

На правах рукописи

Христенко Ксения Юрьевна

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ
ПАРАМЕТРЫ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ХИМИОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ
РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

14.01.12 – онкология

14.03.02 – патологическая анатомия

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Томск - 2016

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Томский научно-исследовательский институт онкологии»

Научные руководители:

доктор медицинских наук, доцент
Вторушин Сергей Владимирович

доктор биологических наук
Литвяков Николай Васильевич

Официальные оппоненты:

Криворотько Петр Владимирович, доктор медицинских наук, заведующий хирургическим отделением опухолей молочной железы Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России

Агеева Татьяна Августовна, доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

Защита состоится «__» _____ 2016 г. в __ часов на заседании диссертационного совета Д 001.032.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Томский научно-исследовательский институт онкологии» (634050, г. Томск, пер. Кооперативный, 5).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Томского НИИ онкологии www.oncology.tomsk.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор



Фролова И.Г.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Рак молочной железы (РМЖ) занимает первое место в структуре онкологической заболеваемости у женщин. В мире ежегодно регистрируют более 1 млн. случаев с впервые выявленным РМЖ, и каждый год более 600 тыс. больных погибают от этого заболевания (Кулигина Е.Ш., 2011; Давыдов М.И., Аксель Е.М., 2012; De Santis C. et al., 2011; Lakhani S.R., Lion, 2012; Youlden D.R. et al., 2012).

В последние годы подходы к лечению РМЖ претерпели значительные изменения. Это касается как ранней диагностики данной онкологической патологии, так и разработки новых подходов к химиотерапии (ESMO, 2010; Gampenrieder S.P. et al., 2013; Redden M.H., Fuhrman G.M., 2013).

На сегодняшний день при лечении РМЖ возможны два вида проводимой химиотерапии: неоадьювантная и адьювантная. Проведение неоадьювантной химиотерапии и последующей операции позволяет определить чувствительность опухоли к той или иной схеме лекарственного воздействия, что дает возможность осуществить последующую коррекцию адьювантной химиотерапии (Wind N. S., Holen I., 2011; Cazzanida M., Bonanni B., 2012; Gampenrieder S.P. et al., 2013; von Minckwitz G., 2013). Несмотря на длительную историю неоадьювантной химиотерапии, многие ее аспекты остаются неясными. Современные схемы лечения с применением антрациклинов и таксанов у 70% больных приводят к ответу опухоли на противоопухолевые препараты. Однако планирование данного вида лечения и продолжительности проводится эмпирически и оценка чувствительности к терапии в большей степени основана на клиническом ответе опухоли уже в процессе лечения, либо констатируется при морфологическом исследовании операционного материала (Семиглазов В.Ф. с соавт., 2010). Рядом исследователей показано, что достижение полного клинического ответа не означает морфологического исчезновения первичной опухоли и регионарных метастазов. Так, только у 3–30% пациентов с инвазивным раком молочной железы достигается полный патоморфологический ответ на неоадьювантную терапию, в то время как частичный или полный клинический ответ отмечается у 60–90% (Jones R.L., Smith I.E., 2007; Joerger M., 2013; Redden M.H., Fuhrman G.M., 2013).

Успехи современной молекулярной биологии позволили обнаружить и уточнить роль многих маркеров опухолевых клеток, связанных как с прогнозом заболевания, так и имеющих предсказательное значение в отношении потенциальной чувствительности к различным видам противоопухолевой терапии.

Большое значение на сегодняшний день уделяют определению молекулярно-генетического субтипа РМЖ (Perou C.M. et al., 2000; Sorlie T. et al., 2001). У больных с опухолями люминального типа А, отмечают высокую эффективность терапии тамоксифеном и ингибиторами ароматазы, а также неоадьювантной химиотерапии (доксирубицин, паклитаксел, фторурацил, циклофосфамид) (Parker J.S., Mullins M., Cheang M.C., 2009). [201]. Молекулярные типы люминальный В и трижды-негативный чувствительны к стандартным химиотерапевтическим схемам (Cheang M.C., Chia S.K., Voduc D., Gao D., Leung S., 2009; Anders C.K., Carey L.A., 2009). При HER2-позитивном типе эффективно адьювантное назначение трастузумаба, но не эффективна гормональная терапия (Theillet C., 2010).

Несмотря на широкое использование данной классификации в клинической практике, она имеет ряд недостатков, затрудняющих индивидуальное прогнозирование прогрессии РМЖ и планирование нео- и адьювантной терапии (Кулигина Е.Ш., 2010). Эффективность к химиотерапии нередко ограничивается наличием или возникновением множественной лекарственной устойчивости (Wind N.S., Holen I., 2011).

Феномен множественной лекарственной устойчивости характеризуется возникновением широкой кросс-резистентности клеток к веществам различным по структуре и механизму действия (Beidler J.L., Reihm H., 1970; Stavrovskaya A.A., 2000). Согласно современным данным феномен формируется посредством нескольких молекулярных механизмов, которые работают как самостоятельно, так и в унисон друг с другом, но чаще всего главенствует какой-то один

механизм. На первый план выходят три основных механизма, участие которых в развитии резистентности к химиотерапии доказано для ряда злокачественных опухолей: во-первых, экспрессия опухолевыми клетками мембранных белков-транспортеров; во-вторых, активация ферментов системы глутатиона; в-третьих, действие белков системы апоптоза (Stavrovskaya A.A., 2000; Coley H.M., 2008; Jones P.M., O'Mara M.L., George A.M., 2009; Baguley B.C., 2010; Wind N.S., 2011; Wu C.P., 2011; Bar J., 2010; Fukuda Y., Schuetz J.D., 2012; Videira M., Reis R.L., Brito M.A., 2014; Kathawala R.J. et al., 2015; Wikens S., 2015).

Впервые связь мембранных белков-транспортеров с феноменом лекарственной устойчивости была показана в исследованиях лаборатории Victor Ling (1979) при изучении белка, названного Р-гликопротеин (Pgp). Как и все белки множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) Pgp осуществляет выброс цитостатических препаратов из опухолевых клеток против градиента концентрации с затратой энергии АТФ, поэтому белки МЛУ относят к семейству ABC-транспортеров (ATP-Binding Cassette Transporters). Pgp кодируется геном *MDR-1* и последние исследования показывают, что Pgp играет роль в увеличении апоптотического порога клетки (Huh H.J., Park C.J., Jang S. et al., 2006). Pgp демонстрирует широкую специфичность к веществам с различной структурой и соответственно определяет устойчивость клеток к большому числу препаратов, таких как антрациклины, эпиподофиллотоксины, таксаны, актиномицин D, циклофосфан, фторурацил (Chang X.B., 2007; Li H. et al., 2008; Sekine J.D., 2009; Pluchino K.M. et al., 2012; Kathawala R.J. et al., 2015).

Белки субсемейства ABCС обеспечивают резистентность примерно к тому же кругу химиопрепаратов, что и Pgp. Данные протеины транспортируют отрицательно заряженные ионы, конъюгированные с молекулой глутатиона. В норме белки MRP1 и MRP2 широко распространены в органах и тканях организма. Признано их участие в развитии феномена лекарственной устойчивости при раке легкого, толстой кишки, молочной железы, мочевого пузыря и простаты, а также при лейкозах (Hooijberg J.H. et al., 1999; Atalay E. et al., 2006; Chen K.G. et al., 2012; Kathawala R.J. et al., 2015).

В исследованиях L.A. Doyle et al. (1998 г.) при изучении ABC-транспортеров в клеточной линии РМЖ (MCF-7/AdrVp), резистентной к даунорубину, топотекану и митоксантрону, удалось выделить новый белок. Он был назван «белком устойчивости рака молочной железы» (breast cancer resistance protein, BCRP) и отнесен к подсемейству G (ген *ABCG2*). Было обнаружено, что перенос этого гена в химиочувствительные клеточные линии индуцирует резистентность к вышеуказанным препаратам при сохранении чувствительности к цисплатину, паклитакселу и винкаалкалоидам. Указанный протеин также был обнаружен в других исследованиях и имеет синонимичные названия MXR (mitoxantrone resistance protein) и ABCP (placental ABC transporter) (Ganghi Y.A., 2009, Wind N. S., Holen I., 2011, Natarajan K. et al., 2012, Mao Q. et al., 2015).

Многие из проведенных на сегодня исследований маркеров лекарственной устойчивости выполнены *in vitro*, а имеющиеся клинические испытания показывают противоречивые результаты роли белков МЛУ в развитии резистентности при раке молочной железы (San Atalay, et al., 2006; Wind N.S., Holen I., 2011).

Не менее важными при развитии феномена МЛУ является действие белков системы апоптоза, в частности мутации гена p53 или активация bcl-2 генов. Следует обратить внимание на то, что нарушение регуляции генов, участвующих в контроле апоптоза, может приводить к приобретению клетками устойчивости к широкому спектру противоопухолевых препаратов – ДНК-тропным агентам (адриамицину, актиномицину D), антиметаболитам (5-фторурацилу), которые широко используются при химиотерапии рака молочной железы (Miyashita T., Reed J.C., 1993; Blagosklonny M.V. et al., 1997; Osbild S., 2006; Scata K.A., El-Deiry W.S., 2007).

Нарушения метаболизма системы глутатиона в организме человека может стать причиной развития злокачественных новообразований, а повышение активности глутатион-S-трансферазы в клетках опухоли приводит к развитию резистентности к ряду химиотерапевтических препаратов (du Toit R.S. et al., 1991). Так, согласно проведенным исследованиям, повышенное количество глутатиона обнаруживается в клеточных линиях,

резистентных к алкилирующим агентам, препаратам платины (Lavigne J.A., 1997, Stavrovskaya A.A., 2000, Ekhart C. et al., 2009, Wang J., Xiao Z., 2012).

При изучении изменений системы глутатиона было доказано возникновение резистентности не только к алкилирующим агентам, но и к антрациклинам и винкристину (препаратам круга Pgp-МЛУ), что может свидетельствовать о существовании общих механизмов регуляции работы генов ABC-транспортеров и генов, участвующих в метаболизме глутатиона (Дедерер Л.Ю. и соавт., 1995; Morrow C.S., Smitherman P.K., Townsend A.J., 2000).

Все вышеизложенное свидетельствует о том, что выделение наиболее значимых молекулярных маркеров, напрямую связанных с механизмами чувствительности и резистентности опухолевых клеток при раке молочной железы, позволит оценивать ожидаемую эффективность неoadъювантной химиотерапии, выбирать действенную схему лечения, а, следовательно, является актуальным научным направлением.

Цель исследования

Изучить связь морфологических и молекулярно-биологических маркеров чувствительности и резистентности опухоли с эффективностью неoadъювантной химиотерапии у больных с инвазивной карциномой молочной железы.

