характерны поздний возраст на момент установления диагноза, высокая степень дифференцировки, низкий пролиферативный индекс. Опухоли этого типа менее

агрессивны, характеризуются лучшим прогнозом по сравнению с рецептор-негативным раком. У таких больных существенно снижен риск рецидивов в течение первых 2 лет, выше общая выживаемость [207].

РМЖ люминального В типа: частота 14-18%, эстроген-зависимые агрессивные опухоли. Характерны ранний возраст на момент постановки диагноза, низкая степень дифференцировки, высокий пролиферативный индекс, большой размер опухоли, вовлечение лимфатических узлов. Опухоли этого типа характеризуются значительно худшим прогнозом и большей вероятностью рецидивов по сравнению с другими рецептор-позитивными опухолями [183].

РМЖ трижды негативного типа: частота 27-39%, эстроген-независимые агрессивные опухоли. Характерны ранний возраст установления диагноза, протоковый или метапластический гистологический тип, низкая степень дифференцировки, высокий пролиферативный индекс, большой размер опухоли, вовлечение лимфатических узлов. ТНРМ отличается высокой агрессивностью, большой вероятностью развития местно-распространённых и метастатических форм. Прогноз неблагоприятный независимо от поражения лимфатических узлов, выживаемость в этой группе ниже, чем при РМЖ других молекулярных подтипов, включая Her2-позитивный рак [179].

Her2-позитивный РМЖ: частота 8-15%, эстроген-независимые агрессивные опухоли с высоким пролиферативным индексом. Характерны низкая дифференцировка, большой размер опухоли, вовлечение лимфатических узлов, высокая вероятность негативного исхода заболевания [240].

На практике стандартом является однократное проведение иммуногистохимического исследования опухоли до начала лечения, определение молекулярно-биологического подтипа и выбор соответствующей тактики лечения [219]. Однако нередко фенотип опухоли на разных стадиях ее генеза отличается. Изменение уровня экспрессии рецепторов опухоли может быть настоящим биологическим феноменом или же, к сожалению, результатом ошибочного выполнения исследований. В качестве биологических причин могут выступать

дрейф генов, селекция клонов клеток, гетерогенность опухоли, а также повреждение генного аппарата клетки внешними агентами, например, химиопрепаратами, гормонотерапией или таргетными препаратами [14, 21, 121, 217, 242, 243].

На сегодняшний день феномен внутриопухолевой гетерогенности рассматривают в рамках двух теорий: опухолевой стволовой клетки (ОСК) и клональной эволюции опухоли [222, 225].

Гипотеза ОСК была выдвинута еще Рудольфом Вирховым в 1858 г. и расширена его приемником Юлием Конгеймом [244]. Согласно гипотезе ОСК, опухолевый рост подобен нормальному физиологическому процессу, но инициируется генетическими нарушениями в стволовой клетке. Интересно, что недавние данные по секвенированию геномов 21 опухоли молочной железы также допускают наличие предкового клона, по характеристикам схожего с ОСК [178].

В 1976 г. Питером Новелом была предложена гипотеза клональной эволюции опухоли, которая объясняла внутриопухолевую гетерогенность генетическими повреждениями соматических клеток. Каждая из теорий, безусловно, имеет право на существование. Особенно важен тот факт, что обе теории предполагают существование клональных субпопуляций в пределах одного новообразования. На основании анализа рецепторного профиля (CD44, CD24, EpCAM) сделано допущение, что опухолевые стволовые, люминальные и базальные клетки опухоли молочной железы могут стохастически трансформироваться друг в друга согласно Марковскому случайному процессу [184].

Теорию клональной эволюции удобно рассмотреть в рамках теории эволюции Чарльза Дарвина, согласно которой наследственная изменчивость является ресурсом для образования новых клеточных субклонов, а естественный отбор – платформой для выживания приспособленных агрессивных форм. Представление этого процесса в виде модели «эволюционного дерева» Ч. Дарвина предполагает, что опухолевый рост подобен растущему дереву, от ствола

которого ответвляется множество менее крупных ветвей разного размера, с которыми можно отождествить вновь образующиеся опухолевые субклоны [154].

Таким образом, гетерогенная опухоль рассматривается как динамическая экосистема, состав которой меняется при изменении микроокружения, в том числе под влиянием иммунной системы, гипоксии, терапии и т.д. Следовательно, отнесение опухоли молочной железы к определенному биологическому подтипу проводится на основе характеристик мажорного, то есть, преобладающего субклона опухоли. Применение химиотерапии приведет к уничтожению данного субклона, тем самым, открыв вакантное место для меньшей опухолевой популяции. Иначе любое терапевтическое воздействие приводило бы к уничтожению всей опухоли и полному выздоровлению организма.

Установлено, что полихимиотерапия с антрациклин-содержащими схемами оказывает наибольший эффект на низкодифференцированные клетки опухоли [107, 108, 133, 135]. Чаще всего это трижды негативный или Her2+ подтип опухоли. Соответственно, после полихимиотерапии низкодифференцированный пул клеток (Эр-, Пр-) становится меньшим относительно высокодифференцированных клеток. Опухоль преимущественно становится гормонопозитивной высокодифференцированной, а значит, более чувствительной к гормонотерапии [155, 157, 188].

Важным является изучение влияния химиотерапии на экспрессию рецепторов в ткани опухоли молочной железы. Согласно одному из исследований в 30% случаев определялось минимальное изменение экспрессии Her-2/neu, а в 10% – полное изменение статуса с положительного на отрицательный [156].

В 2006 году были опубликованы данные научного поиска влияния неоадьювантной терапии на стероидные рецепторы рака. По результатам исследования изменения были выявлены в 25% срезов, из них в 48% случаев была выявлена реверсия ER и PR с положительных на отрицательные. Такая тенденция приводила к увеличению общей выживаемости, но не влияла на безрецидивную выживаемость [213].

Клинические испытания показали, что состояние женщин, у которых достигнут полный патоморфологический регресс опухоли (pCR), характеризуется существенным улучшением показателей выживаемости по сравнению с теми, у кого он не достигнут в столь выраженной степени [102, 106]. Достижение pCR как промежуточного маркера улучшения выживаемости наблюдается в основном у женщин с агрессивными подтипами РМЖ: трижды негативным и HER-2-позитивным. У пациенток с HER-2-позитивным РМЖ добавление трастузумаба к неoadъювантной химиотерапии удваивает частоту pCR и коррелирует с повышением показателей выживаемости. Проведенные клинические испытания установили, что у больных с высокой экспрессией рецепторов стероидных гормонов наиболее подходящим лечением является неoadъювантная эндокринотерапия. Исследуется возможность ее применения в комбинации с таргетной (анти-HER) терапией при коэкспрессии эстрогена и HER-2. Неoadъювантная терапия при подходящих стадиях РМЖ позволяет ускорить оценку новых лекарственных средств с помощью идентификации предикативных (предсказывающих) биологических маркеров ответа (в частности, показателя pCR). Хотя стандартная неoadъювантная терапия приносит явную пользу пациенткам с pCR, остальные больные с так называемым резидуальным заболеванием находятся в зоне высокого риска рецидива [91, 96, 104, 203].

Немецкая группа по РМЖ (GBG-AGO-B) провела анализ 7 рандомизированных клинических испытаний НХТ, включавших 21 193 больных, с целью определить, предсказывает ли pCR улучшение отдаленных результатов лечения при различных подтипах РМЖ. Рецепторы эстрогенов (ER), прогестерона (PR), HER-2 и гистологическая степень злокачественности, определяемые локальными патологиями, были использованы для классификации больных по подтипам РМЖ в соответствии с клинико-патоморфологическими критериями, недавно рекомендованными панелью экспертов Санкт-Галлена (2011-2013 гг.), но вместо Ki-67 учитывалась степень злокачественности [182].

При люминальном подтипе В (HER-2-) III степени злокачественности, ER-/HER-2+ и трижды негативном раке pCR ассоциировался с улучшением исходов. Однако при люминальном А и люминальном В / HER-2+ раке не было отмечено корреляции. Это свидетельствует о том, что включение пациентов низкого риска может иметь существенный неблагоприятный дилуционный (разбавляющий) эффект на способность продемонстрировать улучшение исходов среди женщин с высокопролиферирующими опухолями с pCR.

Анализ испытания I-SP4 показал схожие результаты в подгруппах низкого риска (ER+, I-II степень злокачественности), которые имели низкую частоту pCR, но благоприятные исходы независимо от степени ответа [177].

Гипотеза об отсутствии корреляции между показателями pCR и отдаленным исходом, если включить больных низкого риска, подтверждается также исследованием NOAH (NeOAdjuvantHerceptin) [170]. В этом исследовании 235 женщин с HER-2+ местно-распространенным или воспалительным РМЖ получали НХТ трастузумабом или без него. У женщин, получавших ХТ и трастузумаб, pCR достиг 38%, только ХТ – 19%. Удвоение pCR в этой более гомогенной популяции с высокими показателями пролиферации коррелировало с улучшением 3-летней БСВ (71% против 56%; HR = 0,59; p = 0,013). В целом эти данные поддерживают точку зрения о том, что pCR является важным краткосрочным суррогатным тестом исхода при более агрессивных опухолях и трижды негативном РМЖ и обеспечивает надежную платформу для тестирования новых препаратов, нацеленных на высокопролиферативные опухоли [230].

Растущее понимание биологической гетерогенности РМЖ с помощью новейших технологий генного секвенирования позволило идентифицировать большое число потенциальных мишеней для новых, более селективных лекарственных препаратов (так называемая таргетная терапия). Токсичность многих из этих агентов оказалась менее проблематичной по сравнению с неселективными препаратами, а комбинации их с ХТ оказались перспективными. Неоадьювантное применение позволяет ускорить оценку этих агентов и

идентифицировать предсказывающие биомаркеры ответа (т. е. чувствительность к новой терапии), а также понять механизмы резистентности к лечению [11, 23, 38].

Г.А.Франк, руководитель Всероссийского центра контроля иммуногистохимических исследований, на наглядных примерах показал цену ошибки при оценке статуса HER2 у пациенток с РМЖ. Так, если у пациентки с люминальным типом В за счет гиперэкспрессии Her-2/neu в процессе лечения произошло полное изменение статуса HER2 с положительного на отрицательный, то без иммуногистохимического мониторинга эта смена подтипа останется не выявленной, что приведет к продолжению анти-Her2-терапии трастузумабом, цена которого на год лечения в Российской Федерации составит около 400 тыс. руб. Как итог, потраченные средства ничего не добавят пациентке, кроме ненужной токсичности. В противоположность этому обратная ситуация – не выявленная смена подтипа на Her2-позитивный приведет к ухудшению прогноза заболевания, быстрой генерализации опухолевого процесса и упущенному шансу на правильное лечение. Начиная с 1987г., до внедрения анти-Her2-терапии, считалось, что амплификация гена Her2 коррелирует с наиболее неблагоприятным прогнозом. Таким образом, контроль иммуногистохимического статуса опухоли в процессе лечения позволит предотвратить необоснованные финансовые затраты и определить верную тактику лечения [69, 88, 91].

Таким образом, эффективность терапии зависит, прежде всего, от ее правильного выбора. Только дифференцированный и персонифицированный подход к терапии РМЖ позволит достичь положительного эффекта с минимальной токсичностью. Несмотря на появление новых диагностических методик, иммуногистохимическое исследование остается простым, быстрым, удобным в применении и относительно недорогим методом исследования. Каждый новый этап развития опухоли требует повторных иммуногистохимических исследований для определения последующей верной тактики лечения в зависимости от подтипа опухоли.

РАЗДЕЛ 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование отвечало всем этическим требованиям, предъявляемым к научным работам, на что было получено разрешение этического комитета ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО. В основу исследования положены сведения из историй болезни, амбулаторных карт диспансерного наблюдения 345 пациенток от 26 до 84 лет с местно-распространенным раком молочной железы T4N0-2M0. Диагноз подтвержден цитологически и гистологически. Исследование проведено с 2013 по 2019 годы в Республиканском онкологическом центре им. Г.В. Бондаря.

Исследуемую группу составили 182 пациентки, получившие неоадьювантную химиотерапию (2-4 курса ПХТ), мастэктомия, индивидуальное адьювантное лечение в зависимости от ИГХ статуса.

Группа сравнения представлена 163 пациентками, получившими неоадьювантную химиотерапию (2-4 курса ПХТ), мастэктомия, адьювантное лечение с учетом ранее определенного ИГХ статуса РМЖ.

При определении стадии заболевания мы руководствовались седьмым изданием классификации TNM (2011), разработанным специальным комитетом Международного противоракового союза.

Окончательное стадирование диагноза проводили по результатам морфологического исследования операционного материала – постхирургическая классификация pTNM (2011).

Распределение больных в выделенные группы исследования и сам анализ полученных результатов проведен с учетом указанных классификаций.

Отбор больных в исследование осуществлялся с соблюдением принципов рандомизированной выборочной совокупности. Все отобранные пациентки были детально ознакомлены с задачами исследования, программой лечебно-

диагностических мероприятий и дали свое письменное информированное согласие на лечение.

Критериями включения пациенток в исследование являлись:

- возраст от 18 до 84 лет;
- верифицированный при трепанбиопсии рак молочной железы;
- опухоли T4N0-2 согласно 7 TNM-классификации;
- отсутствие отдаленных метастазов (критерий M0);
- переносимость химиопрепаратов;
- только внутривенный и внутриаартериальный путь введения химиопрепаратов;
- ECOG статус 0-1 (состояние больного по шкале Карновского 80-90%);
- адекватная сердечная функция. Формальное измерение фракции выброса левого желудочка составляет $\geq 55\%$;
- адекватное функционирование печени: билирубин $< 1,5$ x верхняя граница нормы (ВГН), AST and ALT $< 2,0$ x ВГН;
- адекватное функционирование почек: креатинин $< 1,0$ x ВГН;
- адекватная гематологическая функция: уровень лейкоцитов $\geq 3,5 \times 10^9/\text{л}$; тромбоциты $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$; гемоглобин (Hb) ≥ 90 г/л.

Критериями исключения из исследования явились:

- наличие отдаленных метастазов (M1);
- непереносимость химиопрепаратов;
- предшествующая лучевая терапия;
- выявленная ВИЧ-инфекция или выявленный симптоматический гепатит (B,C);
- клинически значимое (т.е. в активной форме) сердечное заболевание. Инфаркт миокарда или госпитализация в связи с застойной сердечной недостаточностью в течение 12 месяцев перед включением в исследование;
- перенесенный геморрагический либо ишемический инсульт в течение 12 месяцев до включения в исследование;

- другое клинически значимое заболевание, которое может неблагоприятно отразиться на безопасности проведения лечения в рамках исследования, включая помимо прочего любое из следующих условий: сопутствующая или активная инфекция, требующая парентерального применения антибиотиков, неконтролируемая гипертензия, сопутствующая сердечная аритмия с серьезными гемодинамическими последствиями или нестабильной стенокардией;

- беременность или грудное вскармливание;
- язвенная болезнь желудка и/или 12-перстной кишки в острой фазе;
- аутоиммунное заболевание;
- предшествующее опухолевое заболевание;
- сахарный диабет, тяжелая форма.

2.1. Общая характеристика больных исследуемой группы

Неoadъювантная химиотерапия (2-4 курса ПХТ), мастэктомия, индивидуальное адъювантное лечение в зависимости от ИГХ статуса было проведено у 182 (52,8%) пациенток в возрасте от 26 до 84 лет с местно-распространенным раком молочной железы T4N0-2M0. Средний возраст больных данной группы составил 56,6 лет. Основной удельный вес ($60,4 \pm 3,6\%$) в этой группе приходился на женщин трудоспособного возраста – от 30 до 60 лет (табл. 2.1.). Самыми малочисленными были группы больных в возрасте до 39 лет и старше 70 лет.

Несмотря на запущенные стадии злокачественного процесса в молочной железе у женщин данной группы исследования, подавляющее их большинство (160 пациенток, $87,9 \pm 2,4\%$) было взято под наблюдение в первые 12 месяцев с момента обнаружения первых симптомов заболевания. Давность заболевания от одного до двух лет констатирована у 12 ($6,6 \pm 1,8\%$) женщин. В сроке развития заболевания более 3 лет за оказанием специализированной медицинской помощи обратились лишь 5 ($2,7 \pm 1,2\%$) женщин.

Таблица 2.1

Распределение пациенток исследуемой группы по возрасту (n=182)

Возраст	Кол-во наблюдений	Удельный вес, %, М±m
30-39 лет	7	3,8±1,4
40-49 лет	35	19,2±2,9
50-59 лет	68	37,4±3,6
60-69 лет	52	28,6±3,3
Старше 70 лет	20	11,0±2,3

У всех 182 женщин исследуемой группы диагностирована IIIb стадия заболевания (рис. 2.1). У 126 (69,2±3,4%) пациенток опухолевый рост сопровождался наличием вторичного отека молочной железы, прорастанием в кожу или сателитными метастатическими узлами на коже в зоне опухоли. У 44 (24,2±3,2%) женщин опухолевый процесс распространялся на анатомические структуры передней грудной стенки. У 5 (2,7±1,2%) пациенток перечисленные симптомы опухолевого роста сочетались между собой, а у 7 (3,8±1,4%) женщин диагностирована воспалительная форма рака.

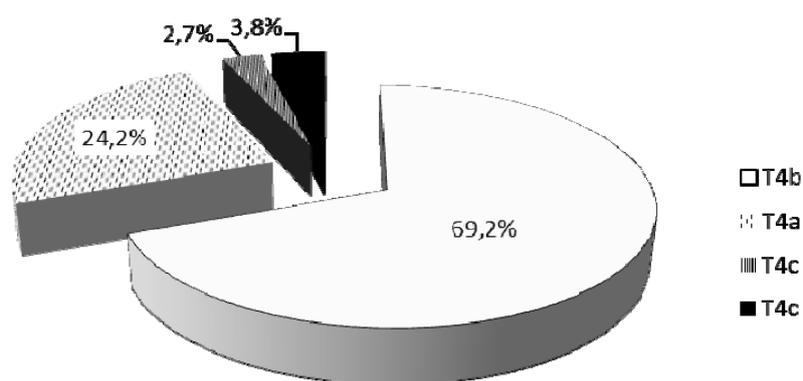


Рисунок 2.1. Распределение пациенток исследуемой группы по стадиям местно-распространенного рака молочной железы

Оценка состояния репродуктивной системы выявила сохраненную менструальную функцию у 47 (25,8±3,2%) женщин исследуемой группы. Нарушения менструального цикла различной степени выраженности и продолжительности диагностированы у 135 (74,2±3,2%) пациенток (табл. 2.2). Продолжительность менопаузы до 5 лет отмечена у 46 (42,6±4,1%) женщин, от 5 до 10 лет – у 34 (19,6±3,3%) пациенток, более 10 лет – у 55 (19,2±2,4%) женщин.

Таблица 2.2

Распределение пациенток исследуемой группы по продолжительности менопаузы (n=135)

Продолжительность менопаузы	Кол-во наблюдений	Удельный вес, %, M±m
1-5 лет	46	34,1±4,1
5-10 лет	34	25,2±3,7
10-15 лет	17	12,6±2,9
15-20 лет	10	7,4±2,3
Свыше 20 лет	28	20,7±3,5

В целях обеспечения полной антиэстрогенной блокады у 32 (68,1%) из 47 больных с сохраненной менструальной функцией лечение начато с двусторонней тубовариэктомии и внутриартериальной полихимиотерапии, причем оба вмешательства выполнялись одновременно после определения рецепторов эстрогенов и прогестерона в материале, полученном при толстоигольной трепан-биопсии опухоли до начала лечения. Показанием к выполнению данного вмешательства явилась выявленная в опухолях гиперэкспрессия рецепторов эстрогенов и прогестерона [2, 24, 66].

Сопутствующая соматическая патология диагностирована у 79 (43,4%) пациенток данной группы. Распределение больных по характеру сопутствующей патологии представлено в табл. 2.3.

Таблица 2.3

Распределение пациенток исследуемой группы по характеру сопутствующей патологии (n=79)

Сопутствующая патология	Кол-во наблюдений	Удельный вес, %, М±m
Заболевания сердечно-сосудистой системы	19	24,1±4,8
Заболевания легких	11	13,9±3,9
Заболевания женской половой сферы	8	10,1±3,4
Заболевания пищеварительной системы	12	15,2±4,0
Сахарный диабет	6	7,6±3,0
Ожирение	5	6,3±2,7
Прочие соматические заболевания	3	3,8±2,2

Как следует из таблицы 2.3, преобладающими по частоте в этой группе явились заболевания легких, сердца и сосудов – 30 (38,0±5,5%), к которым относили хронические неспецифические заболевания легких, ишемическую болезнь сердца, атеросклеротический аортокардиосклероз, гипертоническую болезнь, стенокардию, патологию венозных сосудов конечностей. Следующими по частоте встречаемости являлись заболевания желудочно-кишечного тракта (хронический холецистит, хронический гастродуоденит, язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки, хронический колит и пр.) – 12 (15,2±4,0%) женщины. Сахарный диабет зарегистрирован у 6 (7,6±3,0%) больных, заболевания женской половой сферы – у 8 (10,1±3,4%) женщин. Ожирением страдали 5 (6,3±2,7%) пациенток. Прочие соматические заболевания диагностированы нами у 3 (3,8±2,2%) больных исследуемой группы.

2.2. Общая характеристика больных группы сравнения

В группу сравнения вошли 163 ($47,2 \pm 2,7\%$) пациентки, получившие неоадьювантную химиотерапию (2-4 курса ПХТ), мастэктомия, адьювантное лечение с учетом ранее определенного ИГХ статуса РМЖ. Возраст больных данной группы варьировал от 26 до 84 лет, средний возраст в данной группе составил 55,9 лет (табл. 2.4). Как и в исследуемой группе, наибольшее количество заболевших приходилось на трудоспособный возраст – 107 ($65,6 \pm 3,7\%$) женщин. Данный вид лечения применен нами преимущественно у пациенток в возрасте от 40 до 59 лет.

Таблица 2.4

Распределение пациенток группы сравнения по возрасту (n=163)

Возраст	Кол-во наблюдений	Удельный вес, %, $M \pm m$
30-39 лет	12	$7,4 \pm 2,0$
40-49 лет	30	$18,4 \pm 3,0$
50-59 лет	65	$39,9 \pm 3,8$
60-69 лет	38	$23,3 \pm 3,3$
Старше 70 лет	18	$11,0 \pm 2,5$

Как и в исследуемой группе, подавляющее большинство пациенток (148 женщин, $90,8 \pm 2,3\%$) было взято под наблюдение в первые 12 месяцев с момента обнаружения первых симптомов заболевания. Длительность течения заболевания от одного до двух лет констатирована у 6 ($3,7 \pm 1,5\%$) пациенток, более 2 лет – у 9 ($5,5 \pm 1,8\%$) больных.

У всех 163 женщин группы сравнения диагностирована IIIb стадия заболевания (рис. 2.2). У 114 ($69,9 \pm 3,6\%$) пациенток опухолевый рост сопровождался наличием вторичного отека молочной железы, прорастанием в кожу или сателитными метастатическими узлами на коже в зоне опухоли. У 34

($20,9 \pm 3,2\%$) женщин опухолевый процесс распространялся на анатомические структуры передней грудной стенки. У 4 ($2,5 \pm 1,2\%$) пациенток перечисленные симптомы опухолевого роста сочетались между собой, а у 11 ($6,7 \pm 2,0\%$) женщин диагностирована воспалительная форма рака.

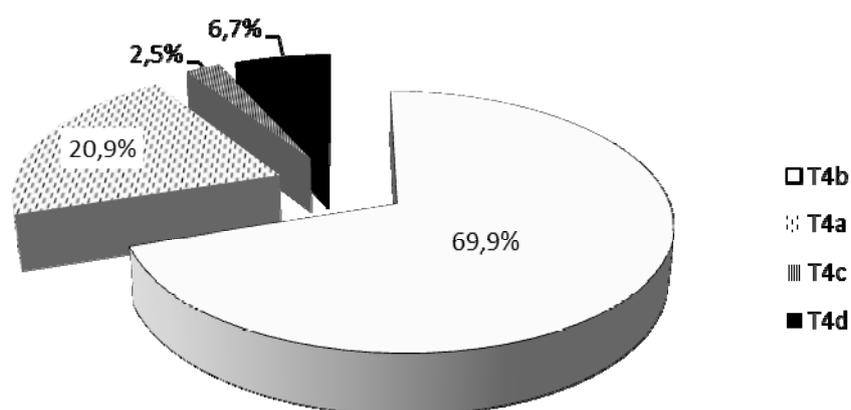


Рисунок 2.2. Распределение пациенток группы сравнения по стадиям заболевания

Учитывая имеющуюся возрастную неоднородность пациенток группы сравнения, отмечены также и различия в состоянии их репродуктивной системы (табл. 2.5). Так, у 31 ($19,0 \pm 3,1\%$) женщины менструальная функция была сохранена. Продолжительность менопаузы до 5 лет отмечена у 46 ($34,8 \pm 4,1\%$) пациенток, от 5 до 10 лет – у 33 ($25,0 \pm 3,8\%$) женщин, а более 10 лет – у 53 ($40,2 \pm 4,3\%$) больных.

Сопутствующая соматическая патология выявлена у 54 ($33,1 \pm 3,7\%$) пациенток данной группы. Распределение больных группы сравнения по характеру сопутствующей патологии представлено в табл. 2.6.

Таблица 2.5

**Распределение пациенток группы сравнения по продолжительности
менопаузы (n=132)**

Продолжительность менопаузы	Кол-во наблюдений	Удельный вес, %, M±m
1-5 лет	46	34,8±4,1
5-10 лет	33	25,0±3,8
10-15 лет	18	13,6±3,0
15-20 лет	14	10,6±2,7
Свыше 20 лет	21	15,9±3,2

Таблица 2.6

**Распределение пациенток группы сравнения по характеру сопутствующей
патологии (n=54)**

Сопутствующая патология	Кол-во наблюдений	Удельный вес, %, M±m
Заболевания сердечно-сосудистой системы	23	42,6±6,7
Заболевания легких	9	16,7±5,1
Заболевания женской половой сферы	7	13,0±4,6
Заболевания пищеварительной системы	10	18,5±5,3
Сахарный диабет	4	7,4±3,6
Ожирение	4	7,4±3,6
Прочие соматические заболевания	3	5,6±3,1

Как свидетельствуют данные таблицы 2.6, преобладающими по частоте (42,6±6,7%) явились сердечно-сосудистые заболевания, к которым относили ишемическую болезнь, атеросклеротический аортокардиосклероз, гипертоническую болезнь, стенокардию, варикозную болезнь вен нижних

конечностей. Следующей по частоте была патология пищеварительной системы (хронический холецистит, хронический гастродуоденит, язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки, хронический колит и пр.), которую имели 10 (18,5±5,3%) пациенток группы сравнения.

2.3. Методы диагностики и основные принципы лечения

Диагностику опухолевого процесса у пациенток, включенных в настоящее исследование, проводили на основании общепринятых методов. Наряду с данными объективного обследования (осмотр, маммография, ультразвуковое обследование и пр.) диагноз верифицировали с использованием цитологического и морфологического методов [31, 38]. Диагностику отдаленного метастазирования осуществляли с обязательным использованием рентгенографии или рентгеномографии легких и органов средостения, ультразвукового или компьютерного обследования органов брюшной полости, малого таза и забрюшинного пространства, остеосцинтиграфии [4, 8, 42, 45]. Обязательным компонентом дообследования являлось изучение состояния эндокринной и репродуктивной функций – консультация эндокринолога, и гинеколога с определением типа вагинального мазка [43].

