

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

ЗАВОЛОКА ОЛЕКСАНДР ВАСИЛЬОВИЧ

УДК 618.19-07-084:614.2

**ОПТИМІЗАЦІЯ ДІАГНОСТИЧНОГО АЛГОРИТМУ
В СИСТЕМІ КЛІНІЧНОГО МОНІТОРИНГУ У ЖІНОК
З ПУХЛИНАМИ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ**

14.01.03 – хірургія

Дисертація
на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Науковий керівник
Четверіков Сергій Геннадійович
доктор медичних наук, професор

Одеса – 2014

ЗМІСТ

Стор.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ, ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ І ТЕРМІНІВ.....	3
ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	14
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	37
2.1. Клінічна характеристика хворих.....	37
2.2. Методика досліджень.....	38
2.2.1. Клінічне дослідження.....	38
2.2.2. Лабораторні дослідження.....	41
2.2.3. Променеві дослідження.....	41
2.2.4. Патоморфологічні дослідження.....	45
2.2.5. Генетичні дослідження.....	47
2.2.6. Клініко-генеалогічне дослідження.....	50
2.2.7. Методи статистичної обробки.....	54
РОЗДІЛ 3. ЗАГАЛЬНА КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА.....	59
3.1. Ретроспективний етап дослідження.....	59
3.2. Проспективне дослідження.....	61
3.3. Фактори ризику розвитку диспластичних процесів молочної залози.....	72
3.4. Клініко-анамнестичні особливості хворих на рак молочної залози.....	86
3.5. Результати хірургічного лікування хворих.....	88
3.6. Результати удосконалення діагностичного алгоритму.....	95
РОЗДІЛ 4. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ ДЕТЕРМІНАНТИ ДИСПЛАСТИЧНИХ ПРОЦЕСІВ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ.....	101
РОЗДІЛ 5. ЗАКЛЮЧЕННЯ. ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	116
ВИСНОВКИ.....	126
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	128

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ, ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ,
ОДИНИЦЬ І ТЕРМІНІВ

АМГФ – α 2-мікроглобулін фертильності

ВР – відносний ризик

ВШ – відношення шансів

ДІ – довірчий інтервал

ДДМЗ – доброякісні дисплазії молочної залози

ДНМЗ – доброякісні новоутворення молочної залози

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

ЗВР – зниження відносного ризику

ІГХ – імуногістохімія

ІМТ – індекс маси тіла

ІФА – імуноферментний аналіз

ІЦХ – імуноцитохімія

КД – коефіцієнт дисплазії

КДП – коефіцієнт дисперсії поляризації

ЛГ – лютеїнізуючий гормон

МГ – мамографія

МКХ – міжнародна класифікація хвороб

МРТ – магнітно-резонансна томографія

ПАМГ – плацентарний α 1-мікроглобулін

РМЗ – рак молочної залози

РЯ – рак яєчників

Т3 – трийодтиронін

Т4 – тироксин

ТТГ – тиреотропний гормон

УЗД – ультразвукове дослідження

ФНП – фактор некрозу пухлин

ФСГ – фолікулостимулюючий гормон

EGF – фактор росту ендотелію

BRCA1 та BRCA2 – гени, пов'язані з раком молочної залози

IL-6 – інтерлейкін-6

TGF β – β -фактор росту пухлин

TNF α - α -фактор некрозу пухлин

VEGF – ендотеліальний фактор росту судин

ВСТУП

Актуальність теми. Проблема вдосконалення діагностики та вибору оптимальної тактики лікування пухлин молочної залози залишається однією з найбільш актуальних для сучасної хірургічної практики [1 - 5]. Зважаючи на тісну кореляцію між загальною поширеністю новоутворень молочної залози та смертністю від раку молочної залози (РМЗ) ця проблема має не лише суто фаховий аспект, але й являє значуще медико-соціальне та соціально-економічне явище [6, 7].

Рак молочної залози в Україні, так само, як і в більшості країн світу, є одним з найпоширеніших пухлинних процесів у жінок і посідає перше місце в структурі захворюваності та смертності від злоякісних новоутворень (25% від всіх випадків раку). Кількість жінок, які захворіли на РМЗ в Україні в абсолютних цифрах зросла з 14171 жінки (1996 р.) до 17407 жінок (2011 р.), а в розрахунку на 100 тис. жіночого населення - відповідно з 54,1 до 70,9. Кожні 35 хвилин виявляється новий випадок раку молочної залози й щогодини від даного захворювання вмирає одна жінка [8, 9]. Кожна жінка, яка захворіла на РМЗ, у середньому втрачає 17 - 18 років життя, що становить 53% від всіх втрат жіночої популяції в Україні [10 - 13].

За статистичними даними канцерреєстру Національного інституту раку України Одеська область посідає одне з перших місць за рівнем захворюваності на РМЗ серед жінок [8, 14]. Так, по Одеській області стандартизований показник захворюваності на РМЗ в 2011 р. склав 76,3 випадків на 100 тис. жіночого населення.

Різноманітні доброякісні новоутворення молочної залози як правило не несуть загрози малігнізації [15]. Втім, нерідко на етапі первинного контакту хворої із закладами охорони здоров'я, або навіть на етапі надання

кваліфікованої та спеціалізованої медичної допомоги, фахівці стикаються з суттєвими труднощами диференційної діагностики доброякісних та злоякісних новоутворень молочної залози. За даними Bhargava R. (2012) найбільш часто труднощі при верифікації діагнозу доброякісних пухлин молочної залози виникають у відношенні таких нозологічних форм, як склерозуючий аденоз, хвороба Мінца, склерозуючі папілярні пухлини [16].