Задачи исследования

1. Изучить эффективность предоперационной химиотерапии у больных с трижды-негативным и люминальным В раком молочной железы в зависимости от клинико-морфологических параметров (возраст пациентки, состояние лимфатических узлов, степень злокачественности опухоли, строение инфильтративного компонента, выраженности стромы и воспалительной инфильтрации).
2. Провести анализ экспрессии белков лекарственной устойчивости ABCB1 (MDR1, Pgp), ABCC1 (MRP1), ABCC2 (MRP2), ABCG2 (BCRP), глутатион-S-трансферазы (GSTP1) в опухоли у больных с трижды-негативным и люминальным В раком молочной железы.
3. Изучить экспрессию протеинов лекарственной устойчивости, маркеров пролиферативной активности и апоптоза в биопсийном материале и оценить их сопряженность со степенью лечебного патоморфоза в опухоли после проведения НАХТ у больных с инвазивным раком молочной железы.
4. Изучить экспрессию белков лекарственной устойчивости в клетках воспалительного инфильтрата стромы инвазивной карциномы молочной железы и проанализировать ее связь с ответом опухоли на неoadъювантную химиотерапию.
5. Определить предсказательную значимость изучаемых морфологических и молекулярных параметров опухоли и разработать математические модели для прогноза эффективности неoadъювантной химиотерапии у пациенток с трижды-негативным и люминальным В подтипами рака молочной железы.

Научная новизна

Впервые показано, что отсутствие мембранной экспрессии BCRP (ABCG2) и Р-гликопротеина (ABCB1), а также низкие уровни данных белков в клетках инвазивной карциномы молочной железы ассоциированы с большей частотой полной морфологической регрессии опухоли при проведении неoadъювантной химиотерапии. Установлено, что эффективность проведения химиотерапии не сопряжена с количеством изученных белков ABC-транспортеров, экспрессируемых в опухоли.

Впервые выявлено, что эффективность неoadъювантной химиотерапии сопряжена не только со степенью инфильтрации иммунокомпетентными клетками в опухоли, но и с наличием в них экспрессии bcl-2 и белков из семейства ABC-транспортеров (MRP2 и Р-гликопротеин).

Показано, что III и IV степень лечебного патоморфоза в первичной опухоли чаще наблюдается при высокой пролиферативной активности клеток опухоли (Ki-67 >35%) и связана с экспрессией онкопротеина p53, позитивной мембранной экспрессией MRP2 (ABCC2) и уровнем мембранной экспрессии Р-гликопротеина (ABCB1) в клетках инвазивной карциномы молочной железы.

Впервые установлено, что частота встречаемости экспрессии различных маркеров лекарственной устойчивости, а также степень выраженности экспрессии данных белков не отличается при трижды-негативном и люминальном В типе рака молочной железы. Степень лечебного патоморфоза в первичной опухоли и эффективность НАХТ существенно не зависит от экспрессии глутатион-S-трансферазы и MRP1 в опухоли.

Впервые установлено, что большая частота развития полной регрессии опухоли сопряжена с отсутствием одновременной гиперэкспрессии мутантного p53 и экспрессии белков ABC-транспортёров в клетках инвазивной карциномы молочной железы. Активирование обеих систем защиты опухоли наблюдалось лишь в 38% наблюдений в группе пациенток с полной регрессией опухоли.

Практическая значимость

В результате проведенного исследования показано, что такие клиничко-морфологические параметры, как III степень злокачественности опухоли, степень выраженности воспалительной инфильтрации в первичной опухоли, отсутствие в инфильтративном компоненте дискретных групп клеток, могут учитываться в качестве дополнительных параметров, определяющих более высокую вероятность достижения полной регрессии опухоли при проведении НАХТ у больных с инвазивным раком молочной железы.

Идентифицированы наиболее информативные белки лекарственной устойчивости из семейства ABC-транспортёров – ABCB1 (P-гликопротеин, Pgp), ABCC2 (MRP2), ABCG2 (BCRP), а также маркер клеточной пролиферации Ki-67, которые могут использоваться в качестве предсказательных параметров для оценки потенциальной чувствительности неоадьювантной химиотерапии у больных с трижды-негативным и люминальным В подтипами рака молочной железы.

Для оценки возможности прогнозирования достижения полных морфологических регрессий у больных трижды-негативным подтипом рака молочной железы разработана математическая модель с чувствительностью 78%, специфичностью 91%. С целью прогноза полной регрессии первичной опухоли у пациенток с люминальным В подтипом разработана математическая модель с чувствительностью 100%, специфичностью 100%.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Белки из семейства ABC-транспортёров, такие как ABCB1 (P-гликопротеин, Pgp), ABCC2 (MRP2), ABCG2 (BCRP) сопряжены с чувствительностью опухоли к неоадьювантной химиотерапии и могут использоваться в качестве предсказательных параметров у больных с трижды-негативным и люминальным В подтипами рака молочной железы.

2. Нарастание степени лечебного патоморфоза в опухоли после проведения предоперационной химиотерапии у пациенток раком молочной железы сопряжено с параметрами пролиферативной активности (Ki-67) и апоптоза (p53), а также уровнем экспрессии белков лекарственной устойчивости в опухолевых клетках.

3. Эффективность неоадьювантной химиотерапии у больных раком молочной железы сопряжена с экспрессией антиапоптотических белков и протеинов семейства ABC-транспортёров (MRP2 и Pgp) в иммунокомпетентных клетках стромы опухоли.

Апробация диссертации

Основные положения диссертации докладывались и обсуждались на VIII съезде онкологов России, 11-13 сентября 2013 г., Санкт-Петербург, Всероссийской научно-практической конференции «Научно-практические аспекты современной онкологии», 31 октября 2013 г., Красноярск; на научно-практической патологоанатомической конференции Южного Урала с участием патологоанатомов других регионов России и СНГ, посвященной 30-летию основания Челябинского областного патологоанатомического бюро «Актуальные вопросы патологоанатомической практики», 10-11 апреля 2014 г., Челябинск; на IX конференции молодых ученых–онкологов, посвященной памяти академика РАМН Н.В. Васильева «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии», 25 апреля 2014 г., Томск; на научно-практической конференции патологоанатомов Южного Урала с участием патологоанатомов других регионов России и СНГ, посвященной 70-летию

Челябинского областного клинического онкологического диспансера, 6-7 февраля 2015 г., Челябинск; на всероссийской конференции молодых ученых-онкологов, посвященной памяти академика РАМН Н.В. Васильева, в рамках II форума молодых ученых U-NOVUS «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии», 22 мая 2015 г., Томск.

Личный вклад автора

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в анализе клинических параметров и результатов лечения пациентов, вошедших в исследование, наборе морфологического материала (биопсийного и операционного), разработке дизайна исследования и проведении морфологических методов исследования, оценке результатов исследования, их статистической обработке, интерпретации, а также подготовке научных публикаций.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, отражающих основные положения диссертации, из них 4 журнальные статьи, 3 из которых в рекомендованных ВАК изданиях, 1 статья в зарубежном журнале, 8 тезисных работ в материалах региональных, всероссийских и международных съездов и конференций.

Внедрение результатов исследования

Выявленные морфологические и молекулярно-биологические факторы прогнозирования ответа опухоли на проводимую неоадьювантную терапию у больных раком молочной железы внедрены для практического применения в отделении патологической анатомии и цитологии, отделении общей онкологии Томского НИИ онкологии и для преподавания раздела «Злокачественные опухоли эпителиального происхождения» на кафедре патологической анатомии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 139 страницах машинописного текста, включает введение, обзор литературы, главу о материалах и методах исследования, главы результатов собственных исследований, обсуждения результатов, выводы. Работа иллюстрирована 30 таблицами и 12 рисунками. Список литературы содержит 287 источников, из них 32 отечественных и 255 зарубежных авторов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клиническая характеристика материала

В исследование были включены случаи от 91 больной инвазивным раком молочной железы T1-4N0-3M0, находящихся на лечении в отделении общей онкологии Томского НИИ онкологии с 2007 по 2014 гг.

Возраст больных составил от 28 до 69 лет (средний возраст – 49,05±9,95 лет). Большая часть пациенток была старше 50 лет – 46 (50,5%), в возрасте от 40 до 50 лет – 28 больных (30,8%), до 40 лет – 17 (18,7%) больных.

У 42 (46,15%) больных менструальная функция была сохранена (средний возраст – 40,5±6,3 лет), а 49 пациенток (53,85%) находилась в менопаузальном периоде (средний возраст – 56,3±5,9 лет).

При поступлении всем больным проводилось обследование, включающее в себя: клинический осмотр, маммографию, УЗИ молочных желез, общий и биохимический анализ крови, оценку состояния свертывающей системы, общий анализ мочи, рентгеновское исследование легких, ЭКГ. Для морфологической верификации диагноза выполнялась биопсия новообразования.

Распространенность заболевания определялась согласно международной классификации по системе TNM (6 Edition AJCC, 2002 г., рекомендована к применению с 2003 г.). Чаще выявлялись ПА (в 47 (51,64%) случаях и ПВ (у 24 (26,37%) больных) стадии заболевания. I, IА, IВ, IС стадии диагностировались реже.

Преобладали опухоли размером от 2 до 5 см, они выявлялись у 72 (79,1%) больных, у 13 (14,3%) женщин размер опухолевого узла составил 1-1,9 см, у 6 (6,6%) – более 5 см.

В 59 наблюдениях (64,8%) опухоли локализовались в наружных квадрантах молочной железы, реже поражались границы квадрантов – 17 (18,7%) и внутренние квадранты – 13 (14,3%).

В дооперационном периоде всем пациенткам проводилась неoadьювантная химиотерапия. 50 пациенток (54,9%) получали полихимиотерапию по схеме FAC (5-фторурацил 500 мг/м² внутривенно в 1-ый день, адриамицин 50 мг/м² внутривенно в 1-ый день, циклофосфамид 500 мг/м² внутривенно в 1-ый день внутривенно; с повторением курсов через 21 день), и 31 пациентка (34%) – САХ (циклофосфан 100 мг/м² внутримышечно в течение 14-ти дней, адриамицин 30 мг/м² внутривенно в 1-й и 8-й дни, капецитабин (кселода) 1000 мг/м² 2 раза в день per os в течение 14-ти дней; проведение курсов через 21 день), на долю схемы полихимиотерапии CMF (циклофосфамид 100 мг/м² в день per os в течение 14 дней, метотрексат 40 мг/м² внутривенно в 1-й и 8-й дни, 5-фторурацил 600 мг/м² внутривенно в 1-й и 8-й дни, проведение курсов через 28 дней) приходится 10 пациенток (11, 1%).

Количество проведенных курсов варьировалось от 2 до 4, большая часть пациенток 24 (26%) и 51 (56%) получили 2 и 4 курса неoadьювантной химиотерапии соответственно.