Всем больным на момент поступления в стационар и на этапах комплексного лечения выполняли общеклинические и биохимические анализы крови и мочи [13]. Особое внимание уделяли состоянию свертывающей системы крови. При выявлении сопутствующей патологии пациенток обязательно консультировали специалисты соответствующего профиля.

Курсы внутривенной полихимиотерапии проводили по схеме CMF, AC, FAC, AP. Количество курсов определяли, исходя из оценки эффективности лечения, общего состояния пациенток, наличия и степени выраженности местных и системных осложнений: от 4 до 6 курсов адьювантного и неадьювантного лечения.

Хирургический этап лечения использовали у пациенток только после достижения полной или частичной регрессии первичного очага. Пациенткам выполнена функционально-щадящая модифицированная радикальная мастэктомия по Маддену.

В соответствии со стандартами лечения рака молочной железы все пациентки получили послеоперационные курсы лучевой терапия, которую проводили в радиологическом отделении РОЦ.

Облучение послеоперационной и регионарных областей проводили на гамма-терапевтических установках «Рокус» и «Агат» в режимах укрупненного или классического фракционирования дозы.

Результаты лечения после проведения лучевой терапии в диссертационной работы не отражены.

Гормональное лечение проводили в соответствии с современными взглядами и подходами к этой проблеме [56, 65]. Хирургическую кастрацию выполняли пациенткам с сохраненной менструальной функцией и наличием у них рецепторов стероидных гормонов. Этим пациенткам после выполнения вмешательства рекомендовали прием антиэстрогенных препаратов (тамоксифен, фарестон и др.) или ингибиторов ароматазы (фемару, аромазин, аримидекс и др.) в течение пяти лет. Антиэстрогенные препараты назначали также всем пациенткам в постменопаузе.

2.4. Методы навигации

В случае клинического ответа на проведенный 1 курс терапии пациенткам под контролем ультразвука производилась установка танталовой «скрепки», которая оставалась в опухолевом узле на протяжении лечения и служила маркером при проведении патоморфологического исследования материала после удаления молочной железы. Маркировка опухоли танталовыми скобами до начала неоадьювантной терапии и установка локализационного «гарпуна»

непосредственно перед операцией позволяют избежать позитивного края резекции и выполнить прицельное морфологическое исследование ложа опухоли в случае ее полной патоморфологической регрессии (рис. 2.3, 2.4).

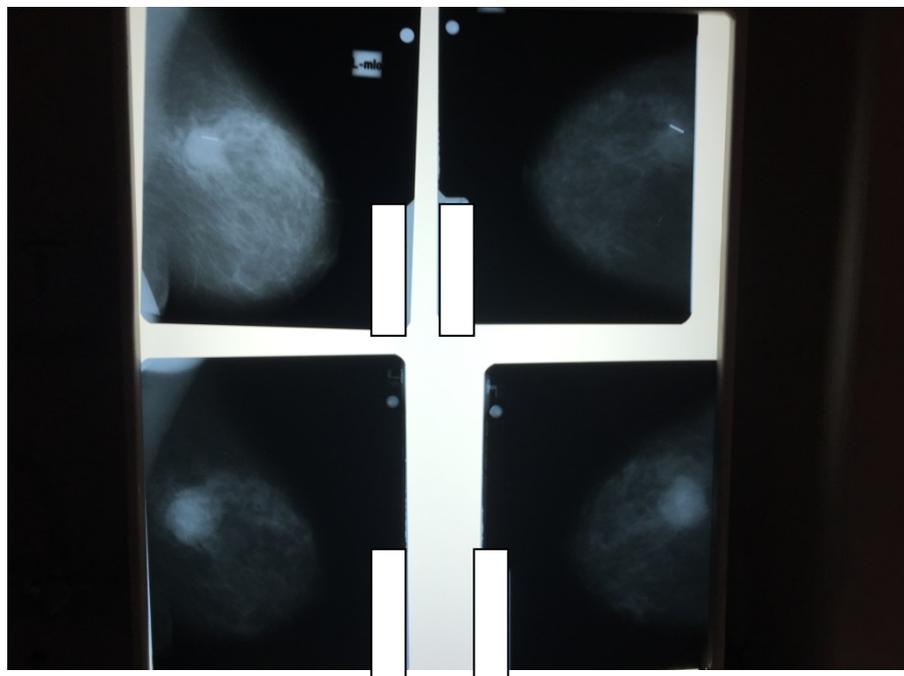


Рисунок 2.3. Левая молочная железа. Опухоль в верхне-наружном квадранте. Рентгенологически положительная динамика в виде уменьшения опухоли. На верхних снимках в опухоли видна металлическая скрепка

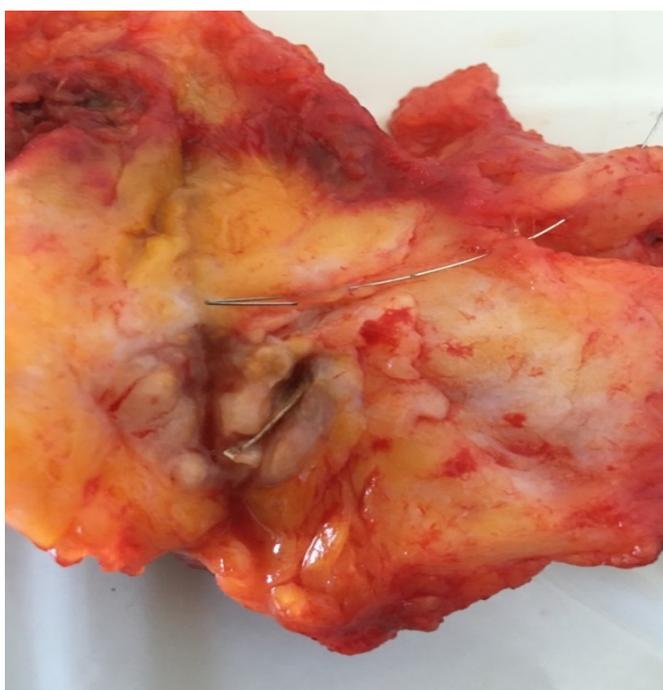


Рисунок 2.4. Ткань молочной железы с резидуальной опухолью. Внутри опухоли установлена танталовая скрепка

2.5. Методика забора биоптата опухоли молочной железы

При проведении CORE биопсии (биопсии режущей иглой) опухоли молочной железы соблюдались все правила асептики и антисептики, анестезия не применялась. Непрерывный ультразвуковой контроль на протяжении всего вмешательства обеспечивал его результативность и безопасность.

В случае небольшого и однородного по консистенции очага поражения (диаметром до 4 см) ограничивались однократным получением пунктата из центра опухоли. При выраженности кожных симптомов иглу вводили в центр определяемого участка измененной кожи. При диаметре очага поражения более 4 см или неодинаковой его плотности в разных участках пункцию производили в двух и более местах. Наличие полости распада в центре опухоли давало основание эвакуировать ее содержимое, а затем повторно пунктировать пальпируемое уплотнение.

Использование УЗИ в качестве навигации для прицельной пункции молочной железы способствует получению материала из конкретной интересующей зоны, что повышает точность цитологической и гистологической верификации патологических процессов в молочной железе (рис. 2.5, 2.6, 2.7).

Применение УЗ-аппаратов принципиально видоизменило технику пункции. При «слепой» пункции направление хода пункционной иглы избиралось исходя из топографо-анатомических ориентиров. Отличительной особенностью новой техники исполнения под УЗ-контролем является то, что оператор, проводя манипуляцию, не видит реальный физический объект исследования, а непосредственно наблюдает процесс перемещения иглы на экране сканера, не глядя на пациента. Безукоризненность навигации напрямую зависит от максимального использования технических возможностей сканера.



Рисунок 2.5. Пациентка С., 58 лет, диагноз: рак правой молочной железы, T4bN2M0. Выполнение толсто-игольной трепан-биопсии опухоли под контролем сонографического исследования

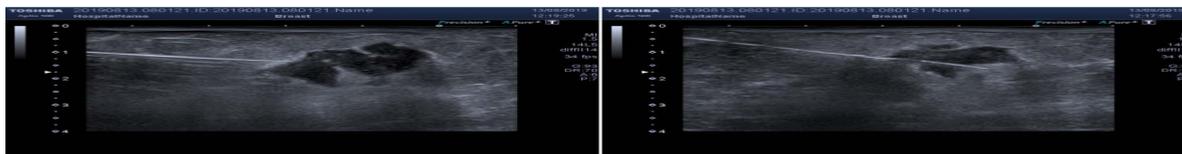


Рисунок 2.6. Трепан-биопсия под контролем сонографического исследования



Рисунок 2.7. Опухоль молочной железы после извлечения пункционной иглы

Для контроля выполнения биопсий молочной железы возможно использование сканеров любого класса. Повышение класса сканера:

- повышает точность попадания в зону интереса при очаговой патологии;
- способствует снижению риска постпункционных геморрагий за счет локации сосудов в доплеровских режимах;

- предоставляет возможность цифрового документирования достоверного забора материала из конкретной зоны.

Для выполнения биопсии молочной железы наличие специального пункционного датчика не является обязательным.

Выбор иглы для диагностической пункции молочной железы зависит от характера заболевания и целей исследования.

Непрерывный ультразвуковой контроль на протяжении всего вмешательства обеспечивает его результативность и безопасность.

Перед пункцией производится тщательное позиционирование с выбором безопасного акустического окна. Под акустическим окном подразумевается эхографически выбранный ограниченный участок тканей от датчика до зоны интереса, через который предполагается проведение пункционного диагностического или лечебного вмешательства. Безопасная траектория доступа далеко не всегда является самой короткой. Предполагаемая траектория пункционного канала не должна пересекать значимые по диаметру (т.е. визуализируемые эхографически) кровеносные сосуды.

Эхографически игла во время пункции визуализируется в виде линейного гиперэхогенного сигнала, скорость и направление движения которого соответствуют продвижению иглы на заданную глубину. Существует ряд приемов по улучшению УЗ-визуализации пункционной иглы в процессе выполнения вмешательства. Следует отметить, что, как правило, диаметр иглы не определяет качество и успех эховизуализации. Предлагаемые различными фирмами-производителями специальные иглы с повышенным звукоотражением (например, с насечками или тефлоновым покрытием) или акустико-электрическими преобразователями на кончике иглы довольно дороги и малодоступны для широкого применения. Поэтому более целесообразно использовать стандартные иглы с применением специальных приемов для улучшения визуализации. При использовании полой иглы ее внутренний канал, заполненный воздухом, лучше визуализируется эхографически.

Важная роль в улучшении визуализации принадлежит цветному доплеровскому картированию. В цвете хорошо визуализируется смещение тканей в зоне прохождения пункционной иглы, движение жидкости внутри полый иглы или стилета в игле-трепане. Также возможно визуализировать в цвете саму иглу при легком ее покачивании.

Если позволяют технические возможности сканера, в контроле пункционного вмешательства при выборе между цветным доплеровским картированием (ЦДК) потоков и энергии предпочтение следует отдать последнему. Известно, что при эхолокации в режиме ЦДК потока общее качество УЗ-изображения снижается, что затрудняет контроль проведения вмешательства. При эхолокации этой же зоны в энергетическом ЦДК изображение более четкое. Учитывая, что направленность потока принципиального значения для навигации пункционного вмешательства не имеет, энергетическое картирование является оптимальным для контроля пункции.

Глубина прокола молочной железы просчитывается предварительно при определении безопасного акустического окна. При желании возможна маркировка на игле расчетной длины биопсионного канала. Техника исполнения пункции связана с видом иглы, но общим для соблюдения является:

1 – направление вкола должно быть навстречу движению молочной железы при дыхании;

2 – желательно, чтоб угол входа иглы был в пределах 30-50 градусов по отношению к молочной железе;

3 – биопсия проводится при задержанном дыхании (предварительно целесообразно проведение пробы Штанге и беседа с пациентом об этапах манипуляции).

Риск осложнений при пункционных вмешательствах находится в прямой зависимости от длительности выполнения пункции. Желательна прецизионная фокусировка на зону интереса, увеличение персистенции и мощности излучения, по возможности использование энергетического картирования.

Для оценки достаточности полученного материала желателен его срочный микроскопический осмотр.

После осуществления биопсии и извлечения пункционной иглы необходим эхографический контроль всей области вмешательства на предмет выявления возможных осложнений.

2.6. Цитологическое исследование

При обследовании пациентов на дооперационном этапе цитологические исследования проводились для верификации первичного очага в ткани молочной железы, вторичных процессов в регионарных лимфоузлах и отдаленных органах с целью определения стадийности заболевания и определения распространенности опухолевого процесса.

Интра- и постоперационно цитологические методы исследования использовались для оценки степени дифференцировки клеток опухоли молочной железы и для определения клеточной диссеминации опухоли.

Материалом для цитологических исследований служили пунктаты опухолевидных образований и отделяемое сосков молочной железы, отпечатки и соскобы с эрозированных поверхностей опухоли и соскобы с разрезов удаленных опухолей и тканей молочной железы и регионарных лимфоузлов, а также смывы с операционной раны и дренажная жидкость.

Весь полученный материал наносился на предварительно обработанные предметные стекла и высушивался на воздухе. Смывы и дренажная жидкость центрифугировались, из осадка приготавливались препараты для исследования.

Для окрашивания цитологических препаратов использовались общепринятые методы окраски по Романовскому-Гимзе, Май-Грюнвальду, Лейшману азур-эозиновыми смесями с предварительной фиксацией спиртосодержащими красителями, а также интраоперационные экспресс-методы окраски по Астраханцеву, Алексееву и Нечаевой.

В цитологических препаратах рак молочной железы характеризовался четко выраженными клеточными признаками злокачественности, благодаря чему диагноз рака при достаточном числе клеток правильно устанавливался у подавляющего числа больных.

В цитологическом заключении о раке молочной железы возможно указывать как гистологическую форму опухоли, так и степень дифференцировки клеток ее паренхимы. Однако в первом случае трактовка цитограмм не всегда достоверна вследствие возможной пестроты гистологического строения рака молочной железы, а также из-за нарушения межклеточных контактов, разрушения многоклеточных структур и изменения соотношения элементов паренхимы и стромы в цитологических препаратах. Более информативно указывать в цитологическом заключении степень дифференцировки клеток опухоли, что и было использовано нами в данной работе. Цитологическая дифференцировка рака молочной железы классифицировалась как высокая, умеренная, низкая и недифференцированный рак.

Высокодифференцированный рак молочной железы цитологически характеризовался присутствием значительного числа клеток, сохранивших морфологические признаки клеток железистого эпителия: эксцентричное расположение ядер, признаки секреторной активности цитоплазмы, выраженная формообразовательная функция и относительно незначительный клеточный полиморфизм (рис. 2.8). В цитограммах большинство клеток лежали рядами, железистоподобными комплексами, вытянутыми структурами, напоминающими протоки, папиллярными комплексами. Цитоплазма отмечалась мелкозернистая или пенистая, неравномерно окрашенная, часто содержащая гранулы. Клетки преимущественно средние и мелкие, изредка присутствовали и более крупные клетки. Форма клеток округлая и овальная, реже неправильная. Ядра круглые и овальные, различные по величине, часто с грубым интенсивно окрашенным хроматином, занимали значительную часть клетки, ядрышки в них определялись не всегда, но нередко были увеличены.

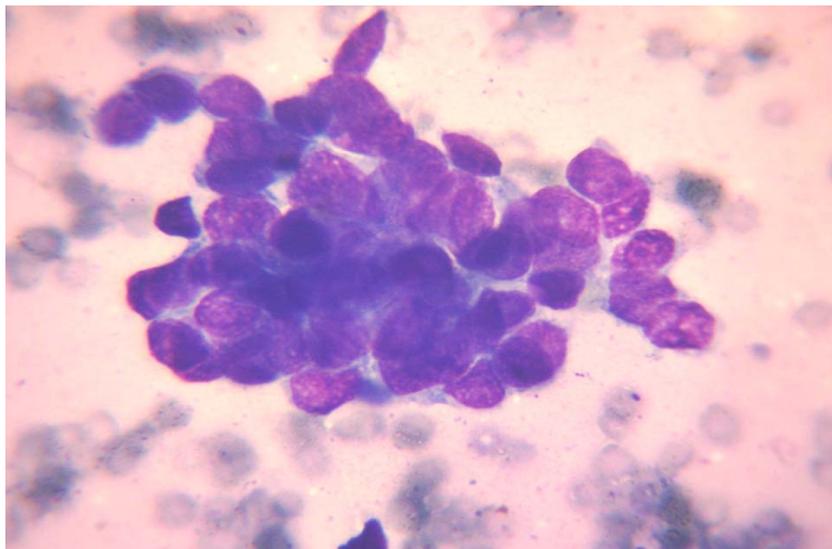


Рисунок 2.8. Цитограмма рака молочной железы с высокой дифференцировкой клеток. Окраска по Романовскому-Гимзе, X 900

Цитологические признаки раков молочной железы с умеренной дифференцировкой клеток паренхимы отличались клеточным разнообразием: полиморфизм клеток более выражен, однако морфологическое сходство клеток с клетками железистого эпителия сохранено, отмечалась незначительная адгезивная способность большинства клеток паренхимы, в результате чего клетки располагались изолированно друг от друга. Всегда присутствовали многоклеточные группы или комплексы, указывающие на железистую дифференцировку – атипичные ацинарные (железистоподобные), протоковые структуры или ряды, в которых клетки находились в тесной связи (рис. 2.9). Клетки крупные, имели округлую, призматическую неправильную форму. Ядра крупные, полиморфные, с грубым хроматином, множественными ядрышками, неровными контурами. Цитоплазма большинства клеток была относительно обильная, негомогенная, мелкозернистая или с признаками секреторной активности в виде просветлений, скоплений пылевидных гранул, с фестончатым контуром или с отрывом ее участков.

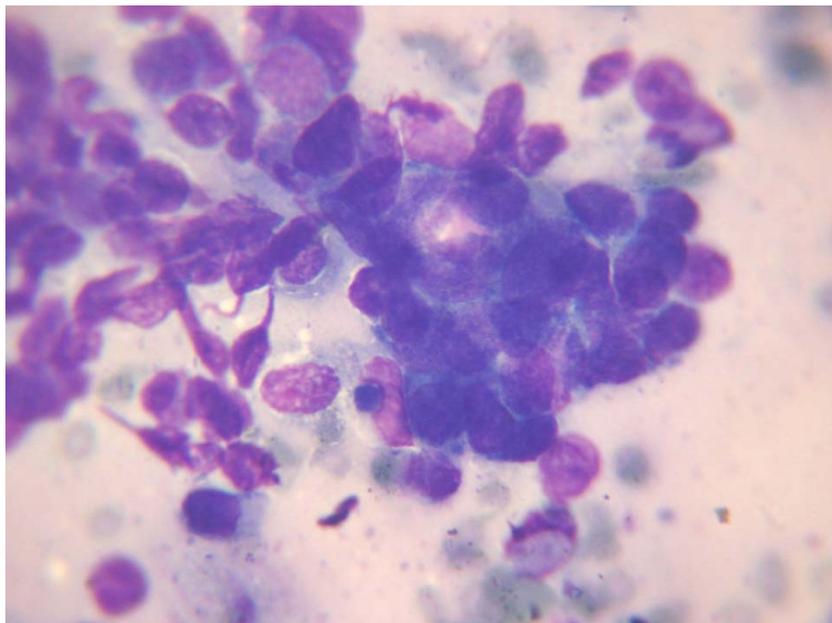


Рисунок 2.9. Цитограмма рака молочной железы с умеренной дифференцировкой клеток. Окраска по Романовскому-Гимзе, X 900

При низкодифференцированном раке молочной железы большинство клеточных элементов в цитологических препаратах не имело сходства с клетками эпителия протоков и ацинусов железы и не образовывало какие-либо многоклеточные структуры, указывающие на принадлежность к клеткам железистого эпителия (рис. 2.10). Клетки рака крупные, располагались изолированно друг от друга или небольшими группами, часто встречались двоядерные, а иногда и многоядерные опухолевые клетки. Иногда клетки располагались в виде фасеток, хотя многочисленных структур обычно не отмечалось. При большой клеточности в препарате удавалось обнаружить «приспосабливаемость» клеток рака по форме в небольших рядах и многослойных скоплениях. Полиморфизм клеток был резко выражен, ядра полиморфны, ядрышки, как правило, множественные и увеличенные. Цитоплазма мелкозернистая или гомогенная, обильная, окрашивалась неравномерно. Практически всегда в препаратах обнаруживались фигуры митоза, а элементы стромы были немногочисленны.

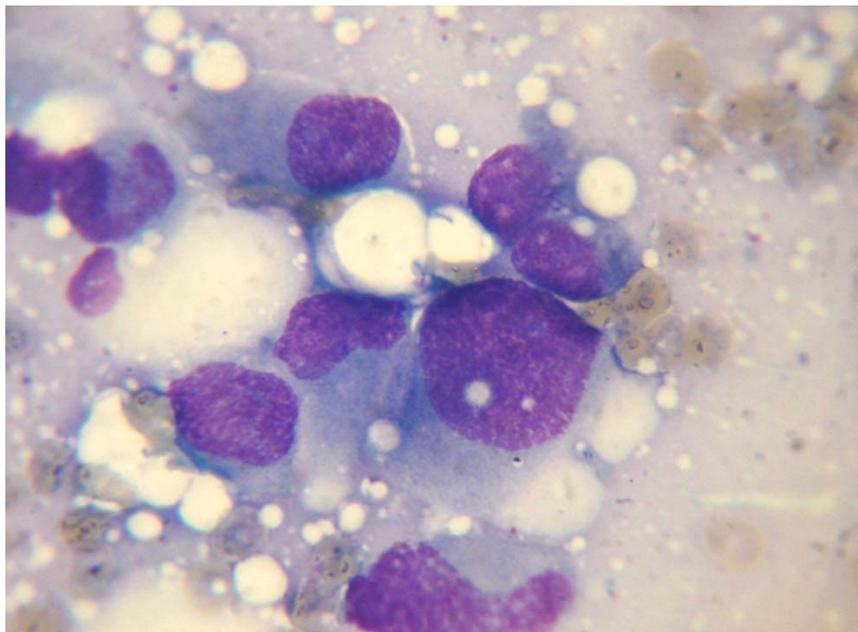


Рисунок 2.10. Цитограмма рака молочной железы с низкой дифференцировкой клеток. Окраска по Романовскому-Гимзе, X 900

При невозможности четко указать степень цитологической дифференцировки рака молочной железы или при недостаточном количестве клеточных элементов рака в материале пунктата опухоли молочной железы в цитологическом заключении указывали о наличии злокачественной опухоли либо злокачественных опухолевых клеток.

При оценке состояния железистой ткани молочной железы, окружающей первичную опухоль, наличие в цитограммах соскобов операционного материала уплощенных эпителиальных клеток выстилки кисты, клеток железистого эпителия с признаками пролиферации и псевдомолозивных клеток свидетельствовало о наличии в ткани молочной железы фиброзно-кистозных изменений.

Описанные выше критерии злокачественности клеток рака молочной железы позволили четко указывать на наличие клеточной диссеминации опухоли вне основного очага поражения при изучении цитограмм соскобов тканей железы на операционном материале, а также свидетельствовать о наличии метастатического процесса в удаленных подмышечных лимфоузлах.

При изучении клеточного состава смывов с операционной раны и дренажной жидкости указывалось наличие в них опухолевых клеток (ОК) также на основании клеточных критериев злокачественности.

2.7. Патоморфологические исследования

Для морфометрического исследования отобрано 345 наблюдений долькового инвазивного рака молочной железы различной степени злокачественности, из них высокодифференцированных карцином (G1) было 35, умереннодифференцированных карцином (G2) – 125, низкодифференцированных (G3) – 134 и недифференцированных (G4) – 51 наблюдение. Для морфологического и морфометрического изучения были взяты кусочки опухоли из центра и периферии.

Количественно определяли ряд параметров тканевой структуры опухоли, уровень стереохимической организации коллагеновых волокон, показатели пролиферативной активности опухолевых клеток, качественные и количественные характеристики клеточных инфильтратов стромы. При выполнении морфометрических исследований руководствовались основными принципами проведения количественных морфологических исследований.

Кусочки ткани фиксировали в растворе ИНС Zinc Fixative (Phar Mingen, USA), заливали в парафин и изготавливали серийные парафиновые срезы толщиной 5,1 мкм, которые затем окрашивали гематоксилином и эозином, по ван Гизону, по Вергоффу, толуидиновым синим при pH 2.6 и 5.3, ставили ШИК-реакцию с обработкой контрольных срезов амилазой. Часть серийных гистологических срезов, депарафинированных по стандартной методике, обрабатывали моноклональными антителами к поверхностным антигенам p53, Ki67 и EDFR – протеазы, к цитокератинам, виментину, а также антигенам эпителиальных мембран (Phar Mingen, USA).

На стандартных серийных гистологических срезах толщиной 5,1 мкм, окрашенных гематоксилином и эозином, определяли удельный объем стромы и паренхимы опухоли, сосудов и очагов некроза. На основе полученных величин удельного объема вычисляли коэффициент васкуляризации.

С целью оценки пролиферативной активности опухолевых клеток определяли прямые и косвенные ее маркеры: проводили подсчет фигур митоза и амитоза в 2500-3000 клеток с вычислением митотического (МИ), амитотического (АМИ) индексов и суммарного индекса пролиферации (СИП), определяли величину ядерно-цитоплазматического отношения (ЯЦО); с помощью окуляр-микрометра измеряли наибольший диаметр (среднюю длину сечения) ядер опухолевых клеток при увеличении $\times 600$. При определении форм нормальных и патологических митозов и митотического индекса пользовались стандартными рекомендациями. В качестве фигур амитоза рассматривали только дву- и многоядерные клетки, а также клетки с/без явлений цитотомии, содержащие ядра гантелевидной и подковообразной формы с перетяжкой. Не учитывали в качестве фигур амитоза дольчатые и “лопастные” ядра.

При помощи количественной поляризационной микроскопии проводили оценку морфофункционального состояния стромального компонента опухоли, для чего измеряли исходную оптическую силу коллагеновых волокон на неокрашенных парафиновых срезах, заключенных в канадский бальзам, силу двойного лучепреломления после постановки фенольной реакции Эбнера с вычислением фенольного индекса (Iphen), ШИК-реакции с вычислением индекса накопления нейтральных мукополисахаридов (Inmps), после окрашивания толуидиновым синим при pH 2.6 с вычислением индекса накопления гликозаминогликанов (Iga). По калибровочным графикам определяли степень зрелости коллагеновых волокон соединительно-тканного компонента рака молочной железы и выявляли наличие в них вторичных изменений.

Определяли плотность распределения иммунокомпетентных клеток в строме опухоли. Подсчет клеток инфильтрата проводили с помощью окулярной

сетки в 30 полях зрения в препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, толуидиновым синим при рН 5.3 и метиловым зеленым-пиронином по Браше. Вычисляли количество клеток инфильтрата на 1 кв. мм стромы, среднее число клеток в одном поле зрения, процентное соотношение лимфоцитов, плазмочитов, эозинофильных и нейтрофильных полиморфноядерных лейкоцитов, макрофагов, тканевых базофилов.

Анализ изображения осуществляли на универсальном микроскопе Hund H 500 с телевизионной системой, соединенной с персональным компьютером 486 DX4 120. Морфометрическое изучение осуществлено при помощи компьютерной программы "Cruiz", разработанной в Донецком институте искусственного интеллекта.

2.8. Иммуногистохимические исследования

2.8.1. Иммуногистохимические исследования рецепторов стероидных гормонов

Иммуногистохимическое исследование исходно проведено всем женщинам на операционном материале. У обследованных первой группы после неoadьювантного лечения было проведено повторное изучение послеоперационного материала в соответствии с целью исследования.