Вже багато років загальновизнаною точкою зору є така, що єдиним реальним шляхом успішного зниження захворюваності та смертності від РМЗ є поліпшення якості ранньої діагностики [17 - 22]. Наряду з клінічним оглядом, ультразвуковою діагностикою (УЗД) та мамографією (МГ), в діагностиці захворювань молочної залози широко використовується цитологічне дослідження виділень з соска молочної залози чи пунктату пухлини. Відрізняючись простотою одержання матеріалу й специфікою картин різних патологічних процесів, цитологічне дослідження є повноцінним методом морфологічної верифікації діагнозу. Тонкоголчаста аспіраційна пункційна біопсія стоїть на першому місці серед методів, що дозволяють установити правильний морфологічний діагноз до операції та при динамічному спостереженні [23, 24]. Разом з тим цитологічне дослідження, як і інші діагностичні методи, має певні обмеження, які можуть залежати від способу одержання матеріалу, локалізації патологічного вогнища, особливостей його гістологічної будови, а також кваліфікації лікаря-цитолога [24 - 26]. Найбільш точну інформацію щодо структури тканини та ступеню проліферації можна отримати за допомогою проведення трепан-біопсії доброякісного новоутворення молочної залози (ДНМЗ). Однак, прогноз подальшого розвитку захворювання та рекомендації щодо тактики лікування затруднені при незначному або помірному ступені проліферації ДНМЗ. На сьогодні остаточно не визначені універсальні фактори, за наявності яких слід обов'язково виконувати оперативне

лікування хворих на ДНМЗ. Враховуючи той факт, що післяопераційний рубець молочної залози також може нести певну загрозу щодо підвищення ризику виникнення РМЗ, дане питання вирішується індивідуально з урахуванням багатьох анамнестичних та клініко-морфологічних ознак, а також досвіду лікаря.

Розшифровка геному людини поклала початок новому напрямку молекулярно-біологічних досліджень у клінічній медицині - предиктивної медицині, що має дві характерні риси - індивідуальний підхід до хворого і попереджувальний характер [27 - 32]. Основою предиктивної медицини є визначення генної мережі захворювання, ідентифікація в ній центральних генів та генів-модифікаторів, аналіз асоціації їх поліморфізмів з конкретним захворюванням, розробка на цій основі комплексу профілактичних заходів для конкретного пацієнта. Вивчення факторів схильності до онкологічних захворювань, в основі яких лежить поліморфізм генів, є актуальною областю досліджень [28, 33, 34].

У 20% випадків у хворих на РМЗ є відповідний сімейний анамнез [35, 36]. В середині 20 століття вченими було встановлено, що це захворювання часто успадковується по материнській лінії (аутосомно-домінантний тип) [36, 37]. Нерідко у таких сім'ях виявляють мутантні гени BRCA1 (113705, 17q21, R(113705, 17q21R)) і BRCA2 [36, 38, 39]. При наявності гена BRCA1 рак молочної залози розвивається в 85% випадків [40].

Гени BRCA1 і BRCA2 є генами-супресорами пухлинного росту і належать до групи "генів загального контролю". Обидва гени відіграють важливу роль у процесах ембріонального розвитку. Мутації одного з цих генів (BRCA1) спостерігаються в 5 - 10% від загальної кількості випадків РМЗ. Водночас, часто гермінативні мутації BRCA1 і BRCA2 не пояснюють весь спектр спадкових форм раку органів жіночої репродуктивної системи. На думку ряда дослідників, у більшості випадків РМЗ не пов'язаний з

мутацією зазначених генів, а обумовлений порушеннями репродуктивної поведінки в онтогенезі і змінами традиційного укладу життя в сучасних умовах. Рак молочної залози та рак яєчників (РЯ) також розвивається при мутаціях гена Е-кадгеріна (192090, 16q22.1, COR, UVO, RR), білка міжклітинних взаємодій. Ця ж мутація відповідальна за розвиток раку ендометрію. На сьогодні з ризиком виникнення РМЗ пов'язують більше 500 генів.

З метою прогнозування виникнення РМЗ застосовуються різні моделі. На сьогоднішній день у лікарів є відмінна можливість оцінити ризик розвитку РМЗ для кожної конкретної жінки з урахуванням її індивідуальних особливостей. Найбільш поширений метод оцінки ризику РМЗ базується на статистичній моделі, відомої як індекс Гейла, названої на честь доктора Mitchell Gail, начальника відділення біостатистики Відділу Епідеміології Раку і Генетики в Національному Інституті Раку США [41]. У цій моделі використовуються дані особистого анамнезу жінки (наявність і кількість біопсій молочних залоз, включаючи виявлення атипової гіперплазії), репродуктивного анамнезу (вік початку менструацій, перших пологів і менопаузи), а також сімейного анамнезу (наявність родичок 1-ого ступеня споріднення з інвазивним раком молочної залози). Для розробки цієї моделі використовувалися результати дослідження Breast Cancer Detection Demonstration Project (BCDDP), підрозділу скринінгового дослідження Національного Інституту Раку й Американське Суспільство Раку (American Cancer Society), у якому брали участь 280 000 жінок у віці 35 - 74 років, а також дані Програми по Вживаності, Епідеміології та Кінцевим результатам (NCI Surveillance, Epidemiology and End Results Programme – SEER) [42, 43]. Даний метод оцінки ризику має обмеження: він не використовується у жінок, яким уже встановлено діагноз раку молочної