Оценка эффективности неoadьювантной химиотерапии осуществлялась с использованием шкалы RECIST (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors, 2000), в основе которой лежит измерение диаметра опухоли на основе результатов клинического осмотра, УЗИ молочных желез и маммографии. Согласно шкале выделяют следующие эффекты: полная регрессия (полный ответ, complete response) – исчезновение всех поражений; частичная регрессия (partial response) – уменьшение исходного максимального диаметра очагов на 30% и более; прогрессирование – увеличение исходного максимального диаметра очагов на 20% или более либо возникновение новых очагов; стабилизация – незначительные изменения исходного максимального диаметра очагов, не позволяющие расценить результат как частичную регрессию или прогрессирование.

Морфологические методы исследования

Выполнялось морфологическое изучение биопсийного и операционного материала. Взятые образцы помещались в 10% рН-нейтральный формалин. Общая продолжительность фиксации была не более 18-24 часов. Материал проводился по стандартной методике и заливался в парафин. С парафиновых блоков готовили серийные срезы толщиной 4-5 мкм. Для окрашивания микропрепаратов применяли растворы красителей гематоксилина и эозина, приготовленные по общепринятым прописям. Морфологическое исследование проводилось с помощью светового микроскопа фирмы Carl Zeiss – «Axioscope A1». Фотографирование микропрепаратов осуществляли с использованием цифровой камеры AxioCam MRc5 с программой компьютерной обработки изображений AxioVision 4.6.3 (Carl Zeiss).

Диагноз рака молочной железы устанавливался согласно «Гистологической классификации опухолей молочной железы» (ВОЗ, 2012). Определялась принадлежность опухоли к гистологическому типу. У 82 (90%) больных был выставлен диагноз инвазивной карциномы неспецифического типа, у 4 (4,4%) – инвазивной дольковой карциномы, у 5 (5,5%) – выявлены другие формы (слизистый, папиллярный, медулярный, тубулярный). У пациенток с инвазивной карциномой неспецифического типа при исследовании инфильтративного компонента выделяли тубулярные, трабекулярные, микроальвеолярные, солидные структуры, группы клеток, указывалось количество структур в инфильтративном компоненте в каждом случае. Минимально в опухоли мог определяться только один какой-либо тип структур, максимально – четыре выделяемых типа.

Степень злокачественности оценивалась по модифицированной схеме P. Scarff, H. Bloom и W. Richardson (1957) в модификации С.W. Elston (1991) на основании оценки количества тубулярных структур, митозов и выраженности клеточного полиморфизма.

Соотношение паренхиматозного и стромального компонентов новообразования оценивалось по процентному соотношению с использованием трех балльной системы. Одним баллом (слабо выраженный фиброз) оценивали случаи, когда доля паренхиматозного компонента превышала 70%, двумя баллами (умеренно выраженный фиброз) – когда доля

паренхиматозного компонента составляла 10–70%, тремя баллами (резко выраженный фиброз) – когда доля паренхиматозного компонента составляла менее 10%.

При морфологическом исследовании ткани операционного материала дополнительно определялась степень лечебного патоморфоза.

Выраженность лечебного патоморфоза в ткани молочной железы и регионарных лимфатических узлах оценивалась по схеме, предложенной Лушниковым Е.Ф. (1977). Схема включает четыре степени патоморфоза: I степень (слабый) – дистрофия отдельных клеток; II степень (умеренный) – очаги некроза + дистрофия клеток; III степень (выраженный) – поля некроза + выраженная дистрофия клеток + единичные атипичные клетки; IV степень (резко выраженный, полный) – тотальный некроз. Диагноз «полная морфологическая регрессия» устанавливался при отсутствии опухолевых элементов, как в ткани молочной железы, так и в исследуемых лимфатических узлах. У 83 (91,21%) пациенток был выявлен лечебный патоморфоз, так I степень обнаружена у 24 (26,37%) больных, II – у 22 (24,18%), III – 15 (16,48%), IV – 22 (29,18%), и только у 8 (8,79%) пациенток реакции опухолевой ткани на проведение химиотерапии не наблюдалось.

Иммуногистохимическое исследование осуществлялось по стандартной методике. Применялись антитела фирмы «Dako» к рецепторам эстрогена (клон 1D5, RTU, мышинные), к рецепторам прогестерона (клон PgR636, RTU, мышинные), к онкопротеину c-erbB-2 (HER2/neu статус) (рабочее разведение 1:500, кроличьи), к Ki-67 (клон MIB-1, RTU, мышинные); фирмы «Novocastra» к p53 (клон CM1, рабочее разведение 1:150), к bcl-2 (клон bcl2/100/D5, рабочее разведение 1:80), к глутатион-S-трансферазе (клон NCL-GSTp1-438, рабочее разведение 1:400); фирмы «Abcam» к Р-гликопротеину (клон JSB-1, рабочее разведение 1:40), к MRP1 (клон MRP1, рабочее разведение 1:20), к MRP2 (клон M2 III-6, рабочее разведение 1:200), к BCRP (клон VXP-21, рабочее разведение 1:20).

Оценка экспрессии рецепторов к половым гормонам проводилась количественным методом гисто-счета (Histo-Score). При этом подсчитывался процент позитивных клеток и показатель экспрессии в баллах (Петров С.В., 2012). HER2/neu негативными считались случаи с отсутствием окрашивания или слабым прерывистым мембранным окрашиванием. К HER2/neu позитивным относили случаи с интенсивным непрерывным мембранным окрашиванием более чем в 30% клеток. Случаи с умеренным непрерывным мембранным окрашиванием более чем в 30% клеток или интенсивным непрерывным мембранным окрашиванием менее чем в 10% клеток, требующие выявления наличия амплификации гена HER2/neu методом FISH или CISH/SISH, не включали в исследование.

Экспрессию p53, bcl-2, Ki-67 оценивали в процентном содержании положительно окрашенных клеток в каждом варианте структур паренхиматозного компонента первичной опухоли. Оценивалось отсутствие или наличие экспрессии bcl-2, p53 в клетках воспалительного инфильтрата и стромы опухоли (0 баллов – отсутствие; 1 балл – наличие экспрессии).

На основании сочетания экспрессии рецепторов к эстрогенам, прогестерону, HER2/neu статуса и Ki-67 определялись 4 основных молекулярно-генетических типа: люминальный А (позитивная экспрессия рецепторов к эстрогенам и/или к прогестерону, негативный HER2/neu статус, экспрессия Ki-67 <20%), люминальный В (позитивная экспрессия рецепторов к эстрогенам и/или к прогестерону, негативный HER2/neu статус, экспрессия Ki-67 ≥20%), трижды-негативный (негативная экспрессия рецепторов к эстрогенам, к прогестерону, негативный HER2/neu статус), тип с гиперэкспрессией HER2/neu (негативная экспрессия рецепторов к эстрогенам, к прогестерону, позитивный HER2/neu статус).

В исследование были включены пациентки с трижды негативным раком молочной железы – 65 (71%), и с люминальным В типом – 26 больные (29%).

Экспрессия белков лекарственной устойчивости: Р-гликопротеина, MRP1, MRP2, BCRP, и глутатион-S-трансферы оценивалась в процентном содержании положительно окрашенных клеток в каждом варианте структур паренхиматозного компонента первичной опухоли (в 10 полях зрения на 1000 клеток при увеличении x400).

Обработка полученных данных выполнялась с использованием пакета программ «Statistica 10.0». При анализе полученных данных были применены методы описательной статистики, дисперсионный анализ (среднее значение M , стандартное отклонение σ). Для расчета достоверности различий применялись непараметрический критерий χ^2 , использовался корреляционно-регрессионный анализ по Спирмену (коэффициент ранговой корреляции r), логистический регрессионный анализ. Обсуждаются результаты с достоверностью различий при $p < 0,05$ и с тенденцией различий при $p < 0,1$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние клиничко-морфологических параметров на эффективность проводимой неоадьювантной химиотерапии у больных инвазивным раком молочной железы

На первом этапе исследования был проведен анализ эффективности НАХТ в зависимости от ряда клиничко-морфологических параметров инвазивного РМЖ. Оценивались возраст, состояние менструальной функции пациенток, размер, локализация клинически выявляемого опухолевого узла, гистологическая принадлежность и характер роста опухоли, степень гистологической злокачественности новообразования, характеристика её стромального компонента и молекулярный подтип рака.

При оценке эффективности НАХТ у больных раком в общей группе частота полных морфологических регрессий составила 23,1%, частичных регрессий – 49,4%, стабилизации процесса наблюдалась в 19,8% случаев и прогрессирование было отмечено у 7,7% пациентов.

В нашем исследовании частота различных эффектов НАХТ не отличалась у пациенток с трижды-негативным и люминальным В подтипами ($\chi^2=1,43$; $p=0,69$). При этом важно отметить, что процент случаев с полной морфологической регрессией опухоли при трижды-негативном подтипе был несколько выше, чем при люминальном В раке, однако данные различия были недостоверны (соответственно: 26% и 15%; $p=0,13$).

Оценка эффективности неоадьювантной химиотерапии в зависимости от возраста пациенток показала, что различия в эффективности проводимого лечения у пациенток разных возрастных групп наблюдаются только при трижды-негативном молекулярном подтипе новообразования ($\chi^2=18,83$; $p=0,004$): наибольшая частота полной регрессии опухоли наблюдалась у пациенток до 40 лет (53%), при этом частичная регрессия значимо чаще выявлена у пациенток в группе старше 50 лет (64%) (рисунок 1). У больных с люминальным В молекулярно-генетическим подтипом подобных различий не обнаружено ($\chi^2=6,3$; $p=0,2$).

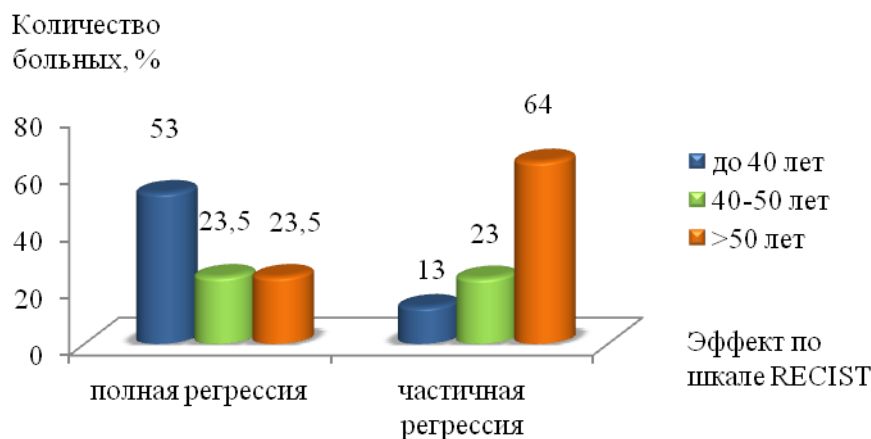


Рисунок 1 – Эффективность проводимой неоадьювантной химиотерапии в зависимости от возраста у пациенток с трижды-негативным молекулярно-генетическим подтипом рака молочной железы

Эффективность проводимой неоадьювантной химиотерапии у больных с инвазивным РМЖ не была сопряжена с состоянием менструальной функции ($\chi^2=2,0$; $p=0,56$)

Был проведен анализ чувствительности к проводимой НАХТ в зависимости от размера первичной опухоли, было показано, что данный параметр не оказывает существенного влияния на эффективность проводимого предоперационного лечения.