Метод иммуногистохимического определения гормонального статуса опухолей молочной железы основан на использовании меченого стрептавидин-биотина, конъюгированного с моноклональными антителами к рецепторам и ферментам пероксидазы хрена. Реакция производилась укомплектованным набором реактивов фирмы «Дакко» (Дания) и «Новокастра» (Великобритания) и одновременно позволяла определять в каждой опухоли наличие рецепторов к эстрогену и прогестерону.

Методически предпочтение отдавали исследованию гормонального статуса на криостатных срезах замороженной ткани опухоли молочной железы. Это

сводит к минимуму риск получения ложноотрицательных результатов вследствие блокирования антигенной структуры ткани после использования белково-разрушающей формалиновой фиксации, а также из-за потери рецепторов, особенно эстрогеновых, за счет их высокой термолабильности. Гормональный статус определяли на материале, полученном при выполнении толсто-игольной трепан-биопсии опухоли и на операционном материале.

Наличие рецепторов стероидных гормонов определяли в образцах ткани опухоли, взятых из операционного материала (рис. 2.11).

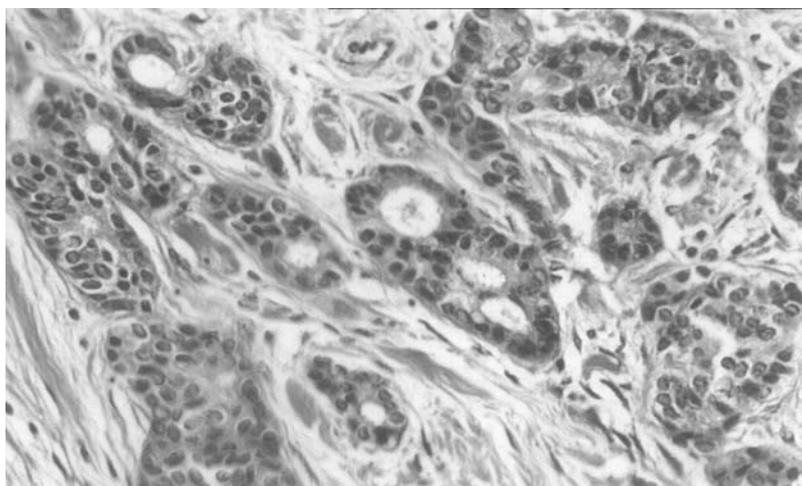


Рисунок 2.11. Дольковый инвазивный рак молочной железы. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение x300

Исследование проводили на депарафинизированных и регидратированных срезах. При этом срезы подвергали, так называемой, тепловой индукции эпитопного возврата (HIER), осуществляемой погружением срезов ткани на стеклах в восстанавливающий буфер и прогреванием их на водяной бане при $t = 90-95^{\circ}\text{C}$ в течение 20-30 минут, что обеспечивает восстановление структуры антигенов перед иммуноокрашиванием.

Дальнейший протокол исследования был одинаков как для криостатных, так и депарафинизированных срезов и включал ингибирование эндогенной пероксидазы с последующим выполнением трехэтапной иммуноферментной реакции. На первом этапе наносили немеченые первичные мышинные

моноклональные антитела к рецепторам эстрогенов и прогестерона (клоны 1Д5 и 1А6, соответственно). На втором – связующие вторичные биотилированные мышинные антитела, затем – стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой хрена. Количество связавшейся с гистологическим препаратом пероксидазы определяли с помощью гистохимической реакции, в качестве субстрата использовали диаминобензидин. Для визуализации гистологической структуры срезов ткани опухоли обработанные иммуногистохимические препараты докрашивали раствором гематоксилина по общепринятой методике.

Поскольку рецепторы эстрогенов (ER) и прогестерона (PR) исключительно ядерные антигены, при оценке иммуноферментного окрашивания учитывали только цветные реакции (от желтой до темнокоричневой окраски), расположенные в проекции ядер железистых клеток опухоли. Неспецифическое связывание, выявляемое в строме опухоли, изредка в лимфоидных клетках, а также в цитоплазме раковых клеток, не учитывали. Учет позитивных реакций проводили количеством отреагировавших клеток (выражали в процентах к общему количеству злокачественно трансформированных клеток на площади гистологического препарата) и по интенсивности их иммуноокрашивания. Варианты интенсивности окрашивания оценивали следующим образом:

- “–“ - отсутствие окрашивания;
- “+“ - слабopоложительное окрашивание;
- “++“ - умеренно-положительное окрашивание;
- “+++“ - сильно-положительное окрашивание.

Исследуемую опухоль считали негативной как по эстрогеновым, так и по прогестероновым рецепторам при выявлении специфического окрашивания менее чем в 10% положительных клеток. Все остальные варианты рассматривались в качестве рецепторпозитивных. Степень выраженности рецепторов классифицировали на три группы:

- слабopозитивная реакция – при наличии специфического связывания в 11-30% опухолевых клеток;

- умереннопозитивная – при наличии специфического связывания от 31 до 70% опухолевых клеток;

- сильнопозитивная – при наличии специфического связывания от 71 до 100% опухолевых клеток.

Число иммуноокрашенных клеток при микроскопии считали в 8 полях зрения либо на 800 опухолевых клетках без учета разрушенных и некротизированных.

Изучение рецепторного статуса опухоли имеет первостепенное значение в индивидуализации программы адекватной гормонотерапии и формировании прогностических факторов течения опухолевого процесса.

2.8.2. Иммуногистохимическое исследование онкопротеина HER-2/neu

В данной работе методом определения экспрессии HER-2/neu в исследуемой группе являлся иммуногистохимический. Иммуногистохимическое исследование проводилось на биопсийном материале, полученном при трепан-биопсии до начала специального лечения, фиксированном 10%-м нейтральным формалином, забуференным фосфатным буфером, в течение 24 часов. После гистологической проводки материал заливался в парафин, и готовились срезы, толщиной 4 мкм. Срезы монтировались на специальные высокоадгезивные стекла и высушивались в течение 18 часов при температуре 37°C.

Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) проводилось в ручном режиме набором реактивов, готовых к употреблению – ДАКО Hercept Test.

Восстановление антигенной активности проводилось с помощью набора «Hercept Test» в водяной бане, в растворе Epitope Retrieval Solution (ДАКО), pH 6,0 при температуре 95–99°C. Депарафинированные и регидратированные срезы погружали в чашку Коплина с подогретым буфером, помещали в водяную баню при температуре 95–99°C и инкубировали в течение 40 мин. Затем остужали стекла в буфере до комнатной температуры в течение 20 мин. и промывали промывочным буфером 2 мин.

После демаскировки антигена приступают непосредственно к постановке ИГХ реакции.

Исследование всегда проводилось с обязательным использованием контрольных стекол с уже известным результатом для контроля правильности реакции и качества реагентов.

При оценке результатов реакции учитывалась экспрессия только в инвазивном компоненте опухоли. Оценка результатов реакции проводилась с помощью балльной шкалы оценки – 0, 1+, 2+, 3+, разработанной производителем теста и одобренной FDA.

0 – при полном отсутствии продукта реакции или выявлении его на мембранах менее чем 10% клеток опухоли;

1+ – при незначительном количестве продукта реакции на части мембраны более чем 10% клеток опухоли;

2+ – при умеренном количестве продукта реакции на мембранах более чем 10% клеток опухоли;

3+ – при наличии ярко выраженного продукта реакции на протяжении всей мембраны клетки при окрашивании более чем 10% клеток опухоли.

Оценка проводилась с использованием светового микроскопа при увеличении объектива 10х.

Учитывалось только мембранное окрашивание, и никогда не принималось во внимание наличие окрашенной цитоплазмы.

Герцепт–статус, оцененный как 0 и 1+, оценивался как негативный, т.е. гиперэкспрессия белка и амплификация гена Her-2 отсутствуют. Герцепт–статус, оцененный как 2+ и 3+, оценивался как позитивный, т.е. гиперэкспрессия белка и амплификация гена имеются.

2.8.3. Иммуногистохимическое исследование белка Ki-67

Для определения уровня белка Ki-67 в работе использована та же методика определения и оценки, что и описанная ранее методика определения стероидных

рецепторов. Основным отличием методик определения является только лишь то, что на первом этапе методики вместо немеченых первичных мышинных моноклональных антител к рецепторам эстрогенов и прогестерона (клоны 1Д5 и 1А6, соответственно), наносили немеченые первичные мышинные моноклональные антитела к белку Ki-67 (клон MIB-1).

2.9. Оценка непосредственной эффективности проводимого комплексного лечения

Для оценки непосредственного лечебного действия при проведении терапии использовали изменение ИГХ-опухоли в исследуемой группе, а также предложенный ВОЗ критерий объективного эффекта – уменьшение размеров первичной опухоли и/или метастазов, регистрируемых маммографически и другими инструментальными методами, как два наибольших перпендикулярных диаметра. При невозможности двух измерений определяли один размер.

Результаты измерений классифицировали по 4 градациям, соответствующим различной эффективности лечения:

- полная регрессия – обусловленное комплексной терапией исчезновение первичного очага опухоли;
- частичная регрессия – большее или равное 50% уменьшение всех отдельных опухолевых очагов при отсутствии прогрессирования других очагов;
- стабилизация – уменьшение опухолевых очагов менее чем на 50% при отсутствии новых поражений или увеличение их не более чем на 25%;
- прогрессирование – большее или равное 25% увеличение размеров одного или нескольких опухолевых очагов, или появление новых поражений.

При оценке лечебного эффекта учитывали динамику объективного состояния пациенток и результатов клинико-лабораторных обследований.

2.10. Оценка отдаленной эффективности проводимого комплексного лечения

Характеристика клинического течения заболевания и отдаленные результаты лечения оценивали по следующим параметрам:

- частота лимфогенного и гематогенного метастазирования, местного рецидивирования;
- скорректированная трех- и пятилетняя выживаемость.

Перечисленные показатели рассчитывали в целом по всему изученному контингенту больных. Исчисление отдаленных результатов производили с момента начала комплексного лечения.

2.11. Статистические методы обработки полученных результатов

Статистический анализ был проведен в программе RStudio версия 1.2.1335 © 2009-2019 RStudio, Inc., GPL. Количественные переменные представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения, т.к. все данные были распределены нормально (тест Шапиро-Уилка). Номинальные и порядковые переменные представлены в виде процентов. При проведении унивариантного анализа для сравнения двух независимых групп с количественными переменными был использован t-критерий Стьюдента. Для сравнения номинальных шкал применялся критерий Пирсона, если не более 20% ожидаемых частот было меньше 5, в противном случае применялся точный критерий Фишера [36, 113].

При анализе выживаемости в первой группе было 12 (6,6%) центрированных больных, во второй – 33 (20,2%). Анализ выживаемости был выполнен при помощи построения кривых выживания по методу Капана-Мейера. На первом этапе была создана функция выживания (наличие или отсутствие исхода в зависимости от времени), построены кривые для общей и безрецидивной выживаемости. Далее проводился унивариантный анализ сравнения кривых

выживания в зависимости от различных факторов, которые сравнивались с помощью log-rank теста. Затем, проводился мультивариантный анализ (построение моделей прогнозирования) с помощью регрессии Кокса (метод – Efron) [154]. На первом этапе в модель включались факторы, которые могли повлиять на функцию выживания, далее с помощью методики «backward» производилось определение факторов, которые в наибольшей мере влияли на функцию выживания. После этого производилась оценка теста отношения правдоподобия и интерпретация коэффициентов.

РАЗДЕЛ 3
ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ КАРТИНА МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННОГО
РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
(ЦИТОЛОГИЯ, ГИСТОЛОГИЯ, ИММУНОГИСТОХИМИЯ)

В настоящем разделе отражены исходные данные о 345 пациентках (182 больные исследуемой группы и 163 больные группы сравнения) с местно-распространенным раком молочной железы. Представлены параметры распространенности опухолевого процесса, морфологические и иммуногистохимические характеристики опухоли, особенности течения заболевания.

3.1. Общая характеристика больных

Как свидетельствуют результаты проведенного обследования, в обеих группах РМЖ одинаково часто встречался в правой и левой молочной железах (табл. 3.1).

Таблица 3.1

Сторона поражения раком молочной железы у пациенток исследуемой группы и группы сравнения (n=345)

Сторона поражения	Исследуемая группа (n=182)		Группа сравнения (n=163)	
	Абс.	%	Абс.	%
Правая	88	48,4	76	46,6
Левая	94	51,6	87	53,4

При первичном стадировании процесса установлена преимущественная локализация опухолевого очага в верхне-наружном квадранте (табл. 3.2).

Таблица 3.2

Локализация рака молочной железы у пациенток исследуемой группы и группы сравнения (n=345)

Локализация рака молочной железы	Исследуемая группа (n=182)		Группа сравнения (n=163)	
	Абс.	%	Абс.	%
Центральный сектор	38	20,9	29	17,8
Нижне-наружный квадрант	20	11,0	20	12,3
Нижне-внутренний квадрант	15	8,2	12	7,4
Верхне-наружный квадрант	88	48,4	77	47,2
Верхне-внутренний квадрант	21	11,5	25	15,3

Как следует из таблицы 3.2, статистически значимых различий в локализации РМЖ в исследуемой группе и группе сравнения не было (p-value = 0,812).

По данным объективного обследования и рентгеновской маммографии размеры РМЖ колебались от 2 до 15 см (табл. 3.3), не имея статистически значимых различий между группами (p-value = 1,0).

Таблица 3.3

Размер рака молочной железы у пациенток исследуемой группы и группы сравнения (n=345)

Локализация рака молочной железы	Исследуемая группа (n=182)		Группа сравнения (n=163)	
	Абс.	%	Абс.	%
2-5 см	131	72,0	118	72,4
5-10 см	49	26,9	43	26,4
Более 10 см	2	1,1	2	1,2

Наиболее часто, в 267 (77,4%) случаях, нами отмечены вторично-инфильтративная, отечно-инфильтративная, воспалительная и диффузная формы рака (T4b-d). Опухоли с распространением на переднюю грудную стенку (T4a) зарегистрированы у 44 (24,2%) пациенток исследуемой группы и 34 (20,9%) пациенток группы сравнения.

Распределение анализируемого контингента больных на группы по степени распространенности опухолевого процесса в соответствии с международной классификацией TNM представлено в табл. 3.4. У большинства пациенток обеих групп отмечен критерий T4b.

Таблица 3.4

Распределение пациенток исследуемой группы и группы сравнения в зависимости от критерия T (n=345)

Критерий T	Исследуемая группа (n=182)		Группа сравнения (n=163)	
	Абс.	%	Абс.	%
4a	44	24,2	34	20,9
4b	126	69,2	114	69,9
4c	5	2,8	4	2,5
4d	7	3,8	11	6,8

Не менее важным прогностическим фактором является состояние регионарных лимфатических узлов. У 288 (83,5%) больных обеих групп при осмотре и пальпации регистрировали увеличение подмышечных лимфатических узлов, размеры которых колебались от 0,5 см до 8,0 см в диаметре (табл. 3.4), не имея статистически значимых различий между группами (p-value = 0,1059). Единичные подмышечные лимфатические узлы при первичном осмотре определялись у 236 (68,4%) женщин. Конгломерат спаянных между собой подмышечных лимфатических узлов – у 47 (13,6%) пациенток. В настоящее

исследования не включались пациентки с поражением шейных и надключичных лимфатических узлов.

Таблица 3.5

Распределение пациенток исследуемой группы и группы сравнения в зависимости от критерия N (n=345)

Критерий N	Исследуемая группа (n=182)		Группа сравнения (n=163)	
	Абс.	%	Абс.	%
0	31	17,0	26	16,0
1	128	70,3	108	66,3
2	23	12,7	24	14,7
3	0	0	5	3,0

В исследование была включена 131 (38,0%) женщина с рецидивами РМЖ: 16 (4,6%) больных с местными рецидивами РМЖ, 115 (33,3%) женщин – с отдаленными рецидивами РМЖ (табл. 3.5). Статистически значимых различий между группами не было (p-value = 0,909).

Таблица 3.6

Распределение пациенток исследуемой группы и группы сравнения в зависимости от рецидивов РМЖ (n=345)

Рецидивы РМЖ	Исследуемая группа (n=182)		Группа сравнения (n=163)	
	Абс.	%	Абс.	%
Местный	5	2,8	11	6,8
Отдаленный	42	23,1	73	44,8
Отсутствовал	135	74,2	79	48,4

3.2. Цитологическая картина местно-распространенного рака молочной железы

У всех больных получена предоперационная цитологическая верификация опухолевого процесса посредством тонкоигольной пункционной биопсии [132].

При изучении цитологической дифференцировки опухоли молочной железы двух сравниваемых групп больных (табл. 3.6) статистически значимых различий получено не было (p -value = 0,9092).

Таблица 3.7

Распределение пациенток исследуемой группы и группы сравнения в зависимости от цитологической дифференцировки опухоли (n=345)

Цитологическая дифференцировка опухоли	Исследуемая группа (n=182)		Группа сравнения (n=163)	
	Абс.	%	Абс.	%
Высокая	20	11,0	18	11,0
Умеренная	69	37,9	59	36,2
Низкая	70	38,5	61	37,4
Недифференцированный рак	23	12,6	25	15,3

Как представлено в табл. 3.6, у 38 (11,0%) пациенток имел место высокодифференцированный РМЖ (рис. 3.1).

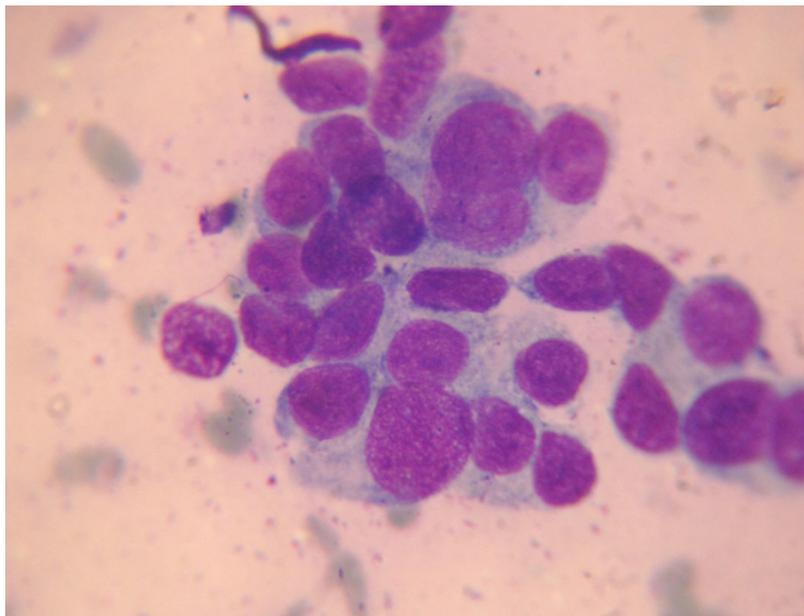


Рисунок 3.1. Пунктат опухоли молочной железы. Цитограмма высокодифференцированного рака. Окрашивание по Романовскому-Гимзе, X900

У женщин обеих групп с одинаковой частотой встречался РМЖ с умеренной (рис. 3.2) и низкой (рис. 3.3) дифференцировкой клеток паренхимы.

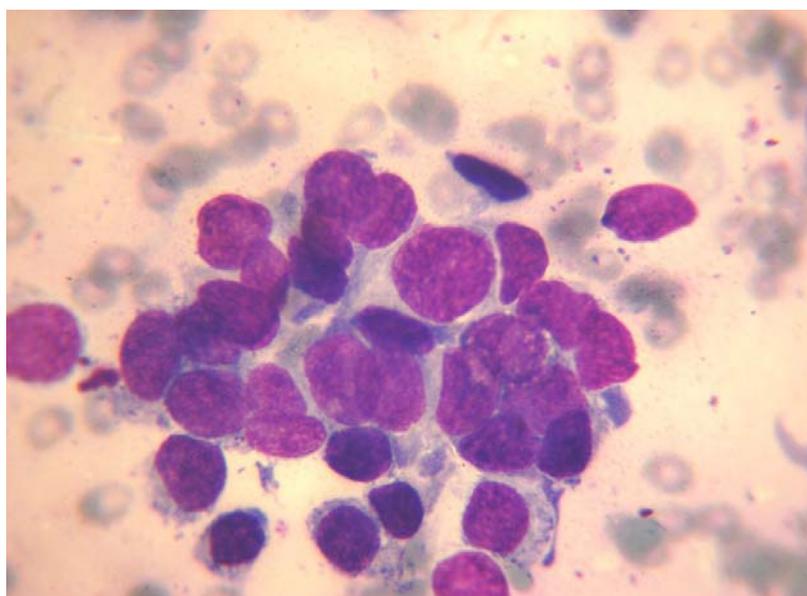


Рисунок 3.2. Пунктат опухоли молочной железы. Цитограмма умереннодифференцированного рака. Окрашивание по Романовскому-Гимзе, X900

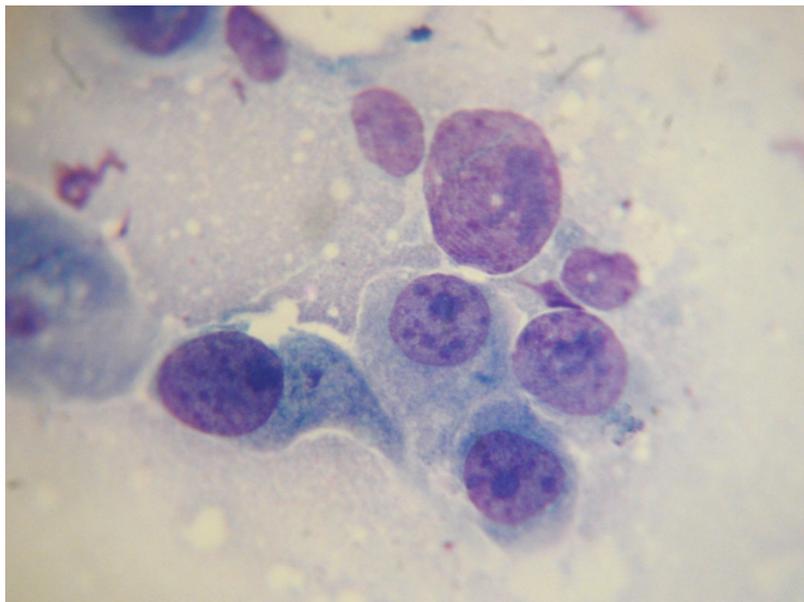


Рисунок 3.3. Пунктат опухоли молочной железы. Цитограмма низкодифференцированного рака. Окрашивание по Романовскому-Гимзе, X900

Недифференцированный рак был диагностирован у 48 (13,9%) женщин (рис. 3.4) и с одинаковой частотой встречался в исследуемой группе и группе сравнения.

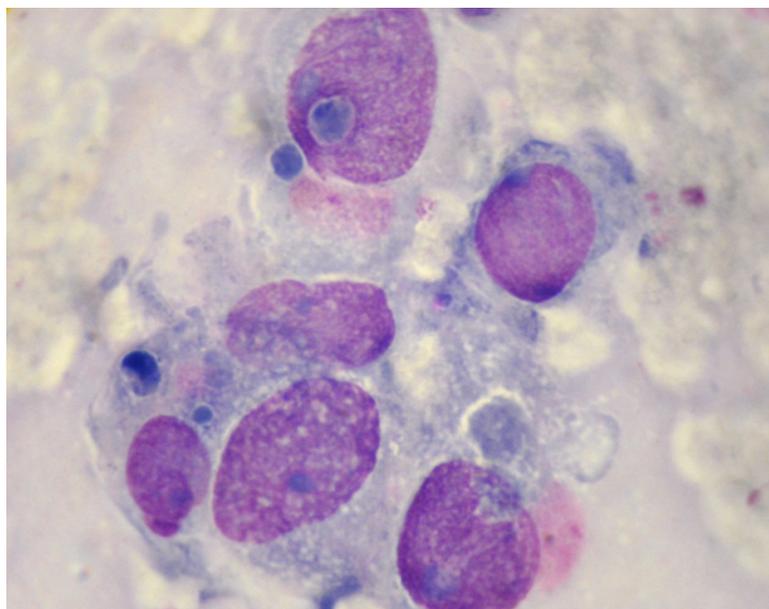


Рисунок 3.4. Пунктат опухоли молочной железы. Цитограмма недифференцированного рака. Окрашивание по Романовскому-Гимзе, X900

3.3. Морфогенез местно-распространенного рака молочной железы

Уровень гистопатологической дифференцировки опухолевой ткани нами оценивался по результатам микроскопического исследования согласно критериям С.W.Elston, I.O.Ellis (1991) и дополненное Р.Hermanek et al., (1999) и регистрировался как GX – в тех случаях, когда уровень дифференцировки опухолевых клеток нельзя оценить, G1 – высокодифференцированный, G2 – умеренно дифференцированный, G3 – низкодифференцированный и G4 – недифференцированный. Определенной закономерности между степенью злокачественности (G1-G4) и гистологической структурой опухоли нами не установлено.

Высокодифференцированные опухоли молочной железы (G1) выявлены у 35 (10,1%) пациенток, умереннодифференцированные (G2) – у 125 (36,2%) женщин, низкодифференцированные (G3) – у 134 (38,8%) больных, недифференцированные (G4) – у 51 (14,8%) пациентки, не имея статистически значимых различий между группами (p -value = 0,9092), что представлено в табл. 3.7.

Таблица 3.8

Распределение пациенток исследуемой группы и группы сравнения в зависимости от гистологической структуры и уровня дифференцировки опухолевых клеток инфильтрирующего (n=345)

Гистологический вариант, степень дифференцировки опухолевых клеток	Исследуемая группа (n=182)		Группа сравнения (n=163)	
	Абс.	%	Абс.	%
G1 – высокодифференцированная	20	11,0	18	11,0
G2 – умереннодифференцированная	69	37,9	59	36,2
G3 – низкодифференцированная	70	38,5	61	37,4
G4 – недифференцированная	23	12,6	25	15,3

Как представлено в таблице 3.7, с наименьшей частотой у пациенток обеих групп встречался высокодифференцированный РМЖ (рис. 3.5).

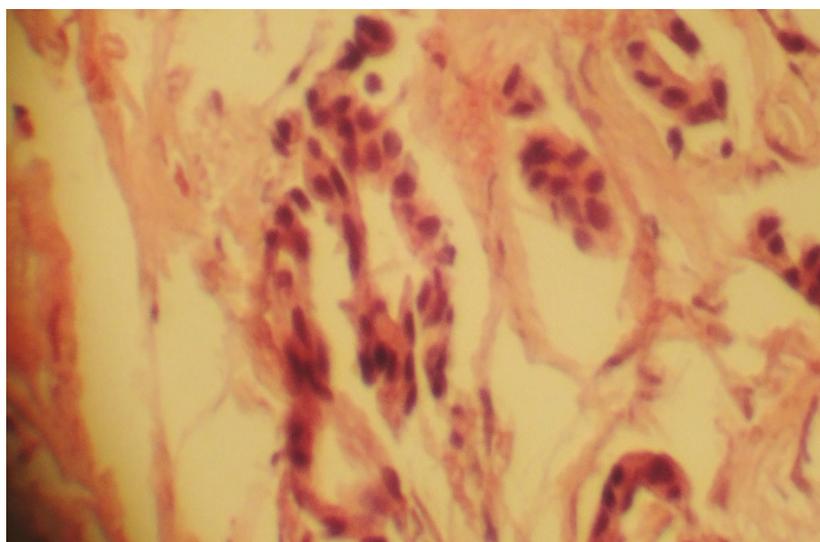


Рисунок 3.5. Трепан-биопсия опухоли молочной железы. Инвазивная протоковая карцинома G1. Окрашивание гематоксилин-эозином, X40

Опухолевые клетки паренхимы умеренно дифференцированной инвазивной протоковой карциномы (G2) имели полигональную форму, светлую эозинофильную, реже базофильную цитоплазму, содержали мелкие вакуоли (рис. 3.6).