Мультицентрический/мультифокусный характер роста опухоли был обнаружен у 18 пациенток при гистологическом исследовании операционного материала. В связи с чем представляло интерес изучить частоту встречаемости различных эффектов от проводимого неoadьювантного лечения, в сравнении с пациентками, рост опухоли у которых был уницентрическим. Были обнаружены некоторые отличия, так частота частичных регрессий первичной опухоли была достоверно выше у пациенток с мультицентрическим характером роста новообразования ($p=0,08$). При этом в данной группе больных отмечалась тенденция к меньшей частоте случаев с полной морфологической регрессией и большая частота случаев с прогрессированием ($p=0,04$).

Проведенный анализ эффективности НАХТ в зависимости от состояния регионарных лимфатических узлов показал, что наличие или отсутствие метастазов в регионарных лимфатических узлах не влияет существенно на чувствительность первичной опухоли к проводимому лечению ($p=0,15$). Количество пораженных метастазами лимфатических узлов также не было сопряжено с эффективностью проводимого лечения ($p=0,38$).

Гистологический тип новообразования не был сопряжен с чувствительностью к проводимой химиотерапии ($\chi^2=3,8$; $p=0,69$).

В случаях инвазивной карциномы неспецифического типа была проведена оценка зависимость эффективности НАХТ от степени гистологической злокачественности инфильтративного компонента. Было обнаружено, что наибольшая частота случаев с полной морфологической регрессией первичной опухоли наблюдалась при третьей степени злокачественности инфильтративного компонента ИКНТ. Данный показатель составил 43% (рисунок 2). Обнаруженная связь наблюдалась как при трижды-негативном, так и при люминальном В молекулярно-генетических подтипах опухоли.

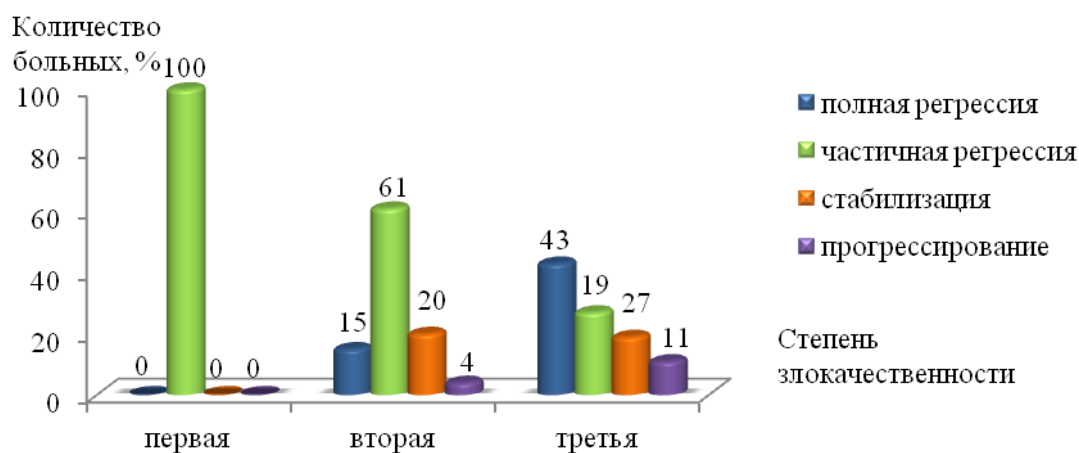


Рисунок 2 – Частота встречаемости различных эффектов НАХТ в зависимости от степени гистологической злокачественности у пациенток с инвазивной карциномой неспецифического типа

Проведенное изучение частоты различных эффектов НАХТ от схемы химиотерапии показало, что достижение полной морфологической регрессии у больных с инвазивным раком молочной железы раком значительно чаще наблюдалось при использовании схемы химиотерапии с включением капецитабина (CAX) по сравнению со стандартной антрациклин-содержащей схемой (FAC) (соответственно: 12% и 42%, $p=0,014$).

Анализ эффективности неoadьювантной химиотерапии в зависимости от количества курсов без учета использованной схемы показал, что наибольшая частота полной и частичной морфологической регрессии наблюдалась при 4 курсах лечения (соответственно: 80% и 55%; $\chi^2=22,11$; $p=0,0011$).

Было показано, что оценка эффективности НАХТ по шкале RECIST в большинстве случаев совпадала со степенью лечебного патоморфоза, оцененного при морфологическом исследовании операционного материала, что проявлялось корреляцией ($r=-0,54$; $p=0,00000$).

Анализ эффективности проводимого лечения в зависимости от степени воспалительной инфильтрации в строме первичной опухоли показал, что большая частота полной морфологической регрессии наблюдается в опухолях, в которых воспалительная инфильтрация умеренная либо выраженная, по сравнению со случаями, когда она отсутствовала либо была минимальной (соответственно: 39% и 16%; $p=0,02$) (рисунок 3). Следует отметить, что обнаруженные различия были однонаправленными при разных молекулярных подтипах опухоли, в связи с чем, данные представлены в общей группе.

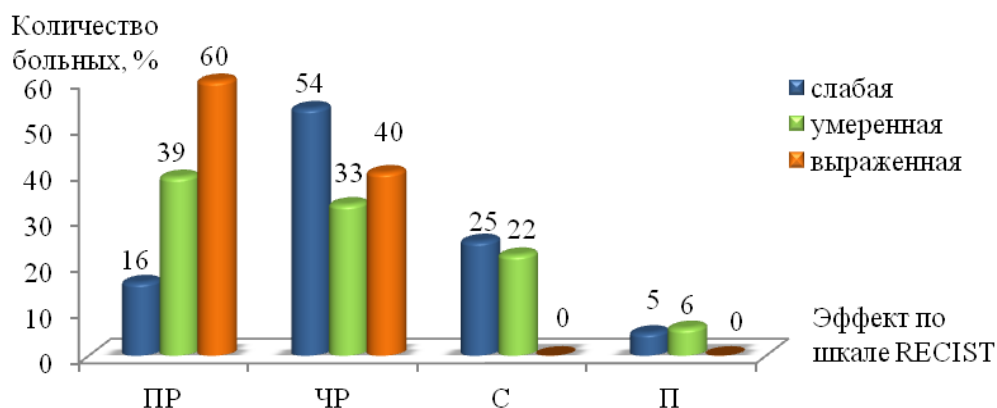


Рисунок 3 – Зависимость эффекта неoadьювантной химиотерапии от степени воспалительной инфильтрации в первичной опухоли при раке молочной железы

* ПР-полная регрессия; ЧР-частичная регрессия; С-стабилизация; П-прогрессирование

Оценка связи эффекта проводимой НАХТ, а также степени лечебного патоморфоза в зависимости от степени выраженности стромального компонента не выявила каких-либо существенных различий (соответственно: эффекты по шкале RECIST – $\chi^2=1,83$; $p=0,2$; степень лечебного патоморфоза в опухоли – $\chi^2=2,43$; $p=0,5$).

Поскольку большинство новообразований было представлено инвазивной карциномой неспецифического типа, было интересным проанализировать эффективность проводимого лечения с морфологическим строением инфильтративного компонента. Оказалось, что эффективность НАХТ не была связана с наличием в инфильтративном компоненте тубулярных ($\chi^2=4,12$; $p=0,72$), трабекулярных ($\chi^2=2,1$; $p=0,8$), альвеолярных ($\chi^2=1,97$; $p=0,89$) и солидных структур ($\chi^2=1,4$; $p=0,79$). Однако было обнаружено, что имеется зависимость между присутствием дискретных групп опухолевых клеток в инфильтративном компоненте ИКНТ и эффективностью химиотерапии, оцененной по шкале RECIST (рисунок 4).

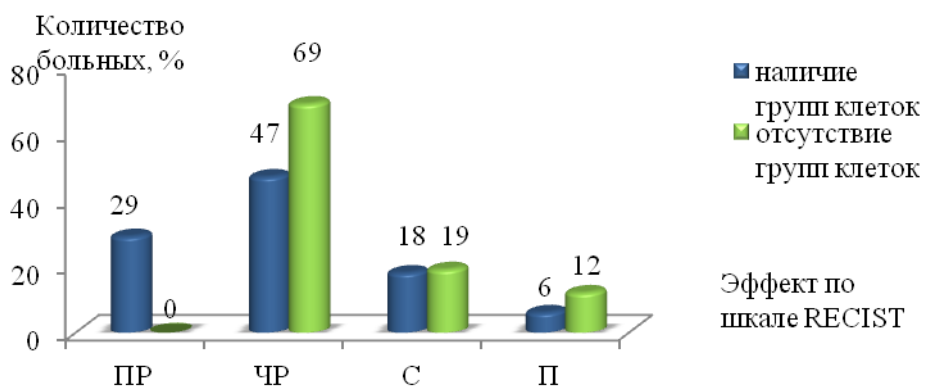


Рисунок 4 – Зависимость эффекта неoadьювантной химиотерапии от наличия или отсутствия в инфильтративном компоненте опухоли дискретных опухолевых клеток у пациенток с инвазивной карциномой неспецифического типа

*ПР-полная регрессия; ЧР-частичная регрессия; С-стабилизация; П-прогрессирование

Как видно из данных, представленных на рисунке, все случаи полной регрессии новообразования наблюдались при отсутствии в инфильтративном компоненте опухоли дискретных опухолевых клеток ($p=0,008$). Следует подчеркнуть, что обнаруженная зависимость наблюдалась у пациенток с трижды-негативным ($p=0,0001$) и люминальным В ($p=0,01$) молекулярно-генетическими подтипами новообразования.

Таким образом, было показано, что лучший ответ на проведение НАХТ у больных с инвазивной карциномой молочной железы в виде достижения полных регрессий сопряжен с III степенью злокачественности опухоли (43%; $p=0,0038$) и с использованием схемы химиотерапии САХ (42%; $p=0,014$). Только при трижды-негативном молекулярном подтипе новообразования большая частота морфологической регрессии опухоли сопряжена с возрастом пациенток до 40 лет ($p=0,002$). Наибольшая частота полной и частичной морфологической регрессии наблюдается при 4 курсах лечения (соответственно: 80% и 55%; $\chi^2=22,11$; $p=0,0011$). Полная регрессия опухоли достоверно чаще наблюдается в новообразованиях, в которых степень воспалительной инфильтрации умеренная либо выраженная, по сравнению со случаями, когда она отсутствует либо минимальна (соответственно: 39% и 16%; $p=0,02$). При инвазивной карциноме неспецифического типа полная морфологическая регрессия первичной опухоли связана с отсутствием в инфильтративном компоненте новообразования дискретных опухолевых клеток ($p=0,008$). Указанная связь наблюдается при трижды-негативном и люминальном В молекулярно-генетических подтипах опухоли.

Частичная регрессия первичной опухоли чаще наблюдается у больных с мультицентрическим раком молочной железы по сравнению с пациентками, рост опухоли у которых был представлен только одним узлом ($p=0,04$).

Влияние параметров пролиферативной активности и апоптоза на эффективность НАХТ у больных инвазивным раком молочной железы

Изучалась сопряженность эффективности НАХТ у больных инвазивной карциномой молочной железы с такими молекулярными параметрами, как маркер клеточной пролиферации Ki-67, маркеры апоптоза (bcl-2, p53) исследуемые в ткани опухоли до проведения лечения.

Анализ пролиферативной активности в первичной опухоли, проведенный до назначения НАХТ, показал, что степень пролиферативной активности существенно не связана с эффектами проводимого лечения, оцененного по шкале RECIST ($p=0,1$). Однако было обнаружено, что имеются различия в показателе пролиферации, оцененному по индексу Ki-67, в зависимости от степени лечебного патоморфоза (рисунок 5). Как представлено на рисунке, III и IV степени лечебного патоморфоза наблюдались в опухолях с наибольшим показателем пролиферативной активности клеток.

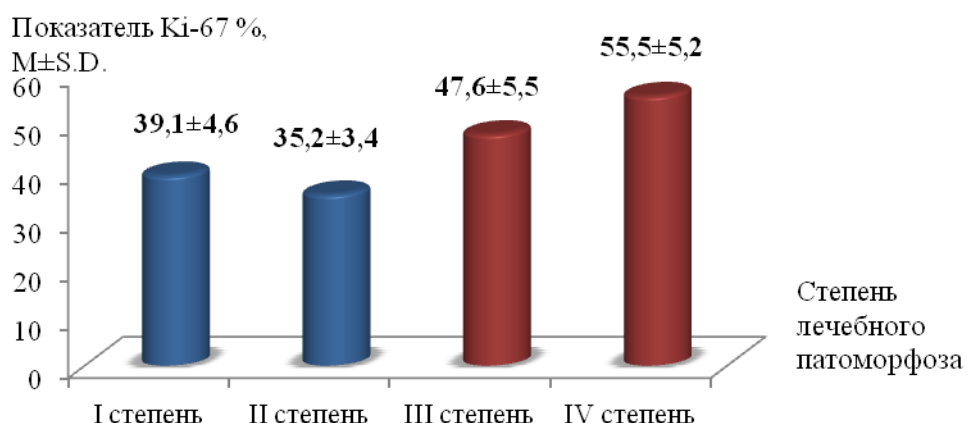


Рисунок 5 – Показатели пролиферативной активности Ki-67 в зависимости от степени лечебного патоморфоза в опухоли у больных с инвазивным раком молочной железы

Анализ ядерной экспрессии онкопротеина p53 в клетках первичной опухоли показал, что показатели экспрессии данного белка в группах пациенток с различным эффектом от проведенной НАХТ существенно не отличались.

Однако степень лечебного патоморфоза коррелировала с показателем ядерной экспрессии онкопротеина p53 в опухолевых клетках инвазивной карциномы молочной железы ($r=0,22$; $p=0,04$). Показатели экспрессии данного белка представлены на рисунке 6.

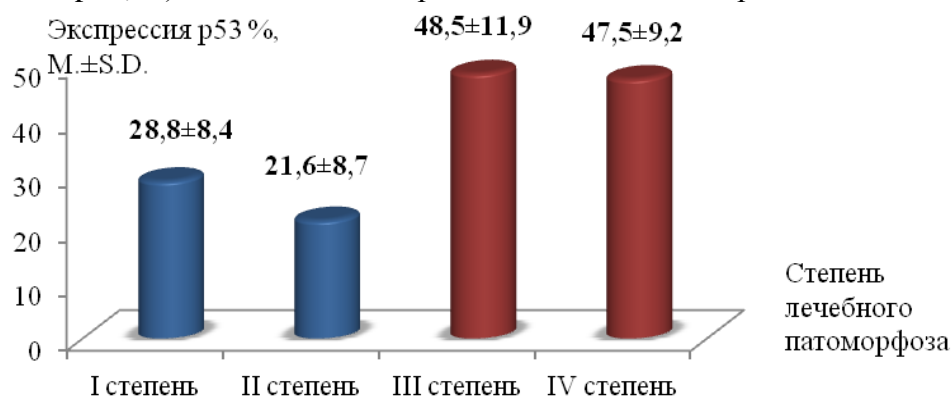


Рисунок 6 – Экспрессия p53 в опухоли у больных с инвазивным раком молочной железы в зависимости от степени лечебного патоморфоза

Анализ экспрессии опухолевыми клетками bcl-2 в первичной опухоли, проведенный до назначения НАХТ, показал, что экспрессия данного белка в клетках не коррелирует с эффектами проводимого лечения, оцененного по шкале RECIST ($r=0,11$; $p=0,28$), и степенью лечебного патоморфоза ($r=0,05$; $p=0,61$).

Поскольку было показано, что чувствительность опухоли к НАХТ зависела от степени воспалительной инфильтрации в строме, было интересно проанализировать экспрессию параметров апоптоза в клетках воспалительного инфильтрата у пациенток с различными эффектами НАХТ и степенью лечебного патоморфоза.

Было обнаружено, что полная морфологическая регрессия первичной опухоли чаще наблюдалась при негативной экспрессии bcl-2 в клетках воспалительного инфильтрата, в то время как стабилизация и прогрессирование опухоли чаще наблюдалось при наличии bcl-2-позитивных иммунокомпетентных клеток (таблица 1). Обнаруженные различия наблюдались для пациенток с трижды-негативным и люминальным В молекулярными подтипами опухоли.

Таблица 1 – Зависимость эффекта неoadьювантной химиотерапии от экспрессии bcl-2 в клетках воспалительного инфильтрата у пациенток с инвазивным раком молочной железы

Эффекты по шкале RECIST	Наличие экспрессии bcl-2 в клетках воспалительного инфильтрата Количество больных (абс. число, %)		p
	1 – нет	2 – да	
Полная регрессия (n=21)	18/40 (45%)	3/51 (6%)	p=0,0001
Частичная регрессия (n=45)	17/40 (42,5%)	28/51 (55%)	p=0,11
Стабилизация (n=18)	4/40 (10%)	14/51 (27%)	p=0,02
Прогрессирование (n=7)	1/40 (2,5%)	6/51 (12%)	p=0,048

Какой-либо связи между экспрессией онкопротеина p53 в клетках воспалительного инфильтрата и эффективностью НАХТ, а также со степенью лечебного патоморфоза в опухоли нами не обнаружено (соответственно: $p=0,41$; $p=0,2$).

Таким образом, было показано, что III и IV степень лечебного патоморфоза в первичной опухоли после проведения неoadьювантной химиотерапии наблюдается при высокой пролиферативной активности клеток опухоли ($F=3,24$; $p=0,01$). Степень лечебного патоморфоза коррелирует с экспрессией онкопротеина p53 в опухоли ($r=0,22$; $p=0,04$) и не зависит от экспрессии антиапоптоического белка bcl-2 ($r=0,05$; $p=0,61$). Большая частота полной морфологической регрессии наблюдается при отсутствии экспрессии bcl-2 в клетках воспалительного инфильтрата ($p=0,0001$).

Изучение влияния экспрессии белков лекарственной устойчивости на эффективность НАХТ у больных инвазивным раком молочной железы

Проведенный анализ частоты экспрессии белков лекарственной устойчивости (GSTP1, Pgp, MRP1, MRP2, BCRP) в зависимости от основных клинико-морфологических параметров рака молочной железы таких, как возраст, состояние менструальной функции, размер первичной опухоли, стадия заболевания, состояние региональных лимфатических узлов, степень гистологической злокачественности опухоли, не выявил существенных отличий.

Частота позитивной экспрессии указанных белков у пациенток с трижды-негативным и люминальным раком типа В также не имела существенных отличий. Показатели исследуемых белков также существенно не отличались у пациенток с трижды-негативным и люминальным раком типа В (таблица 2).

Таблица 2 – Показатели экспрессии GSTP1, Pgp, MRP1, MRP2 BCRP в клетках опухоли у пациенток с различным молекулярно-генетическим подтипами рака молочной железы

Позитивная экспрессия исследуемого белка	Молекулярно-генетический подтип РМЖ (M±S.D.)		p
	Трижды-негативный	Люминальный В	
GSTP1	96,2±1,73	96,2±2,3	p=0,98
Pgp	70,3±8,59	68,8±8,2	p=0,89
MRP1	72,6±5,9	72,7±9,4	p=0,99
MRP2	86,7±5,3	68,2±5,9	p=0,44
BCRP	97,5±8,7	95,8±14,5	p=0,51

Проведенный анализ чувствительности к проводимой НАХТ в зависимости от экспрессии в клетках опухоли GSTP1 не показал существенных различий, поскольку в большинстве наблюдений данный белок экспрессировался. Какой-либо связи с наличием экспрессии GSTP1 в клетках воспалительного инфильтрата новообразования также не обнаружено ($\chi^2=2,5$; $p=0,47$).

Исследование эффектов НАХТ в зависимости от наличия мембранной экспрессии Р-гликопротеина показало существенные различия. Так, было обнаружено, что в 79% случаев негативной мембранной экспрессии данного белка у пациенток наблюдалась полная или частичная регрессия опухоли от проводимого лечения, в 21% – стабилизация либо прогрессирование роста опухоли ($p=0,002$). При позитивной экспрессии данного белка эффективность НАХТ зависела от процента позитивно окрашенных клеток в опухоли.

Согласно данным, представленным на рисунке 7, наибольшие показатели мембранной экспрессии Р-гликопротеина наблюдались при прогрессировании заболевания, наименьший процент позитивных клеток выявлялся в группе больных с полной морфологической регрессией новообразования.

Кроме того, было обнаружено, что позитивная экспрессия Pgp в клетках воспалительного инфильтрата связана с эффективностью НАХТ ($\chi^2=4,2$; $p=0,004$), но не была связана с экспрессией его в стромальных элементах ($p=0,06$). Следует отметить, что

обнаруженная связь наблюдалась в группах больных с трижды-негативными и люминальным В молекулярно-генетическим подтипами.