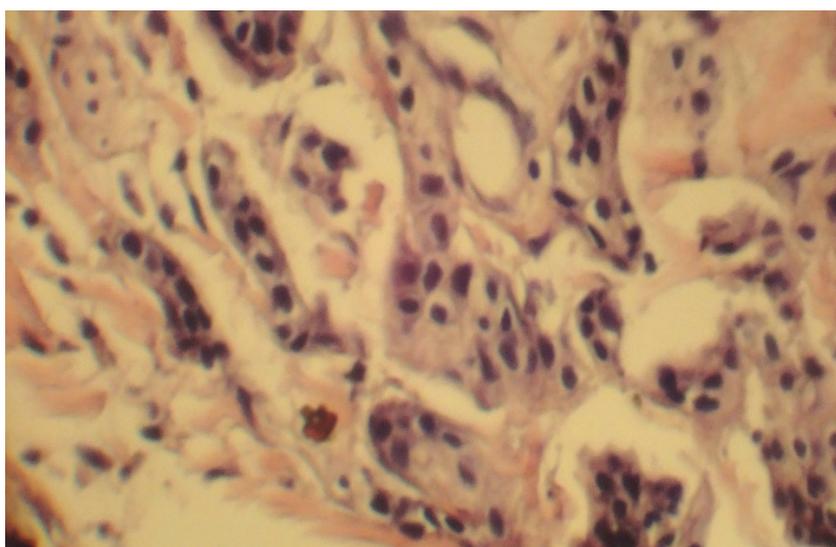


Рисунок 3.6. Трепан-биопсия опухоли молочной железы. Инвазивная протоковая карцинома G2. Окрашивание гематоксилин-эозином, X400

Клетки паренхимы низкодифференцированной инвазивной протоковой карциномы (G3) до лечения широко варьировали по величине и форме. По периферии опухолевых комплексов преобладали полигональные клетки со светлой, слабо эозинофильной цитоплазмой, содержащие овоидные ядра с неравномерным распределением хроматина, преимущественно конденсирующегося в периферических отделах, ближе к ядерной мембране. Соотношение ядра и цитоплазмы в таких клетках при визуальной оценке примерно равно. Для части опухолевых комплексов, располагающихся вблизи базальной мембраны, характерны гиперхромные ядра, занимающие почти весь объем клетки. Эти ядра окружены узким ободком базофильной цитоплазмы. Выявлялось большое число патологических форм митозов (рис. 3.7).

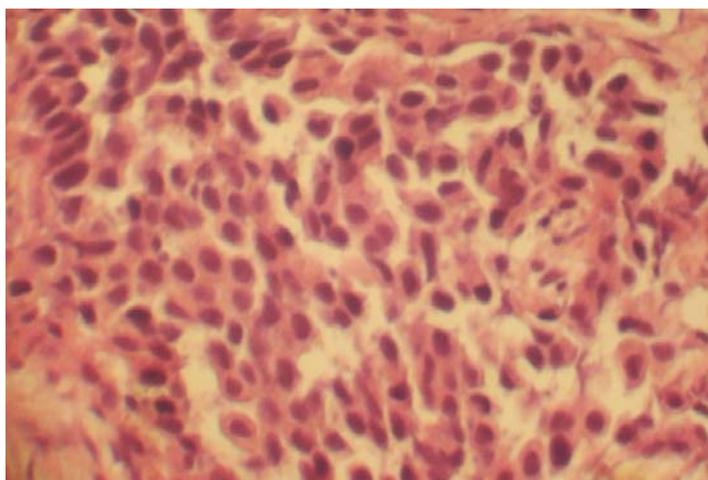


Рисунок 3.7. Трепан-биопсия опухоли молочной железы. Инвазивная протоковая карцинома G3. Окрашивание гематоксилин-эозином, X400

Клетки паренхимы недифференцированной инвазивной протоковой карциномы (G4) до лечения отличались резко выраженной катаплазией, полиморфизмом и дисконкомплексацией опухолевых клеток. Ядра крупные полиморфные, гиперхромные с крупнодисперсным распределением хроматина, содержали несколько хорошо контурируемых ядрышек. Соотношение стромы и паренхимы variabelно, на отдельных участках выраженное преобладание

стромы было обусловлено отеком и разрыхлением волокнистой соединительной ткани (рис. 3.8).

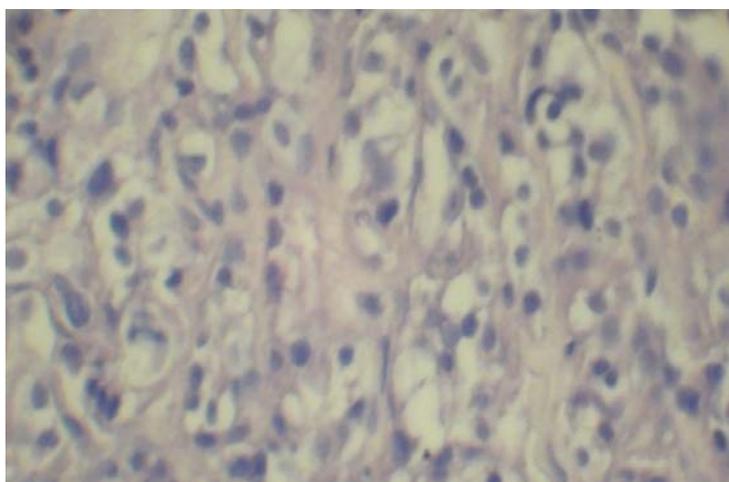


Рисунок 3.8. Трепан-биопсия опухоли молочной железы. Инвазивная протоковая карцинома недифференцированная (G4). Окрашивание гематоксилин-эозином, X400

К особым характеристикам низко- и недифференцированных инфильтративных карцином молочной железы следует отнести большую частоту прорастания стенок кровеносных и лимфатических сосудов (рис. 3.9) и наличие в них опухолевых эмболов как в центральных, так и в периферических отделах опухоли.

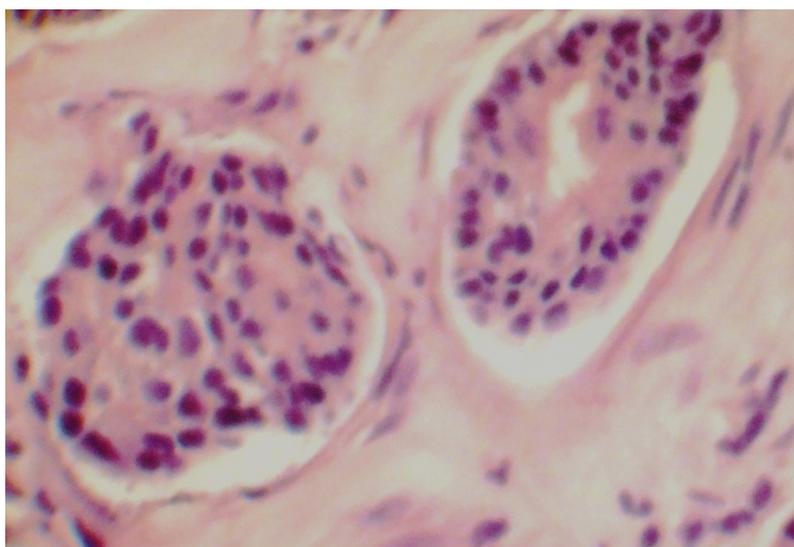


Рисунок 3.9. Трепан-биопсия опухоли молочной железы. Инвазивная дольковая карцинома. Окрашивание гематоксилин-эозином, X400

Обращало внимание, что в умеренно- и в высокодифференцированных карциномах нами также были обнаружены опухолевые эмболы в кровеносных и лимфатических сосудах.

3.4. Гормональный статус местно-распространенного рака молочной железы

Согласно международным и отечественным рекомендациям в настоящее время выделено 5 биологических подтипов РМЖ: люминальный А (высокодифференцированные раки ER+PR+HER2-Ki67<20%), люминальный BHER2-негативный (низкодифференцированные раки ER+PR±HER2-Ki67> 20%), люминальный BHER2-позитивный (ER+PR±HER2+Ki67 любой), тройной негативный рак – трипл-негативный (ER-PR-HER2-Ki67 любой), нелюминальный HER2-позитивный (ER-PR-HER2+Ki67 любой).

Иммуногистохимическое исследование на дооперационном этапе выполнено всем женщинам исследуемой группы и группы сравнения (табл. 3.8).

Таблица 3.9

Распределение пациенток исследуемой группы и группы сравнения в зависимости от биологических подтипов РМЖ (n=345)

Биологический подтип РМЖ	Исследуемая группа (n=182)		Группа сравнения (n=163)	
	Абс.	%	Абс.	%
Люминальный А	30	16,5	19	11,7
Люминальный В+	40	22,0	39	23,9
Люминальный В-	35	19,2	31	19,0
Нелюминальный	38	20,9	39	23,9
Трипл-негативный	39	21,4	35	21,5

Как представлено в таблице 3.8, статистически значимых различий между группами не было (p -value = 0,9092). С наименьшей частотой в группах регистрировался подтип люминальный А (рис. 3.10). Это эстроген-зависимая опухоль, наименее агрессивна, характеризуются лучшим прогнозом по сравнению с рецептор-негативным раком.

РМЖ люминального В+ подтипа (рис. 3.11, рис. 3.12, рис. 3.13) с одинаковой частотой регистрировали в исследуемой группе и группе сравнения. HER2-позитивный РМЖ относится к эстроген-независимым агрессивным опухолям с высоким пролиферативным индексом. Характерны низкая дифференцировка, большой размер опухоли, вовлечение лимфатических узлов, высокая вероятность негативного исхода заболевания.

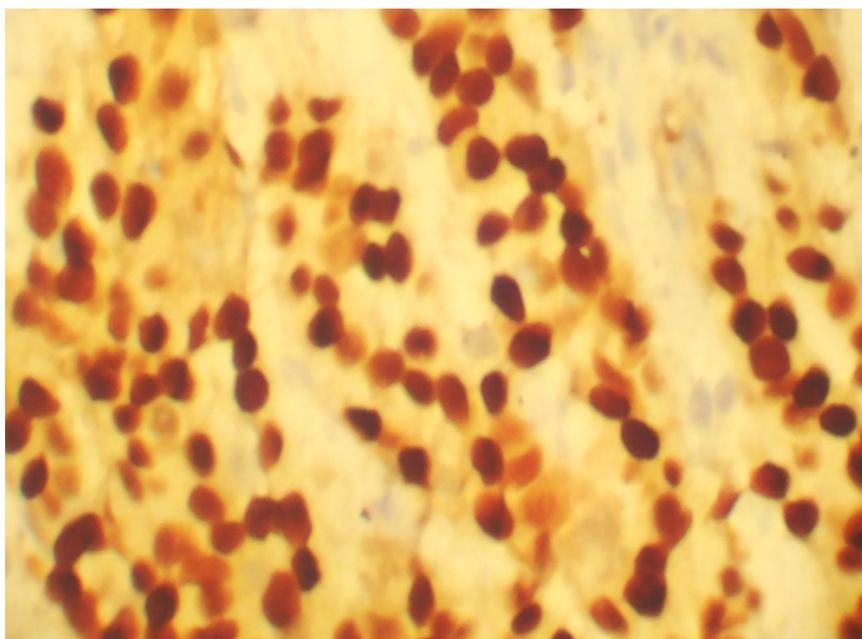


Рисунок 3.10. Трепан-биопсия опухоли молочной железы. Инвазивная протоковая карцинома. Ярко выраженное позитивное иммуногистохимическое окрашивание с моноклональными антителами к рецепторам эстрогенов (клон ER1)

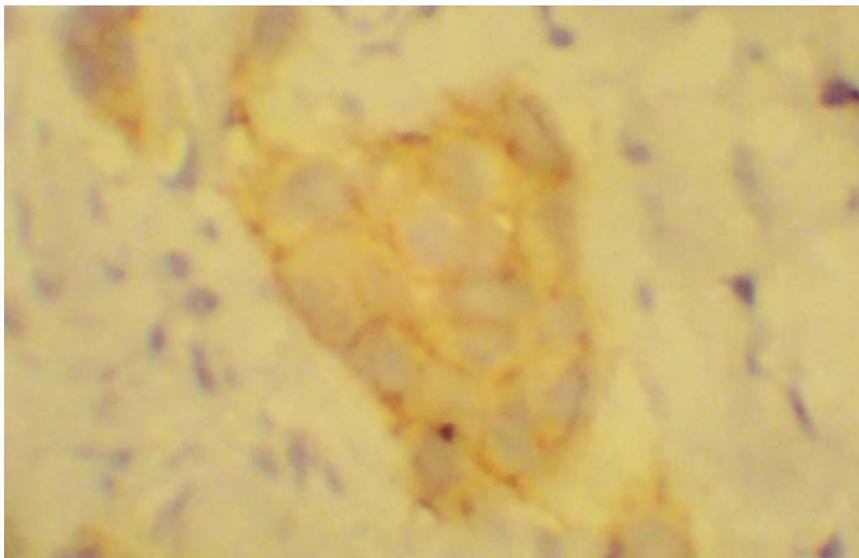


Рисунок 3.11. Трепан-биопсия опухоли молочной железы. Инвазивная протоковая карцинома. Иммуногистохимическое окрашивание1+ с поликлональными антителами к онкобелку HER-2/неу, X400

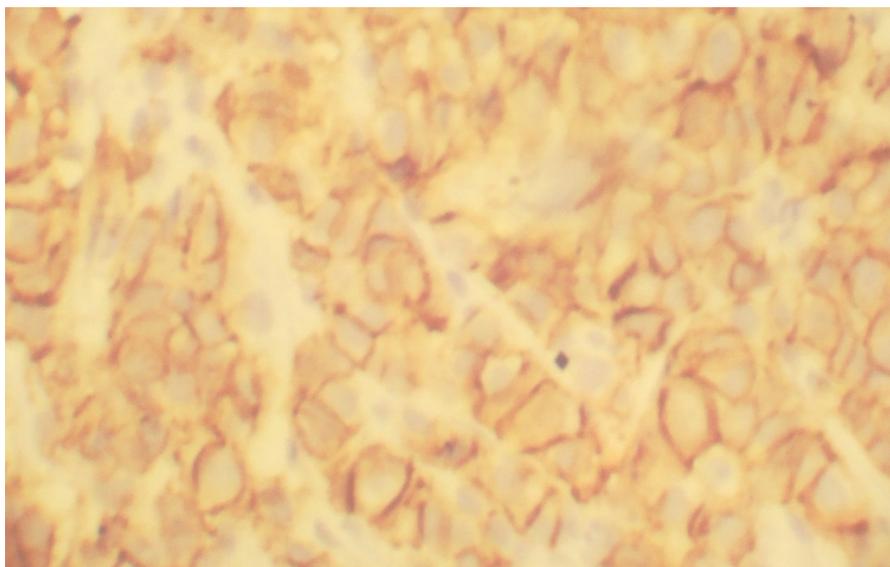


Рисунок 3.12. Трепан-биопсия опухоли молочной железы. Инвазивная протоковая карцинома. Иммуногистохимическое окрашивание2+ с поликлональными антителами к онкобелку HER-2/неу, X400

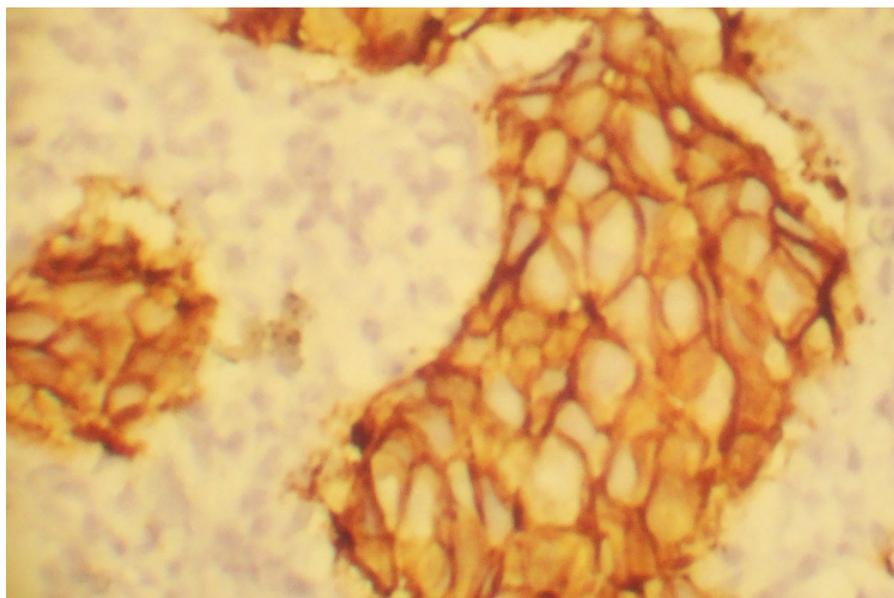


Рисунок 3.13. Трепан-биопсия опухоли молочной железы. Инвазивная протоковая карцинома. Иммуногистохимическое окрашивание 3+ с поликлональными антителами к онкобелку HER-2/neu, X400

Люминальный В- подтип (рис. 3.14) с одинаковой частотой регистрировали у пациенток исследуемой группы и группы сравнения. РМЖ люминального В-подтипа относят к эстроген-зависимым агрессивным опухолям. Характерны ранний возраст на момент постановки диагноза, низкая степень дифференцировки, высокий пролиферативный индекс, большой размер опухоли, вовлечение лимфатических узлов. Опухоли этого типа характеризуются значительно худшим прогнозом и большей вероятностью рецидивов по сравнению с другими рецептор-позитивными опухолями.

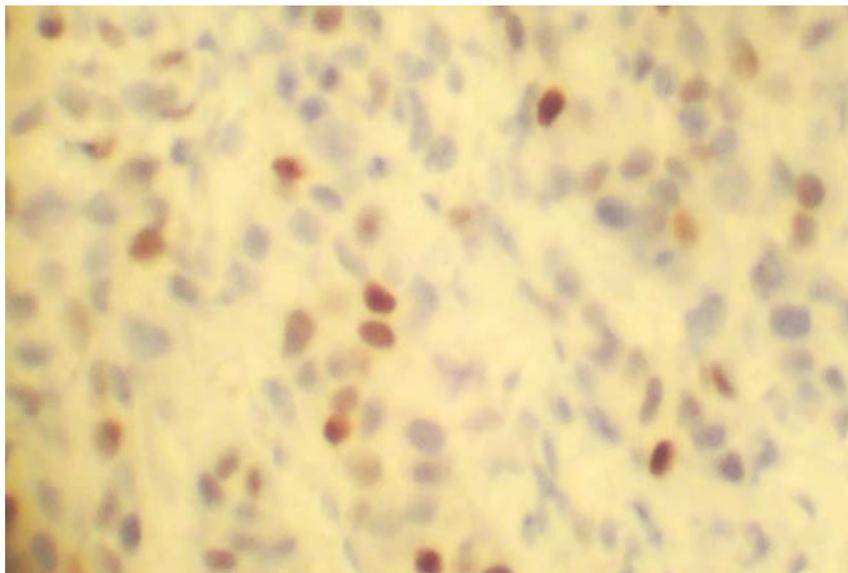


Рисунок 3.14. Трепан-биопсия опухоли молочной железы. Инвазивная протоковая карцинома. Позитивное иммуногистохимическое окрашивание с моноклональными антителами к Ki67 (клон MIB-1), X400

Трипл-негативный РМЖ (рис. 3.15), являющийся эстроген-независимой агрессивной опухолью, с одинаковой частотой регистрировали у пациенток исследуемой группы и группы сравнения. Для больных с данным подтипом РМЖ были характерны ранний возраст установления диагноза, протоковый или метапластический гистологический тип, низкая степень дифференцировки, высокий пролиферативный индекс, большой размер опухоли, вовлечение лимфатических узлов. Трипл-негативный РМЖ отличается высокой агрессивностью, большой вероятностью развития местно-распространённых и метастатических форм. Прогноз неблагоприятный независимо от поражения лимфатических узлов, выживаемость в этой группе ниже, чем при РМЖ других молекулярных подтипов, включая Her2-позитивный рак [213].

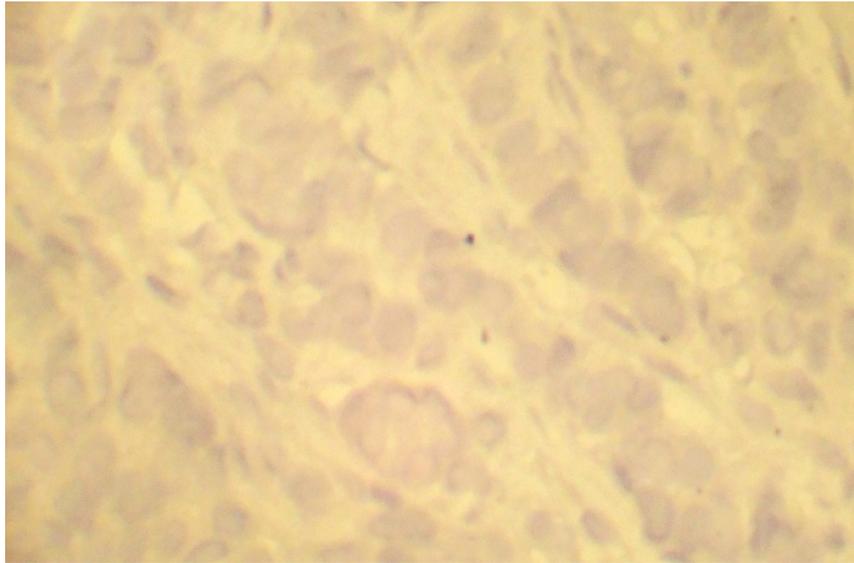


Рисунок 3.15. Трепан-биопсия опухоли молочной железы. Инвазивная протоковая карцинома. Отсутствие иммуногистохимического окрашивания с поликлональными антителами к онкобелку HER-2/neu, X400

Нелюминальный подтип (рис. 3.16) с одинаковой частотой регистрировали в исследуемой группе и группе сравнения.

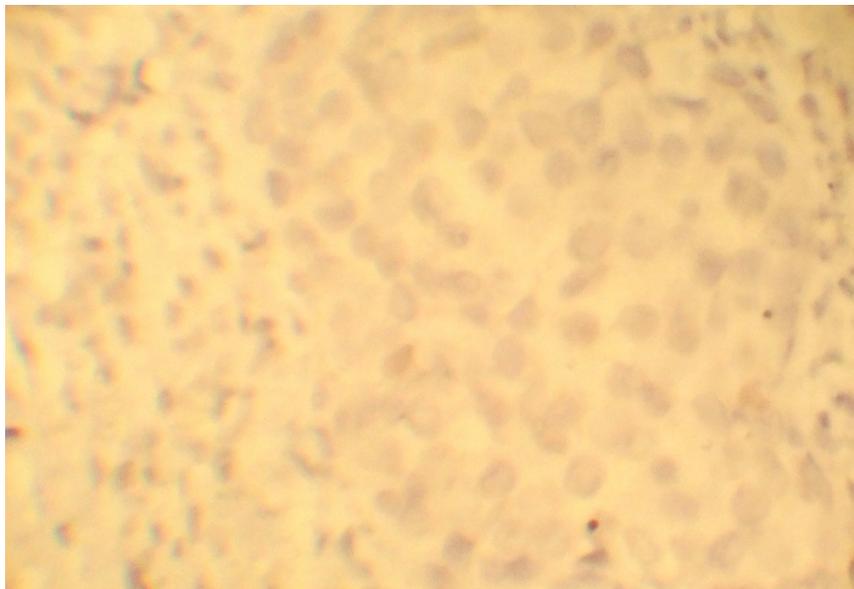


Рисунок 3.16. Трепан-биопсия опухоли молочной железы. Инвазивная протоковая карцинома. Отсутствие иммуногистохимического окрашивания с моноклональными антителами к рецепторам прогестерона (клон PgR 636), X400

На практике стандартом является однократное проведение иммуногистохимического исследования опухоли до начала лечения, определение молекулярно-биологического подтипа и выбор соответствующей тактики лечения. Однако нередко фенотип опухоли на разных стадиях ее генеза отличается, в связи с чем представляет научный интерес и имеет практическую значимость повторное изучение послеоперационного материала, полученного после проведения неoadъювантного лечения.

РАЗДЕЛ 4

ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ЛЕЧЕНИЯ

В данной главе представлены результаты проспективного клинического исследования 345 пациентов женского пола стадии T4N0-2M0 в возрасте от 28 до 84 лет (средний возраст 57 ± 10 лет), проходивших лечение в РОЦ. Пациенты были поделены на две группы: исследуемую группу (182 пациента) и группу сравнения (163 пациента) и были классифицированы на 5 подтипов: «Люминальный А», «Люминальный В+», «Люминальный В-», «Нелюминальный Her2/neu+» и «тройной негативный» рак молочной железы, определяемые по статусу иммуногистохимии. Всем исследуемым было выполнено определение ИГХ статуса опухоли, проведена неоадьювантная химиотерапия и радикальная мастэктомия (РМЭ) по Маддену.

Все пациенты получали неоадьювантную химиотерапию, а именно внутривенную ПХТ по схеме CMF, AC, FAC, AP. Количество курсов определялись исходя из оценки эффективности лечения, общего состояния пациента, наличия степени выраженности местных и системных осложнений в зависимости от ИГХ фенотипа опухоли в расчетных дозах, 2-4 цикла. В контрольную группу вошли 163 пациента стадии T4N0-2M0, которым на первом этапе выполнялось определение ИГХ статуса опухоли, после чего проводилась неоадьювантная химиотерапия, затем выполнялась РМЭ по Маддену и адьювантная терапия назначалась с учетом раннее определенного ИГХ статуса РМЖ. Исследуемую группу составили 182 пациентки, которым на первом этапе также выполнялось определение ИГХ статуса опухоли, затем проводилась неоадьювантная химиотерапия и выполнялась РМЭ по Маддену, но адьювантное лечение назначалось с учетом повторно определяемого после лечения ИГХ статуса опухоли. Обе группы сравнимы по всем основным показателям: возраст, стадия заболевания, гистологическая форма опухоли, схемы, методы и количество курсов химиотерапии, курс предоперационной лучевой терапии, объему

выполненных операций. В случаях изменения биологического подтипа опухоли проводилось изменение схем адъювантного лечения.

Результаты распределения пациенток исследуемой группы в зависимости от биологических подтипов РМЖ до и после лечения представлены в табл. 4.1.

Таблица 4.1

Распределение пациенток исследуемой группы в зависимости от биологических подтипов РМЖ до и после лечения (n=182)

Биологический подтип РМЖ	До лечения (n=182)		После лечения (n=182)	
	Абс.	%	Абс.	%
Люминальный А	30	16,5	15	8,3
Люминальный В+	40	22,0	22	12,1
Люминальный В-	35	19,2	33	18,1
Нелюминальный	38	20,9	27	14,8
Трипл-негативный	39	21,4	45	24,7

Как свидетельствуют результаты исследования, представленные в таблице 4.1, в подгруппах «Люминальный А» и «Люминальный В-» подтипов опухоли получены следующие результаты: в 5,9% (10 пациенток) случаев изменился генетический фенотип РМЖ и стал трижды негативным, в 1,7% (3 пациентки) случаев статус опухоли на «Люминальный В+», в одном случае (0,6%) перешел в «Нелюминальный Her2/neu+», в 0,6% (1 пациентка) отмечен полный патоморфологический ответ опухоли на проводимое лечение, в остальных 16,5% случаев (30 пациенток) генетический фенотип РМЖ не изменился.