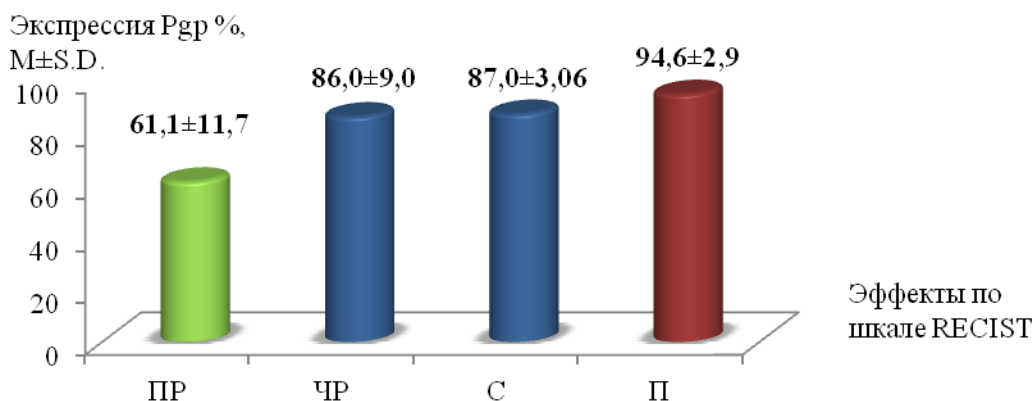


Рисунок 7 – Показатели мембранной экспрессии Р-гликопротеина в клетках опухоли у пациенток различным эффектом НАХТ

*ПР-полная регрессия; ЧР-частичная регрессия; С-стабилизация; П-прогрессирование

Степень лечебного патоморфоза в первичной опухоли после проведения НАХТ также была связана с уровнем мембранной экспрессии Р-гликопротеина в клетках инвазивного рака. Было обнаружено нарастание степени лечебного патоморфоза при более низких показателях экспрессии данного АВС-транспортера в клетках опухоли (I степень – 69,5±8,5%; II степень – 73,6±10,1%; III степень – 80,6±7,7%; IV степень – 51,1±10,9%; F=3,4; p=0,03).

Цитоплазматическая экспрессия Р-гликопротеина в инвазивной карциноме молочной железы не была сопряжена с эффектом от проводимой неоадьювантной химиотерапии (p=0,4) и степенью лечебного патоморфоза в опухоли (p=0,5).

Исследование эффектов НАХТ в зависимости от наличия экспрессии MRP1 не выявило существенных различий. Эффективность НАХТ не была сопряжена с наличием позитивной цитоплазматической экспрессии данного белка ($\chi^2=0,5$; p=0,91), степенью его экспрессии (F=0,64; p=0,6), а также позитивным окрашиванием данного белка в клетках воспалительного инфильтрата опухоли ($\chi^2=3,1$; p=0,37).

Значимым оказались результаты анализа исследования такого белка, как MRP2. Так, было показано, что степень лечебного патоморфоза опухоли сопряжена с мембранной экспрессией MRP2 в клетках опухоли (таблица 3).

Таблица 3 – Зависимость степени лечебного патоморфоза в опухоли от мембранной экспрессии MRP2 в опухолевых клетках инвазивной карциномы молочной железы

Степень лечебного патоморфоза	Мембранная экспрессия MRP2 в клетках опухоли Количество больных (абс. число, %)	
	Негативная	Позитивная
Признаки отсутствуют	3/50 (6%)	5/41 (12%)
I степень	9/50 (18%)	15/41 (36%)
II степень	13/50 (26%)	9/41 (22%)
III степень	12/50 (24%)	4/41 (10%)
IV степень	13/50 (26%)	8/41 (20%)
		$\chi^2=5,9$; p=0,03

Как видно из данных, представленных в таблице, при позитивной мембранной экспрессии данного АВС-транспортера чаще регистрировалась I степень патоморфоза, либо отмечалась тенденция к отсутствию морфологических признаков лечебного воздействия, в то

время как III и IV степень чаще наблюдались при отрицательной экспрессии данного белка. При этом важно отметить, что имел значение сам факт присутствия данного белка в мембране опухолевых клеток, а не количественное выражение экспрессии, поскольку показатели MRP2-позитивных клеток существенно не различались (признаки лечебного патоморфоза отсутствуют – $61,3 \pm 14,9\%$; I степень патоморфоза – $79,7 \pm 6,8\%$; II степень патоморфоза – $81,1 \pm 11,8\%$; III степень патоморфоза – $83,8 \pm 6,85\%$; IV степень патоморфоза – $77,2 \pm 8,2\%$; $F=0,66$; $p=0,62$).

Было также обнаружено, что независимо от молекулярно-генетического подтипа опухоли эффективность НАХТ сопряжена с наличием экспрессии MRP2 в клетках воспалительного инфильтрата первичной опухоли ($\chi^2=4,1$; $p=0,04$), но не связана с присутствием данного ABC-транспортера в стромальных клетках ($\chi^2=1,1$; $p=0,2$).

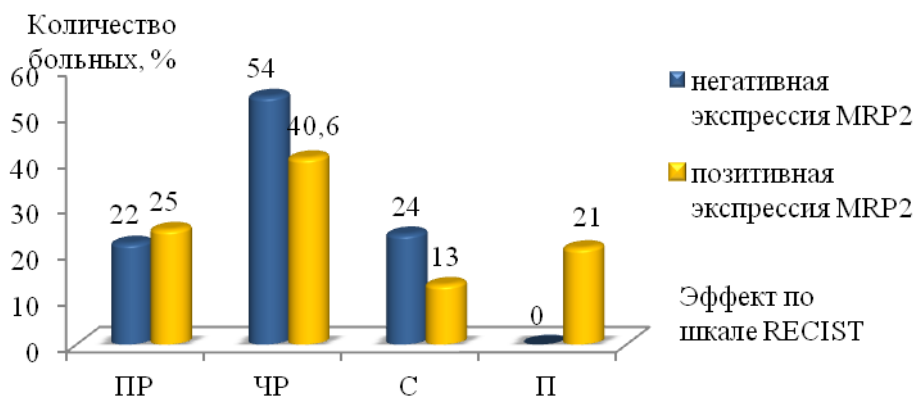


Рисунок 8 – Зависимость эффекта неoadъювантной химиотерапии от экспрессии MRP2 в клетках воспалительного инфильтрата у пациенток с инвазивной карциномой молочной железы *ПР-полная регрессия; ЧР-частичная регрессия; С-стабилизация; П-прогрессирование

Из данных, представленных на рисунке 8, видно, что во всех случаях прогрессирования заболевания отмечалась позитивная экспрессия MRP2, а также отмечается отчетливая тенденция к большей доле случаев с частичной регрессией и стабилизацией роста опухоли при негативной экспрессии MRP2.

Одним из ключевых белков семейства ABC-транспортеров, участвующих в возникновении и развитии феномена множественной лекарственной устойчивости при РМЖ, является BCRP (ABCG2). На первом этапе был проведен анализ частоты встречаемости разных вариантов его экспрессии в клетках опухоли (мембранная, цитоплазматическая, и ядерная экспрессия). В исследовании было показано, что позитивная мембранная экспрессия обнаружена в 54 случаях (59%), цитоплазматическое окрашивание отмечено в 88 опухолях (96%), и лишь в 10 наблюдениях регистрировалась aberrантное ядерное окрашивание.

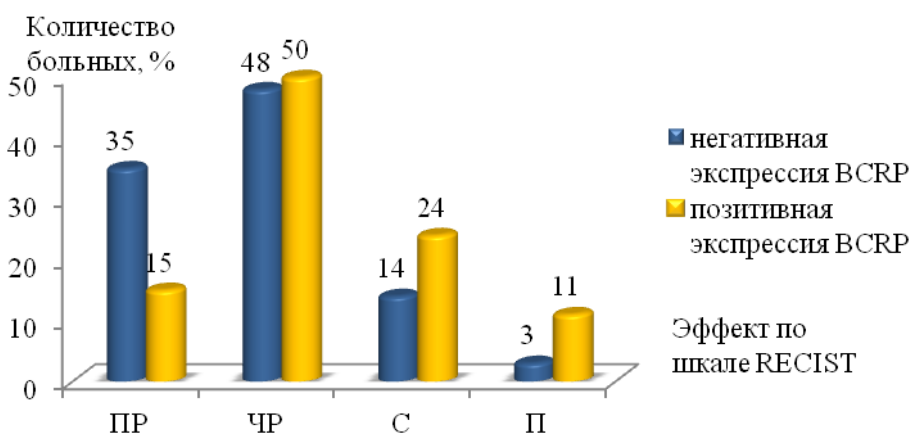


Рисунок 9 – Зависимость эффекта неoadъювантной химиотерапии у пациенток с инвазивной карциномой молочной железы от экспрессии BCRP в первичной опухоли *ПР-полная регрессия; ЧР-частичная регрессия; С-стабилизация; П-прогрессирование

Анализ чувствительности к неoadъювантной химиотерапии у больных РМЖ в зависимости от наличия экспрессии данного ABC-транспортера показал, что только мембранная экспрессия BCRP была связана с ответом опухоли на проводимое лечение.

Как видно из данных, представленных на рисунке 9, частота полной морфологической регрессии существенно выше при отсутствии экспрессии данного ABC-транспортера в опухоли, а случаи прогрессирования при проведении НАХТ значительно чаще наблюдаются при позитивном мембранном окрашивании к указанному белку в опухоли.

Анализ мембранной экспрессии BCRP в клетках опухоли выявил, что показатели экспрессии данного белка в группах пациенток с различным эффектом от проведенной НАХТ имеют достоверные отличия (рисунок 10).

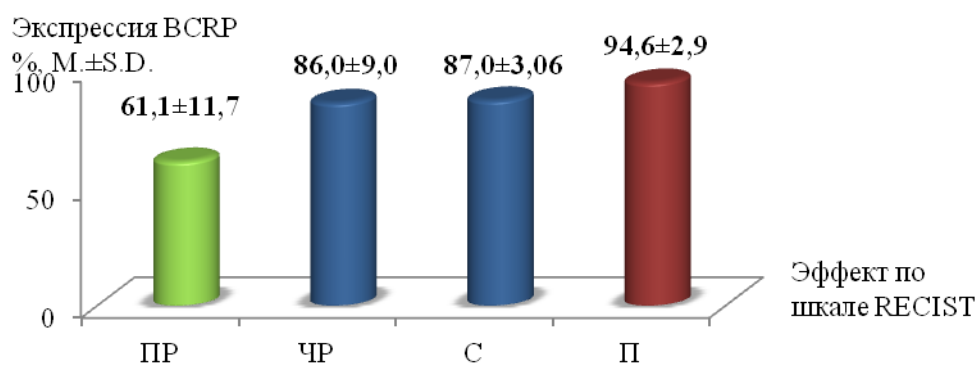


Рисунок 10 – Показатели экспрессии BCRP в опухоли у пациенток с инвазивной карциномой молочной железы в зависимости эффекта проводимого лечения

*ПР-полная регрессия; ЧР-частичная регрессия; С-стабилизация; П-прогрессирование

Как видно из данных, представленных в рисунке 10, наименьший показатель экспрессии был в группе пациенток с полной регрессией опухоли после проведения НАХТ, наибольший процент отмечен в группе больных с прогрессированием опухоли.