В подгруппе «Люминальный В+» подтипа опухоли получены следующие результаты: в 3,84% (7 пациенток) случаев – стал «трижды негативным», в 2,74% (5 пациенток) случаев перешел в подтип «Нелюминальный Her2/neu+», в 2,74% (5 пациенток) случаев отмечен полный патоморфологический ответ опухоли на

проводимое лечение, в 12,64% (23 пациентки) случаев биологический подтип не изменился.

В подгруппе «Нелюминальный Her2/neu+» получены следующие результаты: в 0,55% (1 пациентка) случаев изменился генетический фенотип опухоли и перешел в «Люминальный В-» подтип, также в 0,55% (1 пациентка) случаев – стал «трижды негативным», в 2,2% (4 пациентки) – стал «Люминальным В+», в 2,75% (5 пациенток) отмечен полный патоморфологический ответ опухоли на проводимое лечение, в остальных случаях – 14,8% (27 пациенток) – биологический подтип опухоли не изменился.

В подгруппе «трижды негативного» подтипа опухоли получены следующие результаты: в 1,1% (2 пациентки) случаев изменился биологический подтип опухоли, который перешел в «Люминальный В-» подтип, в 3,3% (6 пациенток) случаев отмечен полный патоморфологический ответ опухоли на проводимое лечение, в остальных 17,03% (31 пациентка) случаев – биологический подтип опухоли не изменился.

Анализ выживаемости в зависимости от биологического подтипа РМЖ в исследуемой и контрольной группах представлен на рис. 4.1. Как следует из рис. 4.1, в исследуемой группе выживаемость в подгруппе «Люминальный В-» имела место в 145 случаях (79,8% (95% ДИ 65,8-96,8), $p=0,0037$), тогда как в контрольной группе этот показатель не превышал 52,6% (95% ДИ 36,6-75,7) (86 пациентов). Статистически значимой достоверности различий в выживаемости в зависимости от других биологических подтипов РМЖ в исследуемой и контрольной группах не выявлено.

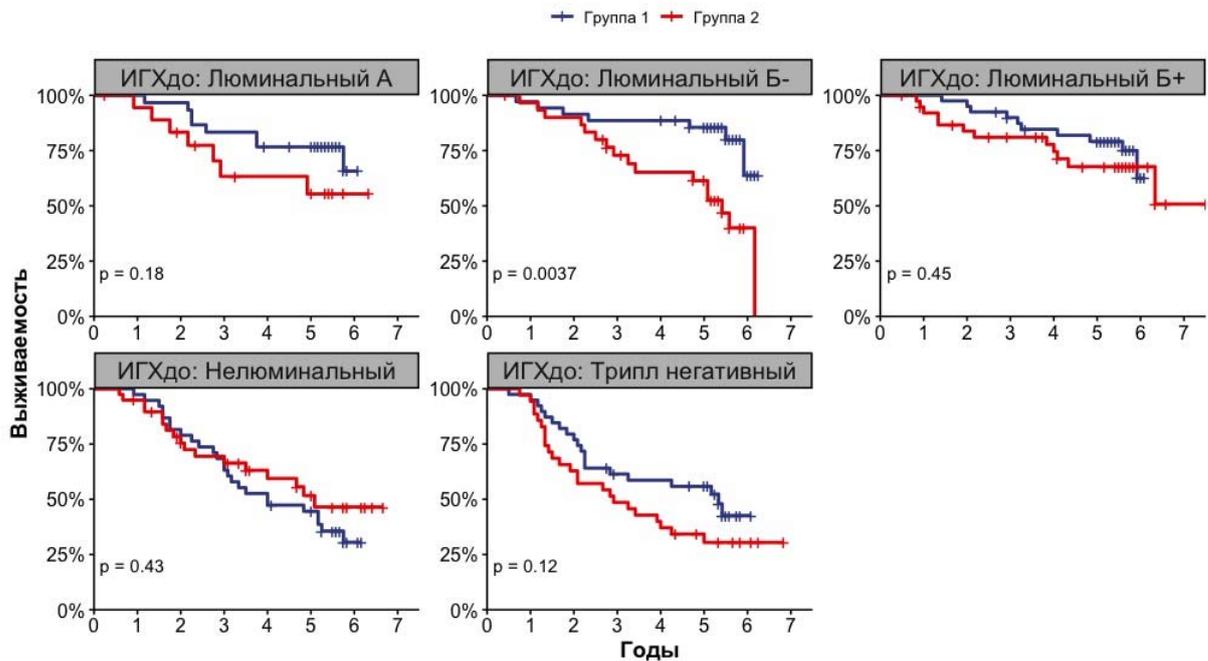


Рисунок 4.1. Анализ выживаемости в зависимости от биологического подтипа РМЖ в исследуемой и контрольной группах. Выживаемость в подгруппе «Люминальный В-» имела место в 79,8% случаев (95% ДИ 65,8-96,8), $p=0,0037$.

Анализ выживаемости в зависимости от патоморфоза РМЖ в исследуемой и контрольной группах представлен на рис. 4.2.

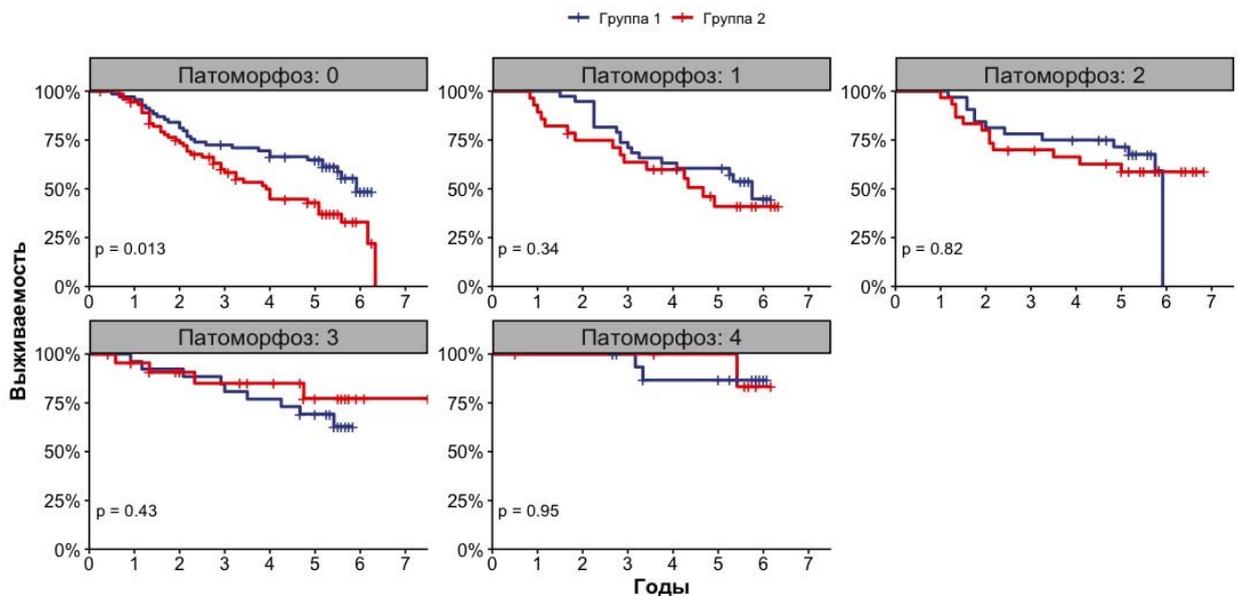


Рисунок 4.2. Анализ выживаемости в зависимости от патоморфоза РМЖ в исследуемой и контрольной группах. Выживаемость при отсутствии патоморфоза имела место в 61,3% случаев (95% ДИ 50,7-74,3), $p=0,013$

Как следует из рис. 4.2, в исследуемой группе выживаемость при отсутствии патоморфоза имела место в 112 случаях (61,3%, 95% ДИ 50,7-74,3, $p=0,0037$), тогда как в контрольной группе этот показатель не превышал 37,1% (95% ДИ 26,7-51,5) (52 пациента). Статистически значимой достоверности различий в выживаемости в зависимости от наличия патоморфоза РМЖ в исследуемой и контрольной группах не выявлено.

В связи с тем, что в исследуемой группе у 81 пациентки наблюдалось изменение молекулярно-биологического подтипа опухоли рака молочной железы, понадобилась коррекция в схемах проведения тактики лечения у 41 пациентки (табл. 4.2). Решение о тактике проведения адъювантной системной терапии базировалось на предсказании чувствительности к конкретному виду лечения, пользы от его применения и индивидуальном риске рецидива. Окончательное решение основывалось на представлении о молекулярно-генетическом фенотипе рака молочной железы. Медиана числа курсов адъювантной химиотерапии составила 4 (4-6). Все случаи люминального РМЖ (определяется как $\geq 1\%$ клеток инвазивного рака с экспрессией рецепторов эстрогенов) подвергались лечению с применением эндокринотерапии. У пременопаузальных пациенток рекомендовали прием тамоксифена в дозе 20 мг\день в течение 5-10 лет как стандарт терапии. Подавление функции яичников проводилось при помощи аналогов агонистов гонадотропин-релизинг-гормона. У пациентов, достигающих менопаузального статуса в течение 5 лет гормонотерапии тамоксифеном, осуществляли переход на терапию ингибиторами ароматазы. Для лечения пациентов высокого риска и особенно тех, которым противопоказан тамоксифен, использовали ингибиторы ароматазы (летрозол). К факторам, свидетельствующим в пользу высокого риска, относили: метастатическое поражение 4-х и более лимфатических узлов, возраст 35 лет и моложе, 3-я степень гистологической злокачественности или неблагоприятные результаты мультипараметрических молекулярных маркеров (высокий индекс Ki-67 и HER2-позитивный статус опухоли).

Рак молочной железы, категоризируемый как HER2-позитивный, подлежит химиотерапевтическому лечению и таргетной терапии трастузумабом в дозе 6 мг/кг (нагрузочная доза 8 мг/кг) в/в в 1-й день 1 раз в 3 недели. Введение анти-HER2 препаратов начиналось одновременно с безантрациклиновым и таксан-содержащим режимом. При использовании рекомендуемых режимов, предусматривающих введение трастузумаба одновременно с таксанами, минимальным объемом адъювантной анти-HER2 терапии является введение трастузумаба в течение 6 месяцев, оптимальным – в течение 12 месяцев.

В случае выявления трижды-негативного РМЖ добавление таксанов повышает эффективность химиотерапии. В рамках данного исследования использовалась инфузия паклитаксела 135 мг/м² длительностью 3 часа каждые 3 недели. В связи с отсутствием убедительных данных об увеличении выживаемости больных тройным негативным РМЖ при добавлении производных платины к таксанам, в нашем исследовании включение этих препаратов (производных платины) в режиме адъювантной химиотерапии не использовалось. В 9,3% (17 пациенток) случаев отмечен полный патоморфологический ответ опухоли на проводимую неoadъювантную терапию.

Таблица 4.2

Распределение пациенток исследуемой группы и группы сравнения в зависимости от изменения схемы лечения (n=345)

Изменение схемы лечения	Исследуемая группа (n=182)		Группа сравнения (n=163)	
	Абс.	%	Абс.	%
Схема лечения изменена	41	22,5	2	1,3
Схема лечения не изменена	141	77,5	161	98,7

В исследуемой группе 5-ти летняя безрецидивная выживаемость составила 63,9% (95% ДИ 57,2-71,4) (116 пациентов), тогда как в контрольной группе этот

показатель не превысил 45,8% (95% ДИ 37,6-55,8) (83 пациента) ($p=00071$) (рис. 4.2, 4.3).

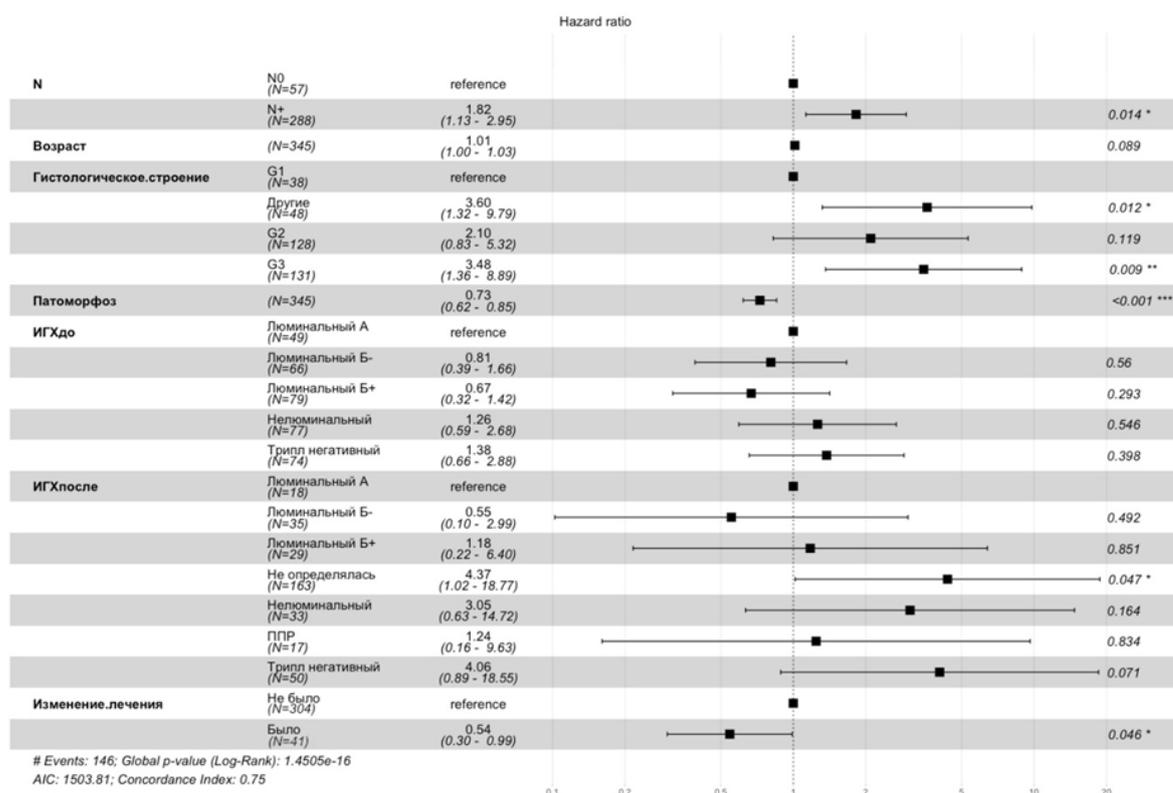


Рисунок 4.3. Анализ 5-ти летней безрецидивной выживаемости пациентов в исследуемой группе (пропорциональная модель Кокса)

Примечание: N – Количество пациенток; ИГХ до – иммуногистохимический фенотип опухоли до начала лечения; ИГХ после – иммуногистохимический фенотип опухоли, определяемый на операционном материале после проведения неoadъювантного лечения и мастэктомии;

*– данные являются статистически значимыми на уровне значимости $p<0,005$.

**– данные являются статистически значимыми на уровне значимости $p<0,005$.

***– данные являются статистически значимыми на уровне значимости $p<0,005$.

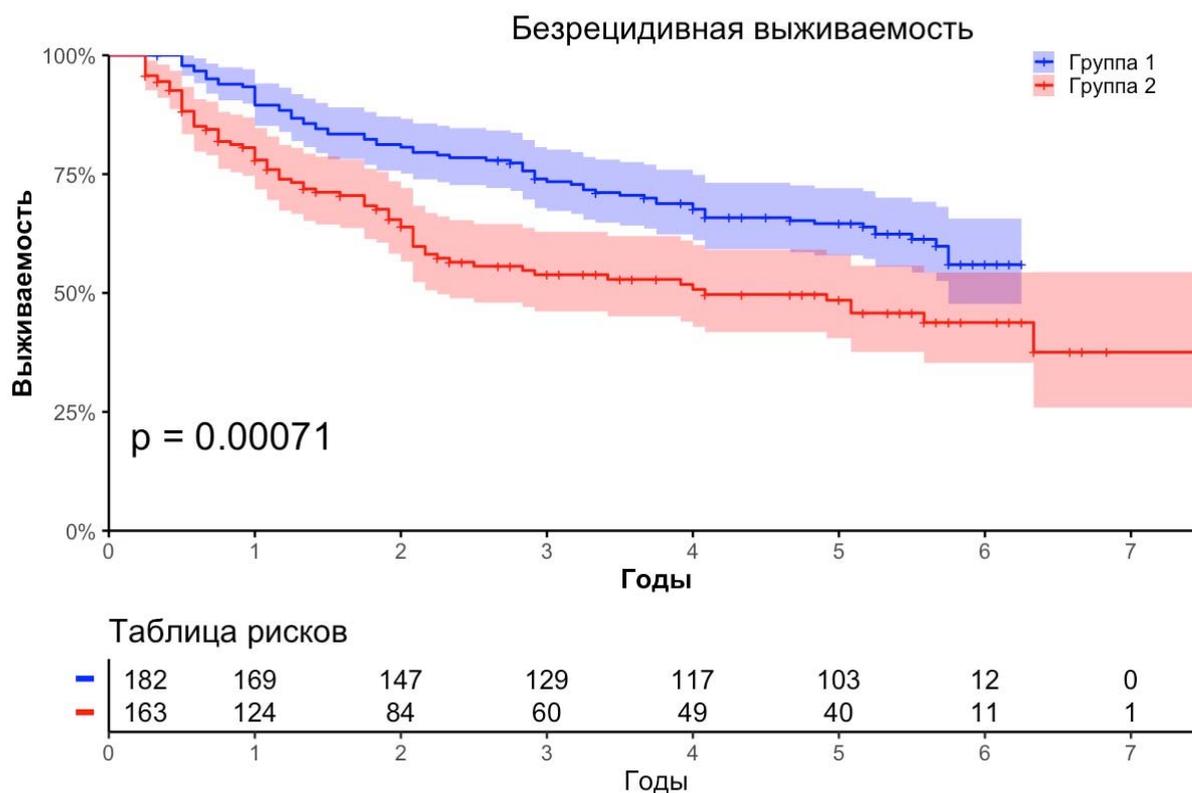


Рисунок 4.4. Анализ 5-ти летней безрецидивной выживаемости пациентов исследуемой и контрольной групп ($p=0,00071$)

При анализе показателей общей выживаемости отмечено статистически значимое улучшение результатов лечения в основной группе по сравнению с контрольной (рис. 4.4). Общая 5-ти летняя выживаемость в исследуемой группе составила 65,6% (95% ДИ 59-73) (119 пациентов) против 53,8% (95% ДИ 57,0-78,8) (62 пациента) в контрольной группе ($p=0,0021$) (рис. 4.5).

Полная патологическая регрессия опухоли была достигнута у 9,34% (17 пациентов). В исследуемой группе рецидивы не наблюдались в 147 случаях (80,8% (95% ДИ 74,3-87,9), $p=0,034$), тогда как в контрольной группе этот показатель не превышал 66,2% (95% ДИ 55,8-78,5, $p=0,034$) (120 пациентов). Статистически значимой достоверности различий в местных и отдаленных рецидивах между исследуемыми группами не выявлено, что свидетельствует об однородном распределении пациентов в группах по данному критерию (рис. 4.6).

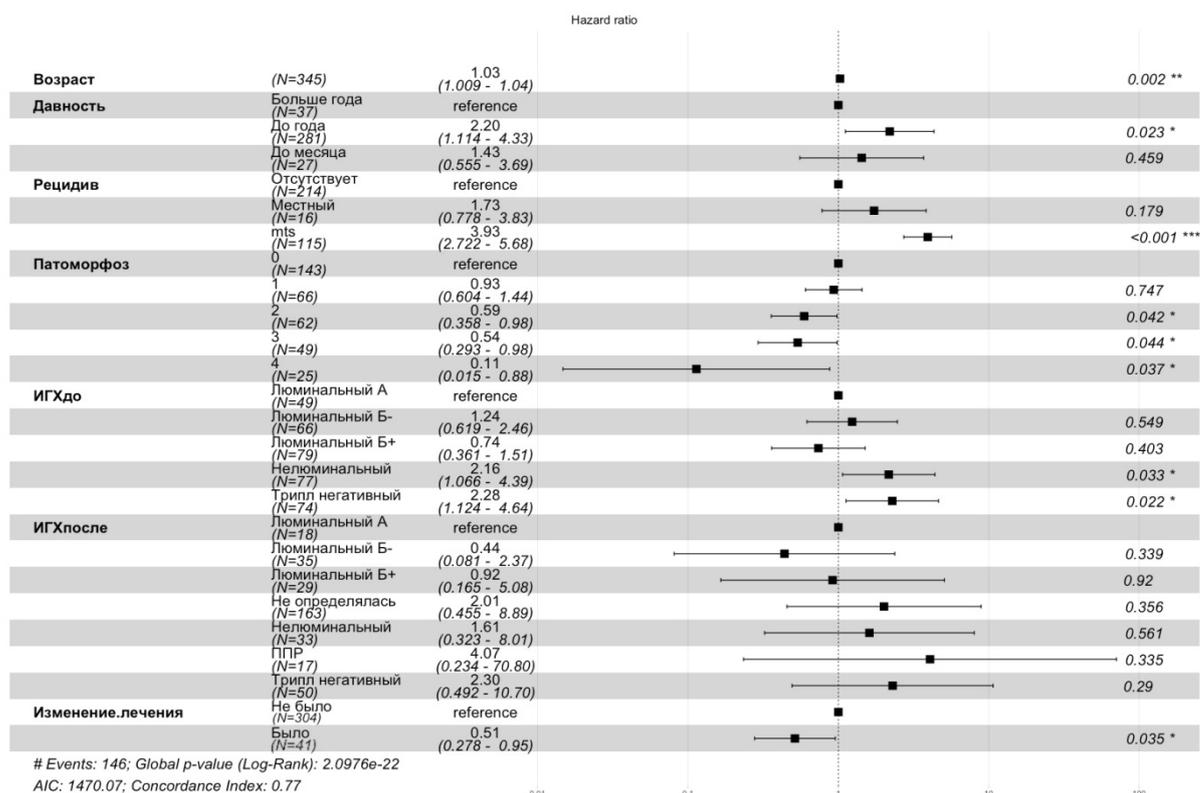


Рисунок 4.5. Анализ 5-ти летней общей выживаемости в исследуемой группе (пропорциональная модель Кокса)

Примечание: N – Количество пациенток; ИГХ до – иммуногистохимический фенотип опухоли до начала лечения; ИГХ после – иммуногистохимический фенотип опухоли, определяемый на операционном материале после проведения неoadъювантного лечения и мастэктомии;

*– данные являются статистически значимыми на уровне значимости $p < 0,005$.

**– данные являются статистически значимыми на уровне значимости $p < 0,005$.

***– данные являются статистически значимыми на уровне значимости $p < 0,005$.

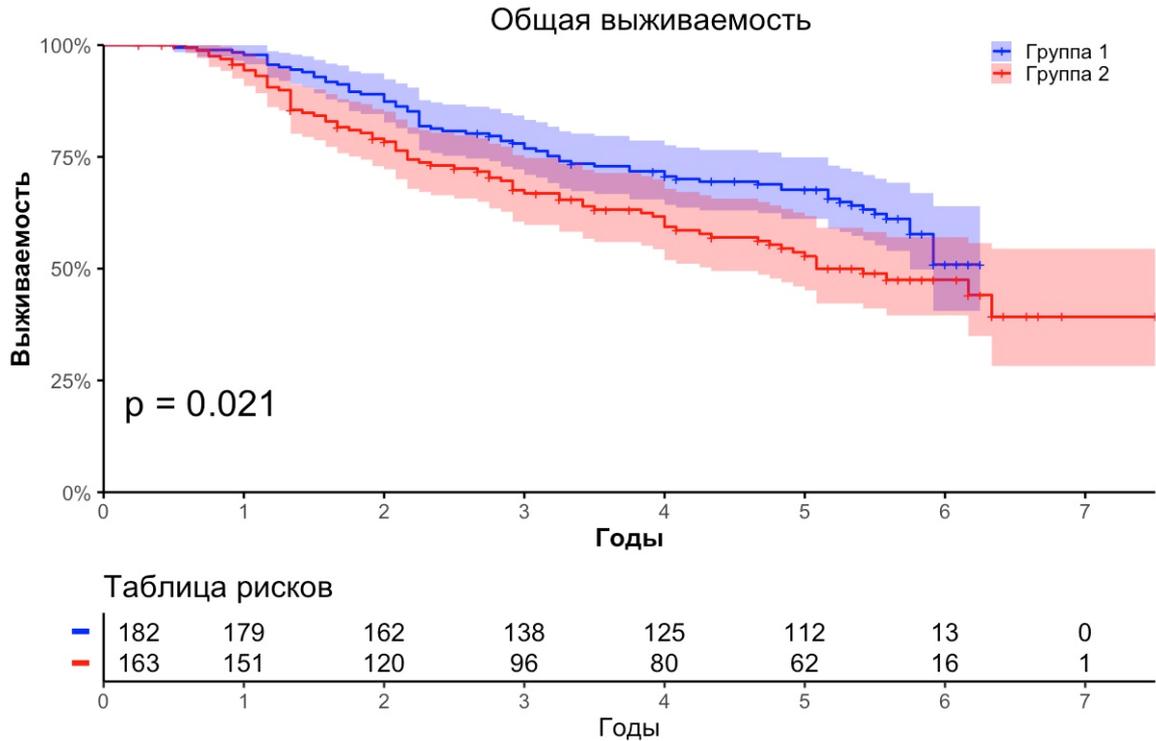


Рисунок 4.6. Анализ 5-ти летней общей выживаемости в исследуемой и контрольной группах ($p=0,021$)

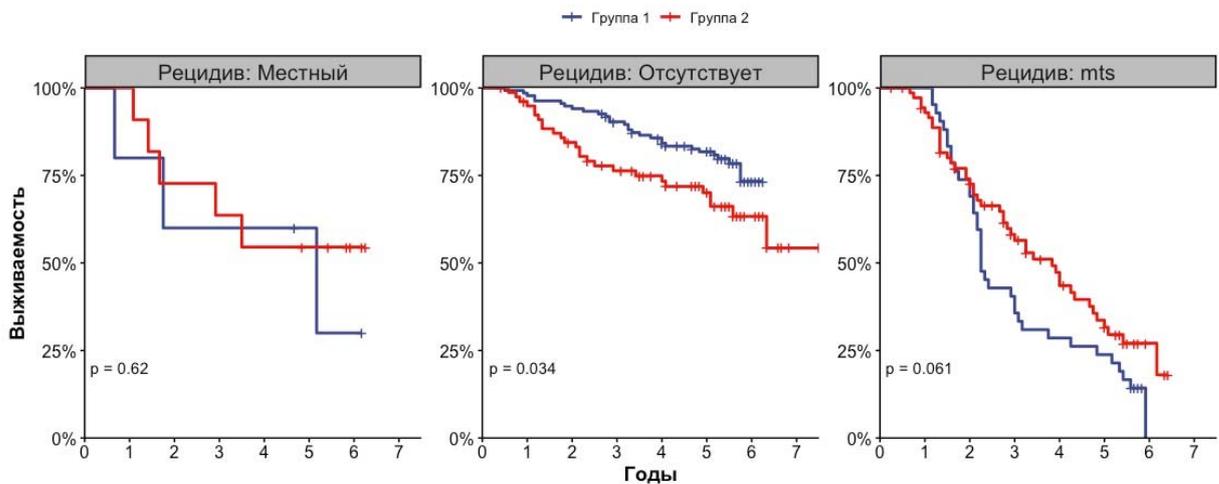


Рисунок 4.7. Анализ возникновения рецидива в исследуемой и контрольной группах. Отсутствие рецидива в исследуемой группе наблюдалось в 80,8% случаев (95% ДИ 74,3-87,9), $p=0,034$

В исследуемой группе выживаемость при давности процесса до 1 года имела место в 120 случаях (65,8% (95% ДИ 58,6-73,9), $p=0,016$), тогда как в контрольной группе этот показатель не превышал 49,8% (95% ДИ 41,4-59,9),

$p=0,016$) (81 пациент). Статистически значимой достоверности различий в выживаемости до 1 месяца и больше 1 года не выявлено (рис. 4.7).