Эффективность НАХТ не была связана с наличием экспрессии BCRP как в клетках воспалительного инфильтрата ($r=0,02$; $p=0,8$), так и в стромальных клетках опухоли ($r=0,001$; $p=0,9$). Однако была обнаружена существенная корреляция между экспрессией BCRP и экспрессией bcl-2 в клетках воспалительного инфильтрата ($r=0,44$; $p=0,000013$).

Таким образом, было показано, что эффективность НАХТ и степень лечебного патоморфоза в опухоли зависят от наличия мембранной экспрессии Р-гликопротеина и степени выраженности его экспрессии опухолевыми клетками. В 79% случаев негативной мембранной экспрессии данного белка у пациенток наблюдается полная или частичная регрессия опухоли от проводимого лечения.

Полная морфологическая регрессия первичной опухоли при проведении НАХТ сопряжена с отсутствием экспрессии BCRP в клетках опухоли ($p=0,01$). Степень лечебного патоморфоза в опухоли связана: с наличием позитивной мембранной экспрессии MRP2 ($p=0,02$); с уровнем мембранной экспрессии Р-гликопротеина в клетках инвазивного рака молочной железы ($p=0,03$).

Обнаружено, что эффективность НАХТ сопряжена с наличием экспрессии ABC-транспортеров в клетках воспалительного инфильтрата первичной опухоли; MRP2 ($p=0,04$); Pgp ($p=0,004$). Выявлена существенная корреляция между экспрессией BCRP в клетках воспалительного инфильтрата и экспрессией в них bcl-2 ($r=0,44$; $p=0,000013$).

Частота встречаемости различных белков лекарственной устойчивости, а также степень выраженности экспрессии данных белков не отличается при трижды-негативном и люминалом В подтипах рака молочной железы. Степень лечебного патоморфоза первичной опухоли и эффективность НАХТ существенно не зависит от экспрессии глутатион-S-трансферазы и MRP1 в опухоли.

Анализ эффективности НАХТ в зависимости от сочетания различных систем химиорезистентности у больных инвазивным раком молочной железы. Создание математических моделей прогнозирования полной морфологической регрессии

В нашем исследовании было показано, что частота различных эффектов от проводимой неоадьювантной химиотерапии не зависит от количества белков из семейства ABC-транспортеров, экспрессирующихся на мембране опухолевых клеток ($\chi^2=2,1$; $p=0,4$).

Проведенный анализ количества белков ABC-транспортеров в опухоли в зависимости от молекулярно-генетического подтипа не выявил существенных различий в их экспрессии у больных с люминальным В и трижды-негативными подтипами ($\chi^2=6,1$; $p=0,2$). Степень лечебного патоморфоза в первичной опухоли также не была связана с количеством ABC-транспортеров, экспрессирующихся на мембране опухолевой клетки ($p=0,97$).

Проведенный анализ сочетания систем молекулярной защиты опухоли, активированных у пациенток с инвазивным раком молочной железы, показал, что возникновение полной регрессии чаще сопряжено с негативным вариантом p53+ABC+.

Таблица 4 – Распределение эффектов НАХТ в зависимости от сочетания активированных различных систем защиты в опухолевых клетках у пациенток с инвазивной карциномой молочной железы

Эффекты по шкале RECIST	Сочетание активированных систем защиты Количество больных (абс. число, %)		
	Позитивная экспрессия p53+ GSTP1+	Позитивная экспрессия p53+ABC+	Позитивная экспрессия GSTP1+ABC+
Полная регрессия (n=21)	13/21 (61%)	8/21 (38%) $p_{1-2}=0,029$	16/21 (76%) $p_{2-3}=0,008$
Частичная регрессия (n=45)	17/45 (38%)	15/45 (33%)	36/45 (80%)
Стабилизация (n=18)	9/18 (50%)	8/18 (44%)	17/18 (94%)
Прогрессирование (n=7)	2/7 (29%)	3/7 (42%)	6/7 (86%)
			$\chi^2=6,1$; $p=0,03$

Как видно из данных, представленных в таблице 4, наиболее значимым сочетанием у пациенток с полной регрессией опухоли является отсутствие одновременной активации системы онкопротеина p53 и ABC транспортеров. Активирование обеих систем защиты опухоли наблюдалось лишь в 38 % наблюдений в группе пациенток с полной регрессией опухоли, во всех остальных наблюдениях совместной коэкспрессии белков данных систем не наблюдалось.

Также было обнаружено, что имеется отрицательная корреляция между степенью лечебного патоморфоза в опухоли и количеством активированных систем защиты в опухоли ($r=-0,26$; $p=0,04$). При это важно отметить, что число активированных системы защиты опухолевой клетки не было связано с такими клинико-морфологическими параметрами как: возраст пациенток ($p=0,26$); пролиферативная активность в опухоли ($p=0,45$); выраженность воспалительной инфильтрации ($p=0,38$); степень злокачественности опухоли при ИКНТ ($p=0,5$), молекулярно-генетический подтип опухоли ($p=0,8$).

Таким образом, было показано, что эффективность проведения химиотерапии не сопряжена с количеством белков ABC-транспортеров экспрессируемых в опухоли. Большая частота развития полной регрессии опухоли по шкале RECIST сопряжена с отсутствием одновременной гиперэкспрессии p53 и экспрессии белков ABC-транспортёров. Количество активированных систем защиты от химиотерапевтического воздействия в опухоли является ее

биологической характеристикой и не сопряжено с основными клинико-морфологическими параметрами рака молочной железы.

Принимая во внимание тот факт, что достижение полных морфологических регрессий является наиболее значимым критерием в отношении исхода заболевания у больных операбельным РМЖ, нами был проведен анализ клинико-морфологических параметров, имеющих предсказательную значимость в отношении наступления данного вида исхода. Для прогнозирования вероятности полной регрессии по шкале RECIST при проведении НАХТ у пациенток с инвазивной карциномой неспецифического типа использовался логистический регрессионный анализ. При построении математических моделей был проанализирован ряд клинических, морфологических и экспрессионных признаков, таких как: возраст, состояние менструальной функции, размер опухоли и ее локализация, стадия заболевания, количество лимфатических узлов с метастазами, присутствие различных типов структур в инфильтративном компоненте опухоли, выраженность стромы, степень воспалительной инфильтрации, степень злокачественности, экспрессия белков лекарственной устойчивости (GSTP1 Pgp, MRP1, MRP2 BCRP) в опухоли и воспалительной инфильтрате, количество систем защиты в опухоли и их различные сочетания (1 – p53+GSTP1+; 2 – p53+ABC+; 3 – GSTP1+ABC+). Для прогнозирования вероятности прогнозирования полной морфологической регрессии опухоли разработаны математические модели в зависимости от молекулярно-генетического подтипа новообразования (трижды-негативный и люминальный тип В). Созданные модели представлены в практических рекомендациях.

ВЫВОДЫ

1. У больных с инвазивным раком молочной железы при трижды-негативном и люминальном В подтипах при проведении НАХТ достижение полной морфологической регрессии сопряжено с III степенью злокачественности опухоли ($p=0,0038$), отсутствием в инфильтративном компоненте дискретных опухолевых клеток ($p=0,008$). При трижды-негативном раке молочной железы полная морфологическая регрессия опухоли чаще наблюдается у пациенток <40 лет ($p=0,002$).
2. Большая частота полных регрессий опухоли при проведении неoadъювантной химиотерапии ассоциирована с мембранной экспрессией ABC-транспортёров в опухолевых клетках и наблюдается при отсутствии экспрессии BCRP ($\chi^2=7,1$; $p=0,04$) или его уровне $\leq 61\%$ ($p=0,002$), негативной экспрессии ($p=0,002$) и низком уровне Р-гликопротеина $\leq 51\%$ ($p=0,003$). Частота и степень выраженности экспрессии ABCB1 (Р-гликопротеин), ABCC1 (MRP1), ABCC2 (MRP2), ABCG2 (BCRP), глутатион-S-трансферазы (GSTP1) в опухоли не отличается у больных с трижды-негативным и люминальным В подтипами рака молочной железы.
3. Лечебный патоморфоз III и IV степени при проведении неoadъювантной химиотерапии у пациенток с люминальным В и трижды-негативным подтипами чаще наблюдается при высокой пролиферативной активности клеток опухоли (Ki-67>35%; $F=3,24$; $p=0,01$) и связан с экспрессией онкопротеина p53 ($r=0,22$; $p=0,04$), позитивной мембранной экспрессией MRP2 ($\chi^2=5,9$; $p=0,03$), с мембранной экспрессией Р-гликопротеина ($p=0,03$) в клетках инвазивного рака молочной железы.
4. При трижды-негативном и люминальном В подтипах рака молочной железы эффективность неoadъювантной химиотерапии сопряжена со степенью воспалительной инфильтрации в опухоли ($p=0,02$), с отсутствием экспрессии bcl-2 ($p=0,0001$) и наличием экспрессии ABC-транспортёров в клетках воспалительного инфильтрата опухоли: MRP2 ($p=0,04$); Pgp ($p=0,004$).
5. Разработаны математические модели, включающие наиболее информативные предсказательные морфологические и молекулярно-биологические параметры, позволяющие прогнозировать достижение полных регрессий опухоли у больных с трижды-негативным раком молочной железы с чувствительностью 78 %,

специфичностью 91 %, у пациенток с люминальным В подтипом опухоли с чувствительностью 100%, специфичностью 100%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациенток с трижды-негативным и люминальным В подтипом рака молочной железы с целью оценки потенциальной чувствительности опухоли к НАХТ при исследовании биопсионного материала необходимо включать в иммуногистохимическую панель белки лекарственной устойчивости: Р-гликопротеин, MRP1, MRP2 и BCRP и учитывать экспрессию данных белков в опухоли и в клетках воспалительного инфильтрата.
2. При планировании неоадьювантной химиотерапии у больных раком молочной железы необходимо учитывать такие клиничко-морфологические параметры как III степень злокачественности, индекс пролиферативной активности Ki-67 $\geq 35\%$, отсутствие дискретных опухолевых клеток в инфильтративном компоненте опухоли могут использоваться в качестве дополнительных информативных признаков, сопряженных с достижением полных морфологических регрессий.