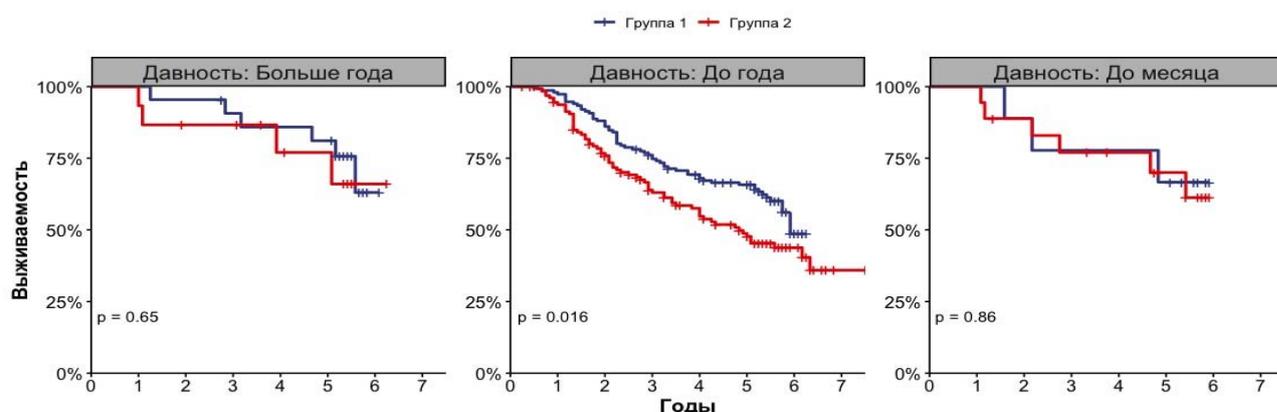


Рисунок 4.8. Анализ выживаемости в зависимости от давности процесса в исследуемой и контрольной группах. Выживаемость при давности процесса до 1 года статистически значимо выше в исследуемой группе, $p=0,016$

Обращало внимание, что выживаемость при наличии увеличенных лимфатических узлов в исследуемой группе была выше и имела место в 110 случаях (60,3% (95% ДИ 44,2-82,4), $p=0,013$), тогда как в контрольной группе этот показатель не превышал 50,4% (95% ДИ 42,1-60,4) (82 пациента). Статистически значимой достоверности различий в выживаемости при критерии N- не выявлено (рис. 4.8).

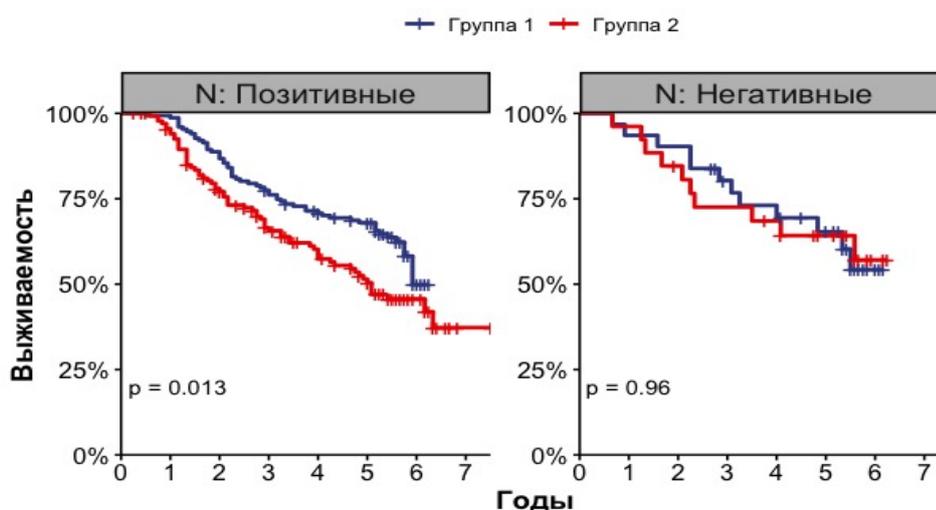


Рисунок 4.9. Анализ выживаемости в зависимости от критерия N в исследуемой и контрольной группах. Выживаемость при критерии N+ статистически значимо выше в исследуемой группе, $p=0,013$

Следует отметить, что при правосторонней локализации РМЖ выживаемость в исследуемой группе была выше (66,3% (95% ДИ 57,3-76,8), $p=0,011$), тогда как в контрольной группе этот показатель не превышал 50,6% (95% ДИ 40,5-63,2) (82 пациента). Статистически значимой достоверности различий в выживаемости при левосторонней локализации РМЖ не выявлено (рис. 4.9).

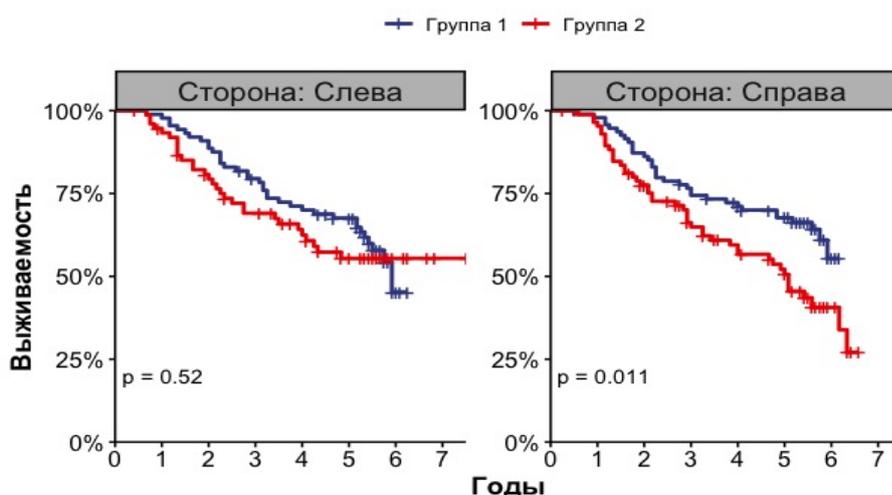


Рисунок 4.10. Анализ выживаемости в зависимости от локализации РМЖ в исследуемой и контрольной группах. Выживаемость при правосторонней локализации РМЖ статистически значимо выше в исследуемой группе, $p=0,011$

Таким образом, в исследуемой группе в 44% случаев (81 пациентка) наблюдалось изменение молекулярно-биологического подтипа РМЖ, в 22,5% (41 пациентка) было произведено изменение схем адъювантного лечения, у 9,3% (17 пациентов) зарегистрирован полный патоморфологический ответ опухоли на проведение неoadъювантной терапии. Вследствие этого, изменения в молекулярно-биологическом статусе опухоли РМЖ определить не представилось возможным. На основе полученных результатов, произведена коррекция схем проведения адъювантной терапии пациентов исследуемой группы. В исследуемой группе рецидивы не наблюдались в 147 случаях (80,8% (95% ДИ 74,3-87,9), $p=0,034$), тогда как в контрольной группе этот показатель не превышал 66,2% (95% ДИ 55,8-78,5, $p=0,034$) (120 пациенток). Общая выживаемость зависела от

биологического подтипа и патоморфоза РМЖ, локализации и давности процесса, от критерия N.

РАЗДЕЛ 5
ВОЗМОЖНОСТИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНО-
ГЕНЕТИЧЕСКОГО ФЕНОТИПА МЕСТНО-РАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДЛЯ ПЕРСОНИФИКАЦИИ ТАКТИКИ
АДЬЮВАНТНОГО ЛЕЧЕНИЯ
(обсуждение полученных результатов)

Диссертация выполнена на основании проспективного наблюдения 345 пациенток от 26 до 84 лет (средний возраст 57 ± 10 лет) с местно-распространенным раком молочной железы T4N0-2M0. Диагноз подтвержден цитологически и гистологически. Исследование проведено с 2013 по 2019 годы в Республиканском онкологическом центре им. Г.В. Бондаря.

Пациентки были разделены на исследуемую группу (182 пациентки) и группу сравнения (163 пациентки) и были классифицированы на 5 подтипов: люминальный А (высокодифференцированные раки ER+PR+HER2-Ki67<20%), люминальный В HER2-негативный (низкодифференцированные раки ER+PR±HER2-Ki67>20%), люминальный В HER2-позитивный (ER+PR±HER2+Ki67 любой), тройной негативный рак – трипл-негативный (ER-PR-HER2-Ki67 любой), нелюминальный HER2-позитивный (ER-PR-HER2+Ki67 любой), определяемые по статусу иммуногистохимического исследования образцов опухоли. Всем больным была проведена неoadьювантная химиолучевая терапия и РМЭ по Маддену.

Все пациентки получали неoadьювантную химиотерапию, а именно внутривенную ПХТ по схеме CMF (циклофосфамид, метотрексат, фторурацил), AC (доксорубицин, циклофосфамид), FAC (фторурацил, доксорубицин, циклофосфамид), AP (доксорубицин, цисплатин). Количество курсов определяли, исходя из оценки эффективности лечения, общего состояния пациенток, наличия степени выраженности местных и системных осложнений в зависимости от ИГХ фенотипа опухоли в расчетных дозах, 2-4 цикла. В группу сравнения вошли 163

пациентки стадии T4N0-2M0, которым на первом этапе выполнялось определение ИГХ статуса опухоли, после чего проводилась неоадьювантная химиотерапия, затем выполнялась РМЭ по Маддену и адьювантная терапия назначалась с учетом ранее определенного ИГХ статуса РМЖ. Исследуемую группу составили 182 пациентки, которым на первом этапе также выполнялось определение ИГХ статуса опухоли, затем проводилась неоадьювантная химиотерапия и выполнялась РМЭ по Маддену, но адьювантное лечение назначалось с учетом повторно определяемого после лечения ИГХ статуса опухоли. Обе группы были сопоставимы по всем основным показателям: возраст, стадия заболевания, гистологическая форма опухоли, схемы, методы и количество курсов химиотерапии, курс предоперационной лучевой терапии, объему выполненных операций. В случаях изменения биологического подтипа опухоли проводилось изменение схем адьювантного лечения.

Основанием для проведения диссертационного исследования явились изменения подходов к лечению РМЖ, которые предусматривают обязательное определение ИГХ-статуса опухоли. При этом, если 10 лет назад доминирующим в определении тактики специального лечения были такие факторы, как размеры опухолевого узла, гистологический тип опухоли, степень гистологической злокачественности, то, на сегодняшний день, без определения биологического статуса РМЖ, тактику лечения сформировать не представляется возможным [27, 105, 108, 118]. Несмотря на это, определение ИГХ-статуса проводят исключительно перед началом лечения [10, 16, 157]. В литературе имеются единичные сообщения об изменении ИГХ статуса РМЖ после проведенного лечения [39, 72, 134, 179]. Так, немецкими онкологами было проведено исследование группы пациенток с РМЖ, основанное на молекулярно-биологических внутренних подтипах и реакциях химиотерапии в попытке установить связь между pCR и выживаемостью для пациентов каждого из подтипов [182, 214]. Данный анализ показал, что выявление молекулярно-биологического подтипа является необходимой частью определения тактики

терапии, поскольку от этого напрямую зависит связь между pCR и выживаемостью. В исследовании O.Brouckaert et al. (2012) использовались молекулярно-биологические подтипы для определения различных прогностических групп РМЖ [167].

В некоторых исследованиях речь идет о том, что не все пациенты имеют одинаковую реакцию на неоадьювантную терапию, результат варьируется в зависимости от биологической характеристики опухоли и от их иммуногистохимии на основе молекулярного подтипа. Так, в мета-анализе, проведенном D.Mauri et al. (2005), доказано, что в базально-подобных опухолях достижение полного патологического ответа наблюдается у 45% (95% ДИ: 24-68), HER2+ – у 45% (95% ДИ: 23-68) и «Люминальный А» – у 6% (95% ДИ: 1-21) [202]. В исследовании F.M.Robertson et al. (2010) предполагается, что pCR может быть суррогатным маркером для общей выживаемости (ОВ), особенно в подгруппах «трижды негативный» и HER2, при этом HER2+ / гормон-рецептор (HR) – отрицательный представляет более высокую частоту ОВ, чем пациенты HER2+ / HR+ [197]. Несмотря на то, что pCR постоянно ассоциируется с превосходной выживаемостью, это не единственный прогностический фактор, как в случаях менее агрессивных опухолей, таких как «Люминальный А». Так, в исследованиях, проведенных A.I.Goldhirsch et al. (2011) и I.Meattini et al. (2017), достижение pCR во время операции было связано с благоприятным прогнозом [195, 231]. В исследовании S.Loibl et al. (2011) отсутствие pCR показало худшие результаты при тройном отрицании и опухолях HER2+, хотя эта прогностическая корреляция не наблюдалась в опухолях HR+ [214].

По результатам проведенного нами исследования у всех 182 женщин исследуемой группы диагностирована IIIb стадия заболевания. У 126 (69,2±3,4%) пациенток опухолевый рост сопровождался наличием вторичного отека молочной железы, прорастанием в кожу или сателитными метастатическими узлами на коже в зоне опухоли. У 44 (24,2±3,2%) женщин опухолевый процесс распространялся на анатомические структуры передней грудной стенки. У 5 (2,7±1,2%) пациенток

перечисленные симптомы опухолевого роста сочетались между собой, а у 7 ($3,8\pm 1,4\%$) женщин диагностирована воспалительная форма рака.

У всех 163 женщин группы сравнения диагностирована IIIb стадия заболевания. У 114 ($69,9\pm 3,6\%$) пациенток опухолевый рост сопровождался наличием вторичного отека молочной железы, прорастанием в кожу или сателитными метастатическими узлами на коже в зоне опухоли. У 34 ($20,9\pm 3,2\%$) женщин опухолевый процесс распространялся на анатомические структуры передней грудной стенки. У 4 ($2,5\pm 1,2\%$) пациенток перечисленные симптомы опухолевого роста сочетались между собой, а у 11 ($6,7\pm 2,0\%$) женщин диагностирована воспалительная форма рака.

Уровень гистопатологической дифференцировки опухолевой ткани нами оценивался по результатам микроскопического исследования согласно критериям C.W.Elston, I.O.Ellis (1991) дополненные P.Hermanek et al. (1999) и регистрировался как GX – в тех случаях, когда уровень дифференцировки опухолевых клеток нельзя оценить, G1 – высокодифференцированный, G2 – умеренно дифференцированный, G3 – низкодифференцированный и G4 – недифференцированный. Определенной закономерности между степенью злокачественности (G1-G4) и гистологической структурой опухоли нами не установлено.

Высокодифференцированные опухоли молочной железы (G1) выявлены у 35 (10,1%) пациенток, умереннодифференцированные (G2) – у 125 (36,2%) женщин, низкодифференцированные (G3) – у 134 (38,8%) больных, недифференцированные (G4) – у 51 (14,8%) пациентки, не имея статистически значимых различий между группами ($p\text{-value} = 0,9092$).

Опухолевые клетки паренхимы умеренно дифференцированной инвазивной протоковой карциномы (G2) имели полигональную форму, светлую эозинофильную, реже базофильную цитоплазму, содержали мелкие вакуоли.

Клетки паренхимы низкодифференцированной инвазивной протоковой карциномы (G3) до лечения широко варьировали по величине и форме. По

периферии опухолевых комплексов преобладали полигональные клетки со светлой, слабо эозинофильной цитоплазмой, содержащие овоидные ядра с неравномерным распределением хроматина, преимущественно конденсирующегося в периферических отделах, ближе к ядерной мембране. Соотношение ядра и цитоплазмы в таких клетках при визуальной оценке примерно равное. Для части опухолевых комплексов, располагающихся вблизи базальной мембраны, характерны гиперхромные ядра, занимающие почти весь объем клетки. Эти ядра окружены узким ободком базофильной цитоплазмы. Выявлялось большое число патологических форм митозов [177].

Клетки паренхимы недифференцированной инвазивной протоковой карциномы (G4) до лечения отличались резко выраженной катаплазией, полиморфизмом и дисконкомплексацией опухолевых клеток. Ядра крупные полиморфные, гиперхромные с крупнодисперсным распределением хроматина, содержали несколько хорошо контурируемых ядрышек. Соотношение стромы и паренхимы variabelно, на отдельных участках выраженное преобладание стромы было обусловлено отеком и разрыхлением волокнистой соединительной ткани.

С наименьшей частотой в обеих группах регистрировался подтип люминальный А. Это эстроген-зависимая опухоль, наименее агрессивна, характеризуются лучшим прогнозом по сравнению с рецептор-негативным раком.

РМЖ люминального В+ подтипа с одинаковой частотой регистрировали в исследуемой группе и группе сравнения. HER2-позитивный РМЖ относится к эстроген-независимым агрессивным опухолям с высоким пролиферативным индексом. Характерны низкая дифференцировка, большой размер опухоли, вовлечение лимфатических узлов, высокая вероятность негативного исхода заболевания.

Люминальный В- подтип с одинаковой частотой регистрировали у пациенток исследуемой группы и группы сравнения. РМЖ люминального В- подтипа относят к эстроген-зависимым агрессивным опухолям. Для данного

подтипа были характерны ранний возраст на момент постановки диагноза, низкая степень дифференцировки, высокий пролиферативный индекс, большой размер опухоли, вовлечение лимфатических узлов. Опухоли этого подтипа характеризовались значительно худшим прогнозом и большей вероятностью рецидивов по сравнению с другими рецептор-позитивными опухолями.

Трипл-негативный РМЖ, являющийся эстроген-независимой агрессивной опухолью, с одинаковой частотой регистрировали у пациенток исследуемой группы и группы сравнения. Для больных с данным подтипом РМЖ были характерны ранний возраст установления диагноза, протоковый или метапластический гистологический тип, низкая степень дифференцировки, высокий пролиферативный индекс, большой размер опухоли, вовлечение лимфатических узлов. Трипл-негативный РМЖ отличается высокой агрессивностью, большой вероятностью развития местно-распространённых и метастатических форм. Согласно результатам исследования J.S.Parker [231], прогноз при данном подтипе РМЖ неблагоприятный, независимо от поражения лимфатических узлов, выживаемость в этой группе ниже, чем при РМЖ других молекулярных подтипов, включая Her2-позитивный рак.

По результатам нашего исследования после изучения ИГХ-статуса у пациенток в исследуемой группе было выявлено изменение молекулярно-биологического подтипа РМЖ, в 22,53% случаев (41 пациентка) была изменена схема лечения, в 9,34% (17 пациенток) случаев отмечен полный патоморфологический ответ опухоли на проводимую неоадьювантную терапию.

В подгруппах «Люминальный А» и «Люминальный В-» подтипов опухоли получены следующие результаты: в 5,94% (10 пациенток) случаев изменился генетический фенотип РМЖ и стал трижды негативным, в 1,65% (3 пациентки) случаев статус опухоли на «Люминальный В+», в одном случае (0,55%) перешел в «Нелюминальный Her2/neu+», в 0,55% (1 пациентка) отмечен полный патоморфологический ответ опухоли на проводимое лечение, в остальных 16,48% случаев (30 пациенток) генетический фенотип РМЖ не изменился.

В подгруппе «Люминальный В+» подтипа опухоли получены следующие результаты: в 3,84% (7 пациенток) случаев – стал «трижды негативным», в 2,74% (5 пациенток) случаев перешел в подтип «Нелюминальный Her2/neu+», в 2,74% (5 пациенток) случаев отмечен полный патоморфологический ответ опухоли на проводимое лечение, в 12,64% (23 пациенток) случаев биологический подтип не изменился.

В подгруппе «Нелюминальный Her2/neu+» получены следующие результаты: в 0,55% (1 пациентка) случаев изменился генетический фенотип опухоли и перешел в «Люминальный В-» подтип, также в 0,55% (1 пациентка) случаев – стал «трижды негативным», в 2,2% (4 пациентки) – стал «Люминальным В+», в 2,75% (5 пациенток) отмечен полный патоморфологический ответ опухоли на проводимое лечение, в остальных случаях – 14,8% (27 пациенток) – биологический подтип опухоли не изменился.

В подгруппе «трижды негативного» подтипа опухоли получены следующие результаты: в 1,1% (2 пациентки) случаев изменился биологический подтип опухоли, который перешел в «Люминальный В-» подтип, в 3,3% (6 пациенток) случаев отмечен полный патоморфологический ответ опухоли на проводимое лечение, в остальных 17,03% (31 пациентка) случаев – биологический подтип опухоли не изменился.

В связи с тем, что в исследуемой группе у 81 пациентки наблюдалось изменение молекулярно-биологического подтипа опухоли рака молочной железы, коррекцию в схемах проведения адъювантного лечения выполнено у 41 пациентки. С учетом полученных изменений, сформировалось три подгруппы пациентов с изменением режимов адъювантной лекарственной терапии:

1. Группа «трижды негативного» подтипа РМЖ (10,33% случаев). Учитывая высокую чувствительность данной опухоли к препаратам таксанового ряда, режим адъювантной химиотерапии был продолжен с применением инфузии паклитаксела 135 мг\м² длительностью 3 часа каждые 3 недели.

2. Группа HER2 позитивного РМЖ, (4,94% случаев). Обязательным условием продолжения адъювантного лекарственного лечения было включение в лечебную схему анти-HER2 препаратов (трастузумаб в дозе 6 мг\кг (нагрузочная доза 8 мг\кг) в\в в 1-й день 1 раз в 3 недели), которые применялись с химиотерапией таксан-содержащими режимами, учитывая высокий риск кардиотоксичности при одновременном введении антрациклинов и анти-HER2 терапии. Начало таргетного лечения осуществлялось с адъювантными курсами полихимиотерапии, после окончания которых терапия продолжалась в стандартном режиме до 12 месяцев.

3. Группа с выявлением люминального РМЖ, (3,85% случаев). Все пациентки данной группы достигли менопаузального статуса на момент исследования и имели неблагоприятные результаты мультипараметрических молекулярных маркеров (HER2 позитивный статус опухоли и\или высокий индекс Ki67). Адъювантное лечение в данной группе осуществлялось с применением гормональной терапии– ингибитором ароматазы (летрозол) 2,5 мг в сутки внутрь. Планируемая продолжительность гормонального лечения составляла 5 лет.

В исследуемой группе 5-ти летняя безрецидивная выживаемость составила 63,9% (95% ДИ 57,2-71,4) (116 пациенток), тогда как в группе сравнения этот показатель не превысил 45,8% (95% ДИ 37,6-55,8) (83 пациентки) ($p=0,0071$). При анализе показателей общей выживаемости отмечено статистически значимое улучшение результатов лечения в основной группе по сравнению с группой сравнения. Общая 5-ти летняя выживаемость в исследуемой группе составила 65,6% (95% ДИ 59-73) (119 пациенток) в сравнении с 53,8% (95% ДИ 57,0-78,8) (62 пациентки) в группе сравнения ($p=0,0021$). Полная патологическая регрессия опухоли была достигнута у 9,34% (17 пациенток). В исследуемой группе рецидивы не наблюдались в 147 случаях (80,8% (95% ДИ 74,3-87,9), $p=0,034$), тогда как в группе сравнения этот показатель не превышал 66,2% (95% ДИ 55,8-78,5, $p=0,034$) (120 пациенток). Статистически значимой достоверности различий

в местных и отдаленных рецидивах между исследуемыми группами не выявлено, что свидетельствует об однородном распределении пациенток в группах по данному критерию.

Результаты проведенного нами исследования свидетельствуют о том, что определение молекулярно-биологических типов РМЖ на основе иммуногистохимической оценки экспрессии ER, PR и Her2/neu является достаточно информативным и упрощенным методом диагностики.

В данном исследовании отчетливо продемонстрирована необходимость изучения ИГХ-статуса после проведения неoadьювантной терапии для выявления изменений молекулярно-биологических подтипов РМЖ. Изучение закономерностей изменений в каждом молекулярно-биологическом подтипе представляет важную прогностическую информацию, поскольку определение тактики дальнейшего лечения рака молочной железы становится более персонифицированным.

ВЫВОДЫ

В диссертации дано теоретическое обоснование и новое научное решение актуальной задачи современной онкомамологии, заключающееся в улучшении ближайших и отдаленных результатов комплексного лечения больных местно-распространенным раком молочной железы путем персонализации лечебной тактики в зависимости от молекулярно-биологического подтипа рака.

1. Причиной неудовлетворительных результатов лечения пациенток с местно-распространенным раком молочной железы явилось отсутствие повторной иммуногистохимической оценки экспрессии ER, PR и Her2/neu и Ki-67 при назначении адъювантной терапии. В группе сравнения 5-ти летняя безрецидивная выживаемость составила 45,8% (95% ДИ 37,6-55,8), общая 5-ти летняя выживаемость – 53,8% (95% ДИ 57,0-78,8).

2. У пациенток с местно-распространенным раком молочной железы проведенная неоадъювантная химиотерапия привела к изменению биологических свойств опухоли молочной железы. В исследуемой группе у 81 (44,5%) пациентки поменялся ИГХ подтип рака молочной железы. До лечения Люминальный А подтип установлен у 30 (16,5%) пациенток, Люминальный В+ у 40 (22%) пациенток, Люминальный В- у 35 (19,2 %) пациенток, нелюминальный HER2new положительный у 38 (20,9%) пациенток, трипл-негативный рак у 39 (21,4%) пациенток. После лечения получены следующие результаты: Люминальный А подтип у 15 (8,3%) пациенток, Люминальный В+ у 22 (12,1%) пациенток, Люминальный В- у 33 (18,1%) пациенток, нелюминальный HER2new положительный у 27 (14,8%) пациенток, трипл-негативный рак у 45 (24,7%) пациенток.

3. На основании изменений иммуногистохимического статуса опухоли модифицирован протокол адъювантного лечения: в 10% случаев «трижды негативного» подтипа РМЖ, учитывая высокую чувствительность данной опухоли к препаратам таксанового ряда, режим адъювантной химиотерапии

требует применения инфузии паклитаксела; в 5% случаев HER2 позитивного РМЖ в лечебную схему включены анти-HER2 препараты; в 4% случаев выявления люминального РМЖ адъювантное лечение осуществлялось с применением гормональной терапии.

4. При анализе показателей общей и безрецидивной 5-ти летней выживаемости отмечено статистически значимое улучшение результатов лечения в исследуемой группе: 5-ти летняя безрецидивная выживаемость улучшилась на 18,1% ($p=0,0071$), общая 5-ти летняя выживаемость улучшилась на 11,8% ($p=0,0021$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Маркировка опухоли танталовыми скобами до начала неоадьювантной терапии и установка локализационного «гарпуна» непосредственно перед операцией позволяют избежать позитивного края резекции и выполнить прицельное морфологическое исследование ложа опухоли в случае ее полной патоморфологической регрессии.

2. Результаты исследования позволяют обеспечить целенаправленное определение объема адьювантной терапии путем определения иммуногистохимического статуса рака молочной железы после проведенного неоадьювантного лечения.

3. Целесообразно определение молекулярно-биологических подтипов рака молочной железы на основе иммуногистохимической оценки экспрессии ER, PR и Her2/neu с последующей персонификацией лечебной тактики в зависимости от молекулярно-биологического подтипа рака.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БРВ – безрецидивная выживаемость;

ИГХ – иммуногистохимия;

ИГХ-статус – иммуногистохимический статус;

ЛТ – лучевая терапия;

МРРМЖ – местно-распространенный рак молочной железы;

НПХТ – неоадьювантная полихимиотерапия;

ОВ – общая выживаемость;

ПХТ – полихимиотерапия;

РМЖ – рак молочной железы;

РМЭ – радикальная мастэктомия;

РОЦ – Республиканский онкологический центр им. Г.В. Бондаря;

РП – рецепторы прогестерона;

РПХТ – регионарная полихимиотерапия;

РЭ – рецепторы эстрогенов;

ХТ – химиотерапия;

ЭЛПХТ – эндолимфатическая полихимиотерапия;

АС – схема полихимиотерапии, включающая: Доксорубин, Циклофосфан;

СМФ – схема полихимиотерапии, включающая: Циклофосфан, Метатрексат,

Фторурацил;

FAC – схема полихимиотерапии, включающая: Фторурацил, Доксорубин,

Циклофосфан;

pCR – полный патологический ответ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдураимов, А. Б. Новые возможности лучевой диагностики рака молочной железы [Текст] / А. Б. Абдураимов, С. К. Терновой // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 3. – С. 24-28.
2. Адьювантная эндокринотерапия больных раком молочной железы в постменопаузе [Текст] / В. Ф. Семиглазов [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 3. – С. 44-50.
3. Аксель, Е. М. Злокачественные новообразования молочной железы: состояние онкологической помощи, заболеваемость и смертность [Текст] / Е. М. Аксель // Маммология. – 2006. – № 1. – С. 9-13.
4. Алгоритмы объемов диагностики и лечения злокачественных новообразований [Текст] : методические указания / под ред. В. И. Чиссова. – Москва: МНИОИ им. П. А. Герцена, 2002. – 912 с.
5. Алимходжаева, Л. Т. Значение определения чувствительности лимфоцитов к ультразвуковому воздействию для ранней диагностики рака молочной железы [Текст] / Л. Т. Алимходжаева, С. Н. Наврузов, М. С. Гильдиева // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 4. – С. 38-40.
6. Амосов, Н. М. Очерки торакальной хирургии [Текст] / Н. М. Амосов. – Москва : Книга по требованию, 2013. – 708 с.
7. Андреяшкина, И. И. Комплексная диагностика метастазов рака молочной железы в легкие [Текст] / И. И. Андреяшкина, В. Н. Плохов // Практическая медицина. – 2007. – № 2 (21). – С. 18-19.
8. Андреяшкина, И. И. Уровень эпидермального фактора роста her-2/neu у больных раком молочной железы с метастазами в легкие [Текст] / И. И. Андреяшкина, В. Н. Плохов // Сибирский онкологический журнал. – 2010. – № S1. – С. 15-16.
9. Артамонова, Е. В. Место иммуномодуляторов в терапии рака молочной железы [Текст] / Е. В. Артамонова // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 1-2. – С. 23-26.

10. Балабуха, О. С. Качество жизни как основа программ реабилитации [Текст] / О. С. Балабуха // Международный медицинский журнал. – 2010. – № 4. – С. 11-13.
11. Бектурсынов, С. М. Совершенствованный метод хирургического лечения рака молочной железы в сочетании с химиоиммунотерапией [Текст] / С. М. Бектурсынов, С. А. Баишева, Б. А. Турекеев // Вестник Кыргызско-Российского славянского университета. – 2008. – Т. 8. № 4. – С. 101-102.
12. Биологические основы использования рецепторов HER-2/neu в оценке прогноза и лечения больных раком молочной железы [Текст] / В. П. Широкий [и др.] // Маммология. – 2006. – № 1. – С. 80-86.
13. Бондар, Г. В. Первинно-неоперабельный рак молочной железы [Текст] / Г. В. Бондар, И. С. Сёдаков, В. Г. Шлопов. – Донецк : Каштан, 2005. – 348 с.
14. Борисов, В. И. Современные тенденции в лечении метастатического рака молочной железы [Текст] / В. И. Борисов // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 2. – С. 27-32.
15. Брагина, О. Д. Клинико-морфологические особенности трипленегативного рака молочной железы [Текст] / О. Д. Брагина // Сибирский онкологический журнал. – 2010. – № S1. – С. 26.
16. Братусь, Г. А. Роль социальных факторов в возвращении к труду женщин после радикального лечения рака молочной железы [Текст] / Г. А. Братусь, Р. Т. Складенко // Вестник новых медицинских технологий. – 2008. – Т. 15, № 3. – С. 63-64.
17. Братусь, Г. А. Инвалидность и профессиональная реабилитация женщин после радикального лечения рака молочной железы [Текст] / Г. А. Братусь // Вестник новых медицинских технологий. – 2008. – Т. 15, № 3. – С. 51.
18. Брюзгин, В. В. Лечение хронического болевого синдрома у больных генерализованными формами рака молочной железы [Текст] / В. В. Брюзгин // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 3. – С. 6-10.

19. Бухарова, Т. Н. Профилактика рака молочной железы [Текст] / Т. Н. Бухарова, О. Н. Панина // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 4. – С. 11-13.
20. Видеоэндоскопические и реконструктивно-пластические операции в комбинированном и комплексном лечении рака молочной железы III стадии [Текст] / А. Х. Исмагилов [и др.] // Практическая медицина. – 2008. – № 2 (26). – С. 24-26.
21. Влияние иммуноадьювантов на течение рака молочной железы у больных с операбельным раком молочной железы [Текст] / М. М. Васильева [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2018. – Т. 14, № 4. – С. 20-23.
22. Влияние предшествующей терапии сахарного диабета на рецепторный фенотип рака молочной железы: сравнение метформина и препаратов сульфонилмочевины [Текст] / Л. М. Берштейн [и др.] // Вопросы онкологии. – 2010. – Т. 56, № 3. – С. 312-316.
23. Внутритканевая лучевая терапия рака молочной железы в составе органосохраняющего лечения ранних стадий рака молочной железы [Текст] / В. А. Уйманов [и др.] // Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. – 2007. – Т. 18, № 4. – С. 19-28.
24. Возможности регионарной химиотерапии рака молочной железы [Текст] / К. Р. Умарова [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2009. – Т. 90, № 5. – С. 714-716.
25. Возрастная структура заболеваемости раком молочной железы [Текст] / Д. Р. Зямилова [и др.] // Завадские чтения : материалы XIII межрегиональной научно-практической конференции молодых учёных с международным участием по актуальным вопросам внутренней патологии. – Ростов-на-Дону, 2018. – С. 75-76.
26. Волков, С. М. Применение актуариальных расчетов в клинической практике [Текст] / С. М. Волков // Вестник Московского онкологического общества. – 2008. – № 12. – С. 4-8.

27. Ворошина, Н. В. Злокачественные новообразования молочной железы и организация таргетной терапии [Текст] / Н. В. Ворошина, А. В. Важенин, Ю. А. Тюков // Онкология – XXI век : материалы XXI Международной научной конференции "Онкология – XXI век", VII Итало-русской научной конференции по онкологии и эндокринной хирургии, XXI Международной научной конференции "Здоровье нации - XXI век". – Тбилиси, 2017. – С. 51-54.

28. Высокодозная химиотерапия в комплексном лечении инфильтративно-отечной формы рака молочной железы [Текст] / М. Г. Мистакопуло [и др.] // VII Российский онкологический конгресс : материалы ; 25-27 ноября 2003 г. – Москва, 2003. – С. 235-236.

29. Высоцкая, И. В. Адъювантная эндокринотерапия рака молочной железы у группы больных пременопаузального возраста [Текст] / И. В. Высоцкая, К. В. Максимов // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 1-2. – С. 45-47.

30. Вялова, К. В. Опыт применения Бевацизумаба у больных диссеминированным раком молочной железы в амбулаторных условиях [Текст] / К. В. Вялова // Сибирский онкологический журнал. – 2010. – № S1. – С. 32.

31. Галеев, М. Г. Современные подходы к стадированию рака молочной железы по критерию *in vivo* [Текст] / М. Г. Галеев, Р. Ш. Ишмуратова, Д. С. Турсуметов // Креативная хирургия и онкология. – 2010. – № 1. – С. 29-30.

32. Гармарник, Т. В. Первые результаты применения вируса болезни Ньюкасла в неoadъювантной терапии рака молочной железы [Текст] / Т. В. Гармарник, М. В. Подольская, Р. Д. Квиникадзе // Сибирский онкологический журнал. – 2010. – № S1. – С. 33.

33. Герштейн, Е. С. Биологические маркеры рака молочной железы: методологические аспекты и клинические рекомендации [Текст] / Е. С. Герштейн, Н. Е. Кушлинский // Маммология. – 2005. – № 1. – С. 65-69.

34. Гидранович, А. В. Биохимические показатели липидного и углеводного обменов как метаболические предикторы рака молочной железы

[Текст] / А. В. Гидранович, Н. Ю. Коневалова, Н. Г. Луд // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2009. – Т. 8, № 4. – С. 89-99.

35. Гидролитическая активность ткани опухоли молочной железы и ее перифокальной зоны при различных вариантах течения рака [Текст] / Е. М. Франциянц [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 4. – С. 34-37.

36. Гланц, С. Медико-биологическая статистика [Текст] / С. Гланц. – Москва : Практика, 1999. – 459с.

37. Голобокова, М. О. Анализ заболеваемости раком молочной железы [Текст] / М. О. Голобокова // Студенческий. – 2019. – № 31-1 (75). – С. 83-84.

38. Гормонотерапия раннего рака молочной железы [Текст] / М. Р. Личиницер [и др.] // Маммология. – 2005. – № 1. – С. 44-50.

39. Грабовой, А. Н. Гистологическая оценка ответа опухоли на химиолучевую терапию [Текст] / А. Н. Грабовой, Т. А. Тарасова, М. В. Кошубарова // Экспериментальные исследования, онкоморфология, онкоиммунология – 2012. – № 6 (2). – С. 38-43.

40. Громов, Г. Б. Преинвазивный рак молочной железы [Текст] / Г. Б. Громов, И. Г. Шестопалова, Е. Р. Атрощенко // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 4. – С. 7-10.

41. Громов, Г. Б. Ранний рак молочной железы у женщин в Орловской области [Текст] / Г. Б. Громов, И. Г. Шестопалова, Е. Р. Атрощенко // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 1-2. – С. 13-16.

42. Давыдов, М. И. Стандарты лечения больных первичным раком молочной железы [Текст] / М. И. Давыдов, В. П. Летягин – Москва, 2003. – 280 с.

43. Давыдов, М. И. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ [Текст] / М. И. Давыдов, Е. М. Аксель. – Москва, 2005. – 268 с.

44. Диагностика рака молочной железы на основе информационной системы [Текст] / Л. Ф. Писарева [и др.] // Практическая медицина. – 2009. – № 4 (36). – С. 113-115.
45. Динамика экспрессии фактора роста эндотелия сосудов при различной неоадьювантной терапии рака молочной железы [Текст] / Е. А. Ким [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 3. – С. 38-42.
46. Добровольская, Н. Ю. Возможности адьювантной эндокринной терапии рака молочной железы (часть I) [Текст] / Н. Ю. Добровольская, Э. К. Возный, Ю. М. Бычков // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 3 – С. 54-57.
47. Дружков, О. Б. Принципы хирургического органосохраняющего лечения больных раком молочной железы [Текст] / О. Б. Дружков, Б. К. Дружков // Практическая медицина. – 2009. – № 4 (36). – С. 17-18.
48. Дульцева, Т. С. Новые мутации в гене-супрессоре опухолевого роста *tp53* у больных раком молочной железы [Текст] / Т. С. Дульцева, Т. В. Сухановская, Е. В. Денисов // Сибирский онкологический журнал. – 2010. – № S1. – С. 39-40.
49. Елизарова, А. А. Актуальные аспекты заболеваемости раком молочной железы в современных условиях [Текст] / А. А. Елизарова // VOLGAMEDSCIENCE : сборник тезисов V Всероссийской конференции молодых ученых и студентов с международным участием : материалы конференции. – Нижний Новгород, 2019. – С. 677-678.
50. Жукова, Л. Г. Клинические рекомендации по применению эксеместана при раке молочной железы [Текст] / Л. Г. Жукова // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 4. – С. 57-62.
51. Зимакова, И. В. Возможности ранней диагностики рака молочной железы в условиях смотровых кабинетов и фельдшерско-акушерских пунктов [Текст] / И. В. Зимакова, М. И. Семенов // Смоленский медицинский альманах. – 2018. – № 1. – С. 123-127.

52. Значение ультразвукового мониторинга состояния эндометрия у больных раком молочной железы [Текст] / М. А. Чекалова [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 1-2. – С. 17-22.

53. Значение экспрессии онкобелков H-ras в терапии рака молочной железы [Текст] / А. М. Жумакаева [и др.] // Фармакогенетика и фармакогеномика. – 2019. – № 2. – С. 20-21.

54. Изучение влияния препарата "Полиоксидоний" на течение рака молочной железы у больных с операбельным раком молочной железы [Текст] / И. П. Мошуров [и др.] // Исследования и практика в медицине. – 2018. – Т. 5. – № S2. – С. 211.

55. Иммуноморфологическая диагностика микрометастазов рака молочной железы в костный мозг [Текст] / О. В. Крохина [и др.] // Маммология. – 2005. – № 1. – С. 70-73.

56. Исмагилов, А. Х. Алгоритм диагностики и лечения больных местнораспространенным раком молочной железы с поражением ипсилатеральных лимфоузлов надключичной зоны [Текст] / А. Х. Исмагилов, Р. Ш. Хасанов, М. Ф. Мухамадеев // Креативная хирургия и онкология. – 2010. – № 1. – С. 31-33.

57. К вопросу о подмышечной лимфодиссекции у больных раком молочной железы [Текст] / В. В. Родионов [и др.] // Практическая медицина. – 2009. – № 4 (36). – С. 57-59.

58. Карабаева, Я. Б. Современное состояние диагностики и лечения рака молочной железы [Текст] / Я. Б. Карабаева // Вестник Кыргызско-Российского славянского университета. – 2007. – Т. 7, № 4. – С. 165-171.

59. Клинико-иммунологическое значение экспрессии mdrl/pgp 170 при раке молочной железы [Текст] / Д. А. Енгай [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 3. – С. 41-43.

60. Клинико-морфологическая характеристика тройного негативного рака молочной железы [Текст] / Е. Н. Серeda [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2010. – № S1. С. – 92-93.
61. Клинико-морфологическая оценка эффективности термохимиотерапии с общей гипертермией в лечении местно-распространенного рака молочной железы [Текст] / А. Г. Монахов [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 1-2. – С. 32-34.
62. Клиническая лабораторная диагностика [Текст] : национальное руководство: в 2 т. / под ред. В. В. Долгова, В. В. Меньшикова. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2012. –Т. I. – 715 с.
63. Клинические рекомендации по профилактике, диагностике и лечению больных раком молочной железы [Текст] / Л. В. Болотина [и др.]; Ассоциация онкологов России. – Москва, 2014. – 51 с.
64. Клинический случай: сочетание трех редких гистологических форм первично-множественного рака молочной железы у одной пациентки [Текст] / Г. В. Мартынова [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 4. – С. 29-33.
65. Клиническое значение *vegfr-2* в опухолях и сыворотках крови больных раком молочной железы [Текст] / Е. А. Ким [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 1. – С. 28-32.
66. Козлов, Д. В. Новые возможности гормонотерапии рака молочной железы [Текст] / Д. В. Козлов // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 3. – С. 44-46.
67. Колядина, И. В. Локальные рецидивы первично операбельного рака молочной железы [Текст]: дис. ... канд. мед. наук : 14.00.14: защищена 28.05.09 ; утв. 09.2009 / Ирина Владимировна Колядина. – Москва, 2009. – 110 с.
68. Коновалова, В. Н. Рак молочной железы и метаболизм эстрогенов: взгляд изнутри (обзор литературы) [Текст] / В. Н. Коновалова // Проблемы репродукции. – 2007. – Т. 13, № 5. – С. 15-20.

69. Контроль качества иммуногистохимических исследований в России: вчера, сегодня, завтра... [Текст] / И. В. Колядина [и др.] // Современная онкология. – 2018. – Т. 20, №4. – С. 23-26.
70. Корженкова, Г. П. Скрининг рака молочной железы [Текст] / Г. П. Корженкова // Практическая медицина. – 2007. – № 2 (21). – С. 8-11.
71. Коррекция побочных эффектов полихимиотерапии и антиоксидантного статуса препаратом "Цитофлавин" больных раком молочной железы [Текст] / В. А. Кашуро, С. И. Глушков, С. Н. Жерегеля // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И. И. Мечникова. – 2009. – № 3 (32). – С. 124-128.
72. Косторов, В. А. Клинические и фармакоэкономические аспекты неоадьювантной терапии HER2-позитивного рака молочной железы [Текст] / В. А. Косторов, Т. Ю. Семиглазова, А. В. Павлыш // Медицинский совет. – 2018. – № 10. – С. 140-145.
73. Кукленко, Т. В. Оккультный рак молочной железы как новая биологическая форма рака молочной железы [Текст] / Т. В. Кукленко, Г. Ф. Войтаник // Сибирский онкологический журнал. – 2007. – № S2. – С. 61-62.
74. Кутуков, В. В. Опыт работы НУЗ "МЧС" по ранней диагностике рака молочной железы в системе комплексного диспансерного наблюдения [Текст] / В. В. Кутуков, И. В. Качанов, В. Н. Бучин // Практическая медицина. – 2009. – № 4 (36). – С. 121-122.
75. Лазарук, А. В. Ретроспективный анализ заболеваемости раком молочной железы [Текст] / А. В. Лазарук // V съезд терапевтов Забайкальского края : сборник научных трудов. – Чита, 2017. – С. 120-121.
76. Лапароскопические операции на матке и ее придатках у больных раком молочной железы [Текст] / С. Ю. Слетина [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 2. – С. 23-26.

77. Летьгин, В. П. X Международная конференция в Сан-Галлене: лечение раннего рака молочной железы [Текст] / В. П. Летьгин // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 1-2. – С. 37.
78. Летьгин, В. П. Адьювантная гормонотерапия первичного рака молочной железы [Текст] / В. П. Летьгин, А. А. Волченко // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 1-2. – С. 43-44.
79. Летьгин, В. П. Кселода (капецитабин): современные подходы к лечению рака молочной железы [Текст] / В. П. Летьгин, Е. А. Ким // Маммология. – 2005. – № 1. – С. 42-44.
80. Летьгин, В. П. Первичные опухоли молочной железы [Текст] : практическое руководство по лечению / В. П. Летьгин. – Москва : Миклош, 2004. – 332 с.
81. Летьгин, В. П. Стратегия лечения больных ранним раком молочной железы (по материалам Европейской школы онкологии, Москва 2005) [Текст] / В. П. Летьгин // Маммология. – 2006. – №1. – С. 86-87.
82. Лечение рака молочной железы T3-4N0M0 стадий [Текст] / К. В. Максимов [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 1. – С. 20-24.
83. Личиницер, М. Р. Лечение распространенного рака молочной железы [Текст] / М. Р. Личиницер, В. П. Летьгин, К. В. Максимов // Маммология. – 2005. – № 1. – С. 51-53.
84. Лукьянова, М. П. Эпидемиология рака молочной железы [Текст] / М. П. Лукьянова, А. Е. Сырцова, С. И. Перфилов // Colloquium-journal. – 2017. – № 11-2 (35). – С. 44-45.
85. Любченко, Л. Н. Медико-генетическое консультирование и ДНК-диагностика при наследственной предрасположенности к раку молочной железы и раку яичников [Текст] / Л. Н. Любченко. – Москва : ИГ РОНЦ, 2014. – 75 с.
86. Марковский, А. В. Роль полиморфизма генов фолатного метаболизма и сывороточных аминотиолов в формировании различных гистологических типов

рака молочной железы [Текст] / А. В. Марковский // Забайкальский медицинский вестник. – 2019. – № 2. – С. 40 – 47.

87. Мартынчик, С. А. Методологические подходы к определению технологических и расходных нормативов высокотехнологичной медицинской помощи при раке молочной железы [Текст] / С. А. Мартынчик, С. М. Хомяков, Е. Л. Потемкин // Экономика здравоохранения. – 2009. – № 12. – С. 39-46.

88. Махмудова, Н. Э. Видеоторакоскопическая парастернальная лимфодиссекция в комплексной диагностике и лечении рака молочной железы [Текст] / Н. Э. Махмудова // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 2. – С. 33-34.

89. Метилирование гена *Itb4r* как маркера потенциальной чувствительности трижды негативного рака молочной железы к ингибиторам лейкотриеновых рецепторов [Текст] / А. И. Калинин [и др.] // Фармакогенетика и фармакогеномика. – 2018. – № 2. – С. 21-22.

90. Методы оценки раннего проявления кардиотоксичности при химиотерапии рака молочной железы [Текст] / А. Е. Сторожакова [и др.] // Research'n Practical Medicine Journal. – 2019. – Прил. – С. 253.

91. Механизмы адьювантных эффектов полиоксидония / А. С. Иванова [и др.] // Иммунология гемопоза. – 2015. – Т. 13, № 2. – С. 30-90.

92. Мишук, Ю. Е. Анализ динамики проявлений тревоги у пациенток с раком молочной железы в постоперационном периоде при применении азафена [Текст] / Ю. Е. Мишук, О. Ю. Ширяев, М. А. Железняков // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2007. – Т. 10, № 1. – С. 31-34.

93. Молочная железа: рак и предраковые заболевания [Текст] / под ред. В. И. Тарутинова. – Киев, 2006. – 425 с.

94. Наврузов, С. Н. Прогностические факторы, влияющие на метастатический потенциал рака молочной железы [Текст] / С. Н. Наврузов, Ж. Н. Каххоров, Г. Б. Мансурова // Вопросы онкологии. – 2010. – Т. 56. № 3. – С. 333-336.

95. Нейтронная и нейтронно-фотонная терапия в лечении местнораспространенных форм рака молочной железы и местных рецидивов [Текст] / Л. И. Мусабаева [и др.] // Практическая медицина. – 2009. – № 4 (36). – С. 45-46.
96. Неоадьювантная таргетная терапия рака молочной железы [Текст] / В. Ф. Семиглазов [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2013. – № 6. – С. 12-16.
97. Николаева, Т. И. Об эффективности активного выявления рака молочной железы [Текст] / Т. И. Николаева, П. М. Иванов, Л. Ф. Писарева // Сибирский медицинский журнал. – 2007. – Т. 22. № S2. – С. 80-82.
98. Новик, А. А. Руководство по исследованию качества жизни в медицине [Текст] / А. А. Новик, Т. И. Ионова. – Москва : ЗАО "ОЛМА Медиа Групп", 2007. – 320с.
99. Новые хирургические технологии лечения рака молочной железы [Текст] / Ш. Х. Ганцев [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 4. – С. 25-27.
100. Нурманова, А. Факторы и их роль в заболеваемости, смертности, выживаемости при раке молочной железы [Текст] / А. Нурманова, З. И. Султанова, Ы. А. Аннаоразов // Вестник Казахского Национального медицинского университета. – 2018. – № 1. – С. 112-114.
101. Общие рекомендации по лечению раннего рака молочной железы St. Galle- 2015, адаптированные экспертами Российского общества онкомамологов [Текст] / В. Ф. Семиглазов [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2015. – № 3. – С. 43-60.
102. Олексенко, В. В. Основные тенденции заболеваемости раком молочной железы в республике Крым и Российской Федерации [Текст] / В. В. Олексенко, К. А. Алиев, И. А. Сухарева // Таврический медико-биологический вестник. – 2019. – Т. 22, № 1. – С. 75-82.

103. Онкологическая ситуация по злокачественным новообразованиям молочной железы по данным канцер-регистра ЛНР за 2014-2016 годы [Текст] / А. В. Торба [и др.] // Новообразование. – 2017. – Т. 9, № 2 (17). – С. 144-148.
104. Определение цитокинов у больных, страдающих раком молочной железы, для диагностики эндотоксикоза до и после хирургического лечения [Текст] / О. А. Ткачук [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2010. – № S1. – С. 102-103.
105. Особенности HER-2/NEU позитивного иммуногистохимического фенотипа рака молочной железы в разных этнических группах [Текст] / Я. Л. Полуэктова [и др.] // Медицина и экология. – 2018. – № 1 (86). – С. 29-35.
106. Особенности клинической картины и биологических характеристик редких форм рака молочной железы [Текст] / Г. В. Мартынова [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 3. – С. 14-19.
107. Оценка динамики уровня социального функционирования у пациенток с раком молочной железы на фоне применения азафена [Текст] / Ю. Е. Мищук [и др.] // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2007. – Т. 10. № 1. – С. 27-30.
108. Оценка патоморфоза после неoadьювантной терапии рака молочной железы [Текст] / О. Н. Ганусевич [и др.] // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2019. – Т. 18, N 3. – С. 61-67.
109. Пак, Д. Рак молочной железы [Текст] / Д. Пак, Е. Рассказова // Врач. – 2005. – № 12. – С. 3-8.
110. Патоморфологические особенности первично-множественного синхронного рака молочных желез [Текст] / Е. А. Рассказова [и др.] // Research'n Practical Medicine Journal. – 2019. – № 2. – С. 231.
111. Переводчикова, Н. И. Адьювантная терапия рака молочной железы [Текст] / Н. И. Переводчикова // Маммология. – 2005. – № 1. – С. 53-56.

112. Переводчикова, Н. И. Современная терапия метастатического рака молочной железы [Текст] / Н. И. Переводчикова, Д. В. Филоненко // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 4. – С. 48-56.

113. Петри, А. Наглядная статистика в медицине [Текст] / А. Петри, К. Сэбин. – Москва :ГЭОТАР-МЕД., 2003. – 144с.

114. Подшендялова, А. А. Диссеминация рака молочной железы, статистика заболеваемости у пациентов, находившихся на лечении в ООКОД, за 2015–2017 годы [Текст] / А. А. Подшендялова // Новое слово в науке: стратегии развития : сборник материалов VI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Чебоксары, 2018. – С. 27-28.

115. Попова, Т. Н. Диагностическая секторальная резекция и отдаленные результаты лечения при раке молочной железы [Текст] / Т. Н. Попова, С. С. Афанасьева // Российский онкологический журнал. – 2010. – № 1. – С. 32-35.

116. Поражения желудочно-кишечного тракта у больных раком молочной железы, получающих химиотерапию [Текст] / И. А. Королева [и др.] // Вопросы онкологии. – 2010. – Т. 56, № 2. – С. 206-209.

117. Портной, С. М. Современные принципы лечения больных первично-операбельным раком молочной железы [Текст] / С. М. Портной // Вестник Московского онкологического общества. – 2010. – № 4. – С. 2-4.

118. Прогностическая значимость экспрессии гена *brca1* у больных раком молочной железы [Текст] / М. М. Цыганов [и др.] // Успехи молекулярной онкологии. – 2019. – Т. 6, № 2. – С. 55-60.

119. Прямое сравнение эффективности неoadъювантной эндокринотерапии и химиотерапии у постменопаузальных больных с гормонозависимым (эр+) раком молочной железы [Текст] / В. Ф. Семиглазов [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 3. – С. 28-37.

120. Рак молочной железы и яичников. Роль наследственных факторов [Текст] / Т. Ю. Смирнова [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 4. – С. 90-96.

121. Редкие клинические случаи метастазирования рака молочной железы у собак [Текст] / М. Н. Якунина [и др.] // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные. – 2010. – № 1. – С. 6-9.

122. Рекомендации по применению бисфосфонатов при лечении больных раком молочной железы и изучение состояния костной ткани у больных (asco) часть I. Рекомендации по применению бисфосфонатов в лечении рака молочной железы [Текст] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 2. – С. 14-22.