3. У пациенток с трижды-негативным раком молочной железы прогнозирование вероятности полной регрессии опухоли при проведении НАХТ возможно проводить с учетом морфологических и иммуногистохимических параметров по следующей формуле:

$Y = (82 + 3,0 \cdot X_1 - 33,9 \cdot X_2 + 0,62 \cdot X_3 + 1,12 \cdot X_4 - 26,52 \cdot X_5 - 0,25 \cdot X_6 - 31,9 \cdot X_7 - 0,05 \cdot X_8)$, где Y – значение уравнения регрессии; (82) – значение коэффициента регрессии свободного члена; X1 – степень злокачественности (1 – первая, 2 – вторая, 3 – третья), (3,0) – значение коэффициента регрессии этого признака; X2 – присутствие в инфильтративном компоненте дискретных групп клеток (1 – нет, 2 – есть), (-33,9) – значение коэффициента регрессии этого признака; X3 – присутствие в воспалительном инфильтрате bcl-2-позитивных клеток (1 – нет, 2 – есть), (0,62) – значение коэффициента регрессии этого признака; X4 – позитивная экспрессия Р-гликопротеина в клетках воспалительного инфильтрата (1 – нет, 2 – есть), (1,12) – значение коэффициента регрессии этого признака; X5 – позитивная экспрессия MRP1 в клетках воспалительного инфильтрата (1 – нет, 2 – есть), (-26,52) – значение коэффициента регрессии этого признака; X6 – позитивная мембранная экспрессия MRP2 в клетках воспалительного инфильтрата (1 – нет, 2 – есть), (-0,25) – значение коэффициента регрессии этого признака; X7 – наличие мембранной экспрессии в опухолевых клетках MRP2 (1 – нет, 2 – есть), (-31,9) – значение коэффициента регрессии этого признака; X8 – позитивная экспрессия BCRP в клетках воспалительного инфильтрата (1 – нет, 2 – есть), (-0,05) – значение коэффициента регрессии этого признака.

Значение вероятности достижения полной регрессии опухоли определялось по формуле: $P = [eY / (1 + eY)]$, где P – значение вероятности развития признака; Y – значение уравнения регрессии; e – математическая константа, равная 2,72. Чувствительность модели составляет 78%, специфичность 91%. При вероятности $P \geq 0,5$ у больных с трижды-негативным молекулярно-генетическим подтипом раком молочной железы определяется высокая вероятность достижения полной регрессии опухоли при проведении НАХТ. При вероятности $P < 0,5$ – низкая вероятность полной регрессии опухоли при проведении НАХТ.

4. С целью прогнозирования вероятности достижения полной морфологической регрессии первичной опухоли у пациенток с инвазивным раком молочной железы, представленным люминальным В молекулярно-генетическим подтипом опухоли разработана математическая модель. Уравнение регрессии представлено в виде формулы:

$Y = (-67 - 14,0 \cdot X_1 + 1,59 \cdot X_2 - 1,32 \cdot X_3 + 82 \cdot X_4 - 9,1 \cdot X_5)$, где Y – значение уравнения регрессии; (-67) – значение коэффициента регрессии свободного члена; X1 – степень злокачественности (1 – первая, 2 – вторая, 3 – третья), (14,0) – значение коэффициента регрессии этого признака; X2 – присутствие в инфильтративном компоненте опухоли дискретных групп клеток (1 – нет, 2 – есть), (1,59) – значение коэффициента регрессии этого признака; X3 – присутствие в воспалительном инфильтрате bcl-2-позитивных клеток (1 – нет, 2 – есть), (-1,32) – значение коэффициента регрессии этого признака; X4 – позитивная

экспрессия Р-гликопротеина в клетках воспалительного инфильтрата (1 – нет, 2 – есть), (82) – значение коэффициента регрессии этого признака; X5 – наличие мембранной экспрессии в опухолевых клетках MRP2 (1 – нет, 2 – есть), (-9,1) – значение коэффициента регрессии этого признака.

Значение вероятности достижения полной регрессии опухоли следует определять по следующей формуле: $P = [eY/(1+ eY)]$, где P – значение вероятности развития признака; Y – значение уравнения регрессии; e – математическая константа, равная 2,72. Чувствительность модели составляет 100%, специфичность 100%. При вероятности $P \geq 0,5$ у больных с люминальным В молекулярно-генетическим подтипом раком молочной железы определяется высокая вероятность достижения полной регрессии опухоли при проведении НАХТ. При вероятности $P < 0,5$ – низкая вероятность полной регрессии опухоли при проведении НАХТ.

СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

- 1. Христенко К.Ю. Особенности лимфогенного метастазирования при люминальном А типе рака молочной железы [Текст] / М.В. Завьялова, Н.С. Телегина, С.В. Вторушин, В.М. Перельмутер, Е.М. Слонимская, Е.В. Денисов, Н.В. Чердынцева, С.В. Паталяк, Н.А. Скрыбина, К.Ю. Христенко // Сибирский онкологический журнал. – 2013. – №2. – Том 56. – С. 41-44.**
- 2. Христенко К.Ю. Градиент экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости в опухоли молочной железы при проведении предоперационной химиотерапии: клиническая значимость и регуляция [Текст] / Н.В. Литвяков, М.М. Цыганов, Е.В. Денисов, Е.Ю. Гарбуков, К.Ю. Христенко, С.В. Вторушин, М.В. Завьялова, Е.М. Слонимская, Н.В. Чердынцева // Вопросы онкологии. – 2013. – Том 59. – Прил. к № 3, том 1. – С. 94-95. – Материалы VIII съезда онкологов России, С.-Петербург, 11-13 сентября 2013 г.**
- 3. Христенко К.Ю. Связь безметастатической выживаемости больных раком молочной железы и вектора изменения экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости в опухоли при проведении неoadьювантной химиотерапии [Текст] / Н.В. Литвяков, Е.Ю. Гарбуков, Е.М. Слонимская, М.М. Цыганов, Е.В. Денисов, С.В. Вторушин, К.Ю. Христенко, М.В. Завьялова, Н.В. Чердынцева // Вопросы онкологии. – 2013. – №3. – Том 59. – С. 334-339.**
- 4. Христенко К.Ю. Возможности повышения эффективности прогнозирования гематогенного метастазирования при раке молочной железы [текст] / М.В. Завьялова, В.М. Перельмутер, С.В. Вторушин, Н.С. Телегина, К.Ю. Христенко, Н.В. Крахмаль, Е.М. Слонимская / Сб.: «Научно-практические аспекты современной онкологии» / Материалы Всероссийской научно-практической конференции 31 октября 2013 г. – Красноярск, 2013. – С. 62-64.**
- 5. Христенко К.Ю. Связь гематогенной диссеминации с лимфогенным метастазированием при различных молекулярно-генетических вариантах рака молочной железы [Текст] / Н.С. Телегина, О.Д. Брагина, К.Ю. Христенко, М.В. Завьялова, С.В. Вторушин, В.М. Перельмутер, Е.М. Слонимская, Е.В. Денисов, Н.В. Чердынцева // Бюллетень сибирской медицины. – 2013. – Т. 12. - №6. – С.62-66.**
- 6. Христенко К.Ю. Особенности экспрессии параметров лекарственной резистентности при раке молочной железы / К.Ю. Христенко, С.В. Вторушин, М.В. Завьялова, Н.В. Литвяков, В.М. Перельмутер, Н.В. Крахмаль, Е.А. Фесик // Сб.: «Актуальные вопросы патологоанатомической практики» / Материалы научно-практической патологоанатомической конференции Южного Урала с участием патологоанатомов других регионов России и СНГ, посвященной 30-летию Челябинского областного патологоанатомического бюро 10-11 апреля 2014 года. – Челябинск, 2014. – С. 109.**

7. Христенко К.Ю. Морфологические проявления инвазии при люминальном А типе рака молочной железы [Текст] / Н.В. Крахмаль Н.В., К.Ю. Христенко, Е.А. Фесик, Н.С. Телегина, С.В. Вторушин, Е.В. Денисов, О.Ю. Васильева // Сибирский онкологический журнал. – 2014. – Приложение 1. – С. 71.
8. Христенко К.Ю. Особенности экспрессии ABC-транспортеров при разных вариантах инвазии в опухолевой ткани рака молочной железы [Текст] / К.Ю. Христенко, Н.В. Крахмаль Н.В., Е.А. Фесик, Н.С. Телегина, С.В. Вторушин, Е.В. Денисов, О.Ю. Васильева // Сибирский онкологический журнал. – 2014. – Приложение 1. – С. 127-128.
9. **Khristenko K.Y. The phenomenon of multi-drug resistance in the treatment of malignant tumors [Text] / S.V. Vtorushin, K.Y. Khristenko, M.V. Zavyalova, V.M. Perelmuter, N.V. Litviakov, E.V. Denisov, A.Y. Dulesova, N.V. Cherdyntseva // Experimental Oncology – 2014. – Vol. 36. –N 3. – P. 144–156.**
10. Христенко К.Ю. Взаимосвязь гистологического строения инвазивной карциномы неспецифического типа молочной железы с ответом опухоли на химиотерапию / К.Ю. Христенко, С.В. Вторушин, Н.В. Крахмаль, Н.С. Телегина, М.В. Завьялова // Сб.: «Актуальные вопросы патологоанатомической практики» / Материалы научно-практической конференции патологоанатомов Южного Урала с участием патологоанатомов других регионов России и СНГ, посвященной 70-летию Челябинского областного клинического онкологического диспансера 6-7 февраля 2015 года. – Челябинск, 2015. – С. 90-91.
11. Христенко К.Ю. Особенности пролиферативной активности в ткани новообразования в зависимости от морфологических проявлений инвазии при раке молочной железы / Н.В. Крахмаль, К.Ю. Христенко // Сибирский онкологический журнал. – 2015. – Приложение 1. – С. 51.
12. Христенко К.Ю. Связь эффекта химиотерапии с особенностями экспрессии трансмембранного белка транспортера ABCB1 при инвазивном раке молочной железы / К.Ю. Христенко, Н.В. Крахмаль, Н.С. Телегина // Сибирский онкологический журнал. – 2015. – Приложение 1. – С. 85-86.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ABCB1 (Pgp) – ABC-transporters sub-family B member 1 (P-glycoprotein), первый представитель ABC-транспортеров подсемейства В (Р-гликопротеин)

ABCC1 (MRP1) – ABC-transporters sub-family C member1 (multidrug resistance-associated protein 1), первый представитель ABC-транспортеров подсемейства С (белок ассоциированный с множественной лекарственной устойчивостью 1)

ABCC2 (MRP2) – ABC-transporters sub-family C member 2 (multidrug resistance-associated protein 2), второй представитель ABC-транспортеров подсемейства С

ABCG2 (BCRP) – ABC-transporters subfamily G member 2 (breast cancer resistance protein), второй представитель ABC-транспортеров подсемейства G (белок резистентности рака молочной железы)

F – Критерий Фишера

GSH – glutathione, глутатион

GSTs – glutathione S-transferases, глутатион-S-трансфераза

M – среднее значение показателя

p – критерий значимости различий

r – коэффициент корреляции

S.D. – стандартное отклонение

абс. число – абсолютное число

ИКНТ – инвазивная карцинома неспецифического типа

МЛУ – множественная лекарственная устойчивость

РМЖ – рак молочной железы