123. Рецепторы эстрогена, прогестерона и белок HER-2/neu при РМЖ у молодых пациенток [Текст] / Л. М. Захарцева [и др.] // Матеріали ХІ з'їзду онкологів України; 29 травня-2 червня 2006 р. – Судак, 2006. – С. 80.

124. Родионов, В. В. Выживаемость больных раком молочной железы в Ульяновской области [Текст] / В. В. Родионов, А. В. Суетин // Практическая медицина. – 2009. – № 4 (36). – С. 54-56.

125. Роль лучевой терапии в программе комплексного лечения больных раком молочной железы [Текст] / И. А. Гладилина [и др.] // Маммология. – 2005. – № 1. – С. 31-35.

126. Роль Фулвестранта в эндокринной терапии распространенного рака молочной железы [Текст] / J. F. Robertson [et al.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 1. – С. 33-40.

127. Сагындыкова, Ч. Ж. Метастазы рака молочной железы в орган зрения [Текст] / Ч. Ж. Сагындыкова, А. Р. Жумабаев // Вестник Кыргызско-Российского славянского университета. – 2008. – Т. 8, № 11. – С. 167-169.

128. Самиева, Н. М. Влияние проживания в городе и селе на риск развития рака молочной железы [Текст] / Н. М. Самиева // Вестник Кыргызско-Российского славянского университета. – 2007. – Т. 7, № 9. – С. 80-83.

129. Семиглазов, В. Ф. Неинвазивные и инвазивные опухоли молочной железы [Текст] / В. Ф. Семиглазов, В. В. Семиглазов, А. Е. Клецель. – Санкт Петербург, 2006. – 349 с.

130. Семиглазов, В. Ф. Неoadьювантне и адьювантне лечење рака молочної залози [Текст] / В. Ф. Семиглазов, В. В. Семиглазов, А. Е. Клетсель. – Москва : Мед. информ. агентство, 2008. – 288 с.

131. Семиглазов, В. Ф. Стандарты адьювантной эндокринотерапии рака молочной железы [Текст] / В. Ф. Семиглазов, В. В. Семиглазов // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 1. – С. 5-11.

132. Седаков, І. Є. Морфологічні критерії діагностики, оцінка ефективності і прогноз при комбінованому лікуванні місцево-поширеного первинно-неоперабельного раку молочної залози [Текст] / І. Є. Седаков // Український медичний альманах. – 2004. – Т. 7, № 3. – С. 133-137.

133. Седаков, І. Є. Селективна внутрішньоартеріальна поліхіміотерапія в комплексному лікуванні первинно-неоперабельного раку молочної залози [Текст] : автореф. дис. ... доктора мед. наук : 14.01.07 : захищена 22.12.2004 : затв. 04.2005 / Седаков Ігор Євгенович. – Донецьк, 2004. – 42 с.

134. Смена фенотипа рака молочной железы (er, PR, HER2) после неoadьювантного лечения [Текст] / В. О. Башлык [и др.] // Медицинский совет. – 2018. – № 10. – С. 146-149.

135. Смоланка, І. І. Шляхи підвищення ефективності комплексного лікування хворих на рак молочної залози [Текст] / І. І. Смоланка, С. Ю. Скляр. – Київ: Сталь, 2007. – 192 с.

136. Соболевский, В. А. Одномоментные реконструктивные операции при раке молочной железы [Текст] / В. А. Соболевский // Вестник Московского онкологического общества. – 2010. – № 4. – С. 7.

137. Современные принципы лечения хронического болевого синдрома у больных раком молочной железы [Текст] / З. В. Павлова [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 3. – С. 4-9.

138. Сопряжённость параметров иммунного статуса с эффективностью неoadьювантной терапии рака молочной железы [Текст] / Я. В. Кухарев [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2010. – № S1. – С. 65-66.

139. Состояние гормонального статуса больных раком молочной железы при генерализации заболевания [Текст] / М. Р. Гильмутдинова [и др.] // Практическая медицина. – 2007. – № 2 (21). – С. 19-20.

140. Сочетанная интраоперационная и дистанционная лучевая терапия в органосохраняющем лечении рака молочной железы [Текст] / Е. М. Слонимская [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 3. – С. 26-28.

141. Сравнительная гигиеническая оценка канцерогенного риска здоровью населения проживающего, на территориях с различным уровнем заболеваемости раком молочной железы [Текст] / В. М. Боев [и др.] // Уральский медицинский журнал. – 2019. – № 4 (172). – С. 9-13.

142. Стенина, М. Б. Рак молочной железы: некоторые важные научные события и выводы последних лет [Текст] / М. Б. Стенина // Практическая онкология. – 2005. – Т. 6, № 1. – С. 26-31.

143. Строяковский, Д. Л. Роль лекарственной терапии в лечении раннего рака молочной железы [Текст] / Д. Л. Строяковский // Вестник Московского онкологического общества. – 2010. – № 4. – С. 5-6.

144. Таловский, Я. Р. Вариант одномоментной реконструкции при раке молочной железы [Текст] / Я. Р. Таловский, С. В. Сидоров // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2006. – Т. 4, № 2. – С. 48-51.

145. Ткаченко, Г. А. Качество жизни больных раком молочной железы после первичных реконструктивно-пластических операций [Текст] / Г. А. Ткаченко, В. А. Яковлев, Х. С. Арсланов // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2007. – № 3. – С. 14-17.

146. Трофимова, О. П. Лучевая терапия – обязательный компонент лечения после органосохраняющих операций по поводу рака молочной железы [Текст] / О. П. Трофимова // Вестник Московского онкологического общества. – 2010. – № 4. – С. 5.

147. Тюляндин, С. А. Asco 2005: рак молочной железы [Текст] / С. А. Тюляндин // Маммология. – 2005. – № 1. – С. 74-80.
148. Ультразвуковой скрининг рака молочной железы у больных фиброзно-кистозной болезнью: скорректированные данные [Текст] / И. В. Ключкин [и др.] // Практическая медицина. – 2007. – № 2 (21). – С. 16-18.
149. Фисенко, Е. П. Изменения кровотока как критерий диагностики рака молочной железы [Текст] / Е. П. Фисенко // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2009. – Т. 15, № 1. – С. 33-40.
150. Химиочувствительность первично-множественного синхронного рака молочных желез к неoadъювантной химиотерапии [Текст] / А. Д. Зикиряходжаев [и др.] // Research'n Practical Medicine Journal. – 2018. – Прил. – С. 139.
151. Хусаинова, Г. Н. Значения гормонального статуса и клинко-иммуноморфологических критериев для оценки отдаленных результатов лечения больных раком молочной железы [Текст] / Г. Н. Хусаинова, И. Г. Гатауллин // Креативная хирургия и онкология. – 2010. – № 1. – С. 57-59.
152. Цитологический атлас: Диагностика заболеваний молочной железы [Текст] / И. П. Шабалова [и др.]. - Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2005. – 119 с.
153. Шамилов, Ф. А. Динамика субпопуляций интратуморальных лимфоцитов при иммунокорректирующей терапии рака молочной железы [Текст] : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.12 : защищена 24.10.2014 ; утв. 02.2015 / Шамилов Фархад Азерович. – Москва, 2014. – 26 с.
154. Шарашова, Е. Е. Применение регрессии Кокса в здравоохранении с использованием пакета статистических программ SPSS [Текст] / Е. Е. Шарашова // Наука и здравоохранение. – 2017. – № 6. – С. 5-27.
155. Экспрессия генов цитохромов р450 опухоли у больных с раком молочной железы [Текст] / Т. А. Середина [и др.] // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2010. – Т. 8, № 2. – С. 13-17.

156. Экспрессия мРНК гена *brca1* в опухолях молочной железы как предиктор ответа на неoadъювантную химиотерапию [Текст] / М. М. Цыганов [и др.] // Успехи молекулярной онкологии. – 2018. – Т. 5, № 1. – С. 53-59.

157. Эпидемиология и некоторые аспекты молекулярной диагностики билатерального рака молочной железы [Текст] / С. А. Бехтерева [и др.] // Успехи молекулярной онкологии. – 2018. – Т. 5, № S4. – С. 13-14.

158. Эпидемиология и скрининг рака молочной железы [Текст] / В. Ф. Семиглазов [и др.] // Вопросы онкологии. – 2017. – Т. 63, № 3. – С. 375-384.

159. Этнические аспекты наследственного рака молочной железы [Текст] / П. А. Гервас [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2019. – Т. 18, № 2. – С. 102-108.

160. Эффективность неoadъювантной химиотерапии у больных отечно-инфильтративным раком молочной железы [Текст] / Д. В. Комов [и др.] // Современные технологии в медицине. – 2010. – № 1-1. – С. 21-25.

161. Юрашко, К. В. Современные аспекты применения Таксотера® при диссеминированном раке молочной железы [Текст] / К. В. Юрашко, В. А. Горбунова, В. М. Самойленко // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 1. – С. 41-44.

162. A Strong Candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA [Text] / Y. Miki [et al.] // Science. – 1994. – Vol. 266. – P. 66.

163. A systematic review of the effectiveness of magnetic resonance imaging (MRI) as an addition to mammography and ultrasound in screening young women at high risk of breast cancer [Text] / S. J. Lord [et al.] // European Journal of Cancer. – 2007. – Vol. 43, N 13. – P. 1905-1917.

164. Abeloff, Martin D. Abeloff's Clinical Oncology [Text] / Martin D. Abeloff, James O. Armitage. – 4th ed. – Philadelphia, 2008. – Chapter 95. DOI: 10. 1016/b978-0-443-06694-8. 50099-3.

165. Adjuvant therapy of breast cancer with docetaxel-containing combination (TAC) [Text] / K. Boer [et al.] // *Pathol. Oncol. Res.* – 2003. – Vol. 9, № 3. – P. 166–169.
166. Analysis of Intratumoral Heterogeneity and Amplification Status in Breast Carcinomas With Equivocal (2+) HER-2 Immunostaining [Text] / J. Lewis [et al.] // *American Journal of Clinical Pathology.* – 2005. – Vol. 124, N 2. – P. 273-281.
167. Applying the 2011 St Gallen panel of prognostic markers on a large single hospital cohort of consecutively treated primary operable breast cancers [Text] / O. Brouckaert [et al.] // *Ann Oncol.* – 2012. – Vol. 23, N 10. – P. 2578-2584.
168. Assessment of false-negative cases of breast MR imaging in women with a familial or genetic predisposition [Text] / I. M. Obdeijn [et al.] // *Breast Cancer Research and Treatment.* – 2010. – Vol. 119, N 2. – P. 399-407.
169. Association of risk-reducing surgery in BRCA1 or BRCA2 mutation carriers with cancer risk and mortality [Text] / S. M. Domchek [et al.] // *JAMA.* – 2010. – Vol. 304, N 9. – P. 967-975.
170. BRCA 1 founder mutations: population genetics and genome evolution. BCLC Familial [Text] / C. Szabo [et al.] // *Cancer.* – 2003. – Vol. 2. – P. 177-178.
171. BRCA1 and BRCA2 gene linkage [Text] / L. Verhoog [et al.] // *JCO.* – 1999. – Vol. 17. – P. 3396-3402.
172. BRCA1 and BRCA2 mutations in women of different ethnicities undergoing testing for hereditary breast-ovarian cancer [Text] / M. J. Hall [et al.] // *Cancer.* – 2009. – Vol. 115, N 10. – P. 2222-2233.
173. BRCA1/2 testing: Complex themes in result interpretation / B. N. Peshkin [et al.] // *Journal of Clinical Oncology.* – 2001. – Vol. 19, N 9. – P. 2555–2565.
174. Breast and ovarian cancer penetrance estimates derived from germline multiple-gene sequencing results in women [Text] / A. W. Kurian [et al.] // *JCO Precision Oncology.* – 2017. – DOI: 1200/PO. 16. 00066.

175. Breast cancer risk among male BRCA1 and BRCA2 mutation carriers [Text] / Y. C. Tai [et al.] // Journal of the National Cancer Institute. – 2007. – Vol. 99, N 23. – P. 1811-1814.
176. Breast Conservation After Neoadjuvant Chemotherapy: The M. D. Anderson Cancer Center Experience [Text] / A. M. Chen [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 2004. – Vol. 22. – P. 2303-2312.
177. Breast-cancer risk in families with mutations in PALB2 / A. C. Antoniou, [et al.] // New England Journal of Medicine. – 2014. – Vol. 371, N 6. – P. 497-506.
178. Campeau, P. M. Hereditary breast cancer: New genetic developments, new therapeutic avenues [Text] / P. M. Campeau, W. D. Foulkes, M. D. Tischkowitz // Human Genetics. – 2008. – Vol. 124, N 1. – P. 31-42.
179. Campone, M. Neoadjuvant therapy in breast cancer [Text] / M. Campone, J. Frenel // Clinical Insights: Neoadjuvant Therapy in Breast Cancer. – 2014. – P. 2-4. DOI:10.2217/ebo.13.694
180. Cavanagh, H. The role of BRCA1 and BRCA2 mutations in prostate, pancreatic and stomach cancers [Text] / H. Cavanagh, K. M. Rogers // Hereditary Cancer in Clinical Practice. – 2015. – Vol. 13, N 1. – P. 16.
181. Dana, Carmen Zaha. Significance of immunohistochemistry in breast cancer [Text] / Carmen Zaha Dana // World Journal of Clinical Oncology. – 2014. – Vol. 5, N 3. – P. 382-392.
182. Definition and impact of pathologic complete response on prognosis after neoadjuvant chemotherapy in various intrinsic breast cancer subtypes [Text] / G. Minckwitz, M. Untch, J. U. Blohmer [et al.] // Journal of Clinical Oncology. – 2012. – Vol. 30, N 15. – P. 1796-804.
183. Denison, T. A. Tumor heterogeneity and its implication for drug delivery [Text] / T. A. Denison, Y. H. Bae // J Control Release. – 2012. – Vol. 164. – P. 187-191.
184. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-

negative phenotype: a population-based study from the California cancer Registry [Text] / K. R. Bauer [et al.] // *Cancer*. – 2007. – Vol. 109, N 9. – P. 1721-1728.

185. Discordance in estrogen receptor, progesterone receptor and HER-2/neu status between primary and metastatic breast cancer: A systematic review [Text] / I. Yeung [et al.] // *Cancer Research*. – 2013. – Vol. 73, Suppl. 24. – DOI: 10.1158/0008-5472.sabcs13-p6-05-07.

186. Discordance in receptor status between primary and recurrent breast cancer has a prognostic impact: a single-Institution analysis [Text] / M. Dieci [et al.] // *Annals of Oncology*. – 2012. – Vol. 24, N 1. – P. 101-108. DOI: 10.1093/annonc/mds248.

187. Dowlatshahi, K. Role of Stereotaxis in Diagnosis and Treatment of Breast Tumors [Text] / K. Dowlatshahi, A. Katz // *Breast Cancer*. – 2013. – P. 149-154. DOI: 10.1007/978-1-4614-8063-1_7.

188. Fisher, R. Cancer heterogeneity: implications for targeted therapeutics [Text] / R. Fisher, L. Pusztai, C. Swanton // *Br. J. Cancer*. – 2013. – Vol. 108, N 3. – P. 479-485.

189. Gene Expression Profiles in Paraffin-Embedded Core Biopsy Tissue Predict Response to Chemotherapy in Women with Locally Advanced Breast Cancer [Text] / L. Gianni [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2005. – Vol. 26. – P. 254-259.

190. Harbeck, N. Adjuvant chemotherapy in primary carcinoma of the breast [Text] / N. Harbeck // *Zentralbl. Gynakol.* – 2003. – Vol. 125, № 9. – P. 322–326.

191. Harbeck, N. Neoadjuvant therapy in patients with triple negative and HER2 positive early breast cancer [Text] / N. Harbeck // *The Breast*. – 2017. – Vol. 32. – P. S18. DOI: 10.1016/s0960-9776(17)30093-0.

192. Hereditary breast cancer pathobiology, prognosis, and BRCA1 and BRCA 2 gene linkage [Text] / J. Marcus [et al.] // *Cancer*. – 1996. – Vol. 77. – P.697-709.

193. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA 2 [Text] / R. Wooster [et al.] // *Nature*. – 1995. – Vol. 378. – P. 789-792.

194. Impact of Molecular Subtype Conversion of Breast Cancers after Neoadjuvant Chemotherapy on Clinical Outcome [Text] / Siew Kuan Lim [et al.] // *Cancer Res Treat.* – 2016. – Vol. 48, N 1. – P. 133-141.

195. Impact of molecular subtypes classification concordance between preoperative core needle biopsy and surgical specimen on early breast cancer management: Single-institution experience and review of published literature [Text] / I. Meattini [et al.] // *Eur J Surg Oncol.* – 2017. – Vol. 43, N 4. – P. 642-648.

196. Impact of oophorectomy on cancer incidence and mortality in women with a BRCA1 or BRCA2 mutation [Text] / A. P. Finch [et al.] // *Journal of Clinical Oncology.* – 2014. – Vol. 32, N 15. – P. 1547-1553.

197. Inflammatory breast cancer: the disease, the biology, the treatment [Text] / F. M. Robertson [et al.] // *CA Cancer J. Clin.* – 2010. – Vol. 60, N 6. – P. 351-375.

198. Ki67 index, Her2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer [Text] / M. C. Cheang [et al.] // *J. Natl. Cancer. Inst.* – 2009. – Vol. 101. – P. 736-750.

199. Kurian, A. W. BRCA1 and BRCA2 mutations across race and ethnicity: distribution and clinical implications [Text] / A. W. Kurian // *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology.* – 2010. – Vol. 22, N 1. – P. 72-78.

200. Levy-Lahad, E. Cancer risks among BRCA1 and BRCA2 mutation carriers [Text] / E. Levy-Lahad, E. Friedman // *British Journal of Cancer.* – 2007. – Vol. 96, N 1. – P. 11-15.

201. Low-penetrance genes: heterozygote ATM mutation carriers and breast cancer risk. BCLC Familial [Text] / D. Stoppa-Lyonnet [et al.] // *Cancer.* – 2003. – Vol. 2. – P. 185-186.

202. Mauri, D. Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: a meta-analysis [Text] / D. Mauri, N. Pavlidis, J. P. Loannidis // *J Natl. CancerInst.* – 2017. – Vol. 97, N 3. – P. 188-194.

203. Metcalfe, K. Risk of ipsilateral breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers [Text] / K. Metcalfe, H. T. Lynch, P. Ghadirian // Breast Cancer Research and Treatment. – 2011. – Vol. 127, N 1. – P. 287-296.

204. Molecular Classification and Molecular Forecasting of Breast Cancer: Ready for Clinical Application [Text] / J. Brenton [et al.] // J. Clin. Oncol. – 2005. – Vol. 7. – P. 339-342.

205. Moriya, T. Diagnosis of non-palpable breast cancer (image-detected breast cancer) [Text] / T. Moriya // Breast Cancer. – 2005. – Vol. 12, N 4. – P. 249-249. DOI: 10.2325/jbcs.12.249.

206. Multicenter surveillance of women at high genetic breast cancer risk using mammography, ultrasonography, and contrast-enhanced magnetic resonance imaging (the high breast cancer risk Italian 1 study): final results [Text] / F. Sardanelli [et al.] // Investigative Radiology. – 2011. – Vol. 46, N 2. – P. 94-105.

207. NCCN : Breast Cancer. Version 3 [Electronic resource] / William J. Gradishar [et al.] // Clinical Practice Guidelines in Oncology. – 2017. – Available at: www.nccn.org.

208. Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2+ locally advanced breast cancer (the NOAH trial): a randomized controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort [Text] / L. Gianni [et al.] // Lancet. – 2010. – Vol. 375, N 9712. – P. 377–384.

209. Ng, C. K. Breast cancer intratumor genetic heterogeneity: causes and implications [Text] / C. K. Ng, H. N. Pemberton, J. S. Filho // Expert Rev Anticancer Ther. – 2012. – Vol. 12, N 8. – P. 1021-1032.

210. Nishimura, R. Is triple negative a prognostic factor in breast cancer? [Text] / R. Nishimura, N. Arima // Breast Cancer. – 2008. – Vol. 15, N 4. – P. 303-308.

211. Nonpalpable breast tumors: diagnosis with stereotaxic localization and fine-needle aspiration [Text] / K. Dowlatshahi [et al.] // Radiology. – 1989. – Vol. 170, N 2. – P. 427-433. DOI: 10.1148/radiology.170.2.2643141

212. Pater, J. L. Optimal Chemotherapy for Women Breast Cancer. The Plot Thickens [Text] / J. L. Pater, K. I. Pritchard // J. Clin. Oncol. – 2003. – Vol. 21, № 6. – P. 963-964.

213. Pathologic complete response predicts recurrence-free survival more effectively by cancer subset: results from the I-SPY 1 TRIAL-CALGB 150007/150012, ACRIN 6657 [Text] / L. J. Esserman [et al.] // J Clin Oncol. – 2012. – Vol. 30, N 26. – P. 3242–3249.

214. pCR as a surrogate in HER2–positive patients treated with trastuzumab [Text] / S. Loibl [et al.] // Cancer Res. – 2011. – Vol. 71, (24 suppl). – Abstract.

215. Pedicled myocutaneous and muscle flaps in the management of complicated cardiothoracic problems [Text] / T. Dosios [et al.] // Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery and Hand Surgery. – 2003 – Vol. 37, N 4. – P. 220-224.

216. Primary Tumor in Breast Cancer (BC) and phenotype in positive lymphnodes and later disease recurrence (metastatic breast cancer, MBC): results of the PriMet-trial (WSG / DETECT) [Text] / R. Wuerstlein [et al.] // The Breast. – 2011. – Vol. 20. – P. S22-S23. DOI: 10. 1016/j. breast. 2011. 08. 030

217. Prognostic and predictive relevance of c-erbB-2 and ras expression in node positive and negative breast cancer [Text] / M. Giai [et al.] // Anticancer Res. – 2004. – № 14. – P. 1441-1450.

218. Prognostic factors in Breast cancer [Text] / M. D. Fitzgibbons [et al.] // Arch. pathol. lab. Med. – 2000. – Vol. 124. – P. 966-978.

219. Prognostic impact of discordance between triple-receptor measurements in primary and recurrent breast cancer [Text] / C. Liedtke [et al.] // Annals of Oncology. – 2012. – P. 1953-1958. DOI: 10. 1093/annonc/mdp263

220. Prognostic value of receptor status conversion following neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients: a systematic review and meta-analysis [Text] / C. Li [et al.] // Breast Cancer Res. Treat. – 2019. – Vol. 178, Issue 3. – P. 497–504.196

221. Reproductive risk factors for ovarian cancer in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations: A case-control study [Text] / J. R. McLaughlin [et al.] // *Lancet Oncology*. – 2007. – Vol. 8, N 1. – P. 26-34.

222. Risk Assessment, Genetic Counseling, and Genetic Testing for BRCA-Related Cancer in Women: Clinical Summary of USPSTF Recommendation / U. S. Preventive Services Task Force // *Am. Fam. Physician*. – 2015. – Vol. 91, N 2. – Available at : <https://www.aafp.org/afp/2015/0115/od1.html>.

223. Risks of breast, ovarian, and contralateral breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers [Text] / K. B. Kuchenbaecker [et al.] // *JAMA*. – 2017. – Vol. 317, N 23. – P. 2402-2416.

224. Screening for familial ovarian cancer: Poor survival of BRCA1/2 related cancers [Text] / D. G. Evans [et al.] // *Journal of Medical Genetics*. – 2009. – Vol. 46, N 9. – P. 593-597.

225. SEER Cancer Statistics Review, 1975- 2014, National Cancer Institute / N. Howlader [et al.]. – Bethesda, MD, 2017. – Available at : https://seer.cancer.gov/csr/1975_2014/, based on November 2016 SEER data submission.

226. Skalova, H. Changes in HER2 status after neoadjuvant treatment of breast cancer [Text] / H. Skalova, P. Dunder, C. Povysil // *J. Clin. Oncol.* – 2011. – Vol. 29 (Suppl. 2011 ASCO Annual Meeting). – Abstr. 11110.

227. Sorlie, T. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications [Text] / T. Sorlie, C. M. Perou, R. Tibshirani // *Proc. Natl. Acad. Sci U S A*. – 2001. – Vol. 98. – P. 10869-10874.

228. Spectrum of mutations in BRCA1, BRCA2, CHEK2, and TP53 in families at high risk of breast cancer [Text] / T. Walsh [et al.] // *JAMA*. – 2006. – Vol. 295, N 12. – P. 1379-1388.

229. Steroid receptors in hereditary breast carcinomas associated with BRCA 1 or BRCA 2 mutations or unknown susceptibility genes [Text] / N. Loman [et al.] // *Cancer*. – 1998. – Vol. 83. – P. 310-319.

230. Strategies for subtypes—dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2011 [Text] / A. Goldhirsch [et al.] // *Ann Oncol.* – 2011. – Vol. 22. – P. 1736-1747.

231. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes [Text] / J. S. Parker [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2009. – Vol. 27. – P. 1160-1167.

232. Tacca, O. Neoadjuvant chemotherapy (NCT) in 710 patients for operable breast cancer: Variation changing in hormonal receptors (HR) status [Text] / O. Tacca, F. Penault-Llorca, C. Abrial // *Journal of Clinical Oncology.* – 2006. – Vol. 24, No. 18 (Part I. Suppl. 2006 ASCO Annual Meeting Proceedings). – P. 673.

233. Tamoxifen and breast cancer incidence among women with inherited mutations in BRCA1 and BRCA2: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP–P1) Breast Cancer Prevention Trial [Text] / M. C. King [et al.] // *JAMA.* – 2001. – Vol. 286, N 18. – P. 2251-2256.

234. Tamoxifen and contralateral breast cancer in BRCA1 and BRCA2 carriers: An update [Text] / J. Gronwald [et al.] // *International Journal of Cancer.* – 2006. – Vol. 118, N 9. – P. 2281-2284.

235. Tamoxifen and risk of contralateral breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers [Text] / K. A. Phillips [et al.] // *Journal of Clinical Oncology.* – 2013. – Vol. 31, N 25. – P. 3091-3099.

236. Tavassoli, F. A. Pathology and genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs [Text] / F. A. Tavassoli, D. Devilee. – Lyon : IARC Press, 2003. – Vol. IV. – 255 p.

237. The Global Breast Cancer Burden: Variations in Epidemiology and Survival [Text] / G. Hortobagyi [et al.] // *Clinical Breast Cancer.* – 2005. – Vol. 6, N 5. – P. 391-401. DOI: 10.3816/cbc.2005.n.043.

238. The role of immunohistochemistry in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy: an old tool with an enduring prognostic value [Text] / A. Sánchez-Muñoz [et al.] // *Clin Breast Cancer.* – 2013. – Vol. 13, N 2. – P. 146-152.

239. The variability of estrogen receptors in metastatic breast cancer [Text] / M. Brennan [et al.] // *The American Journal of Surgery*. – 1979. – Vol. 137, N 2. – P. 260-262. DOI: 10. 1016/0002-9610(79)90159-4.
240. Theillet, C. What do we learn from Her2-positive breast cancer genomic profiles [Text] / C. Theillet // *Breast Cancer Res.* – 2010. – Vol. 12, N 3. – P. 107.
241. Therapy of breast cancer with molecular targeting agents [Text] / G. Gasparini [et al.] // *Ann Oncol.* – 2005. – № 16, (suppl 4). – P. 28-36.
242. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer [Text] / M. J. Piccart-Gebhart [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 353. – P. 1659-1672.
243. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer [Text] / E. H. Rond [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 353. – P. 1673-1684.
244. Vaughan, C. Diagnosing breast cancer: an opportunity for innovative engineering / C. Vaughan, M. Evans // *South African Medical Journal*. – 2012. – Vol. 102, N 6. – P. 562. DOI: 10. 7196/samj. 5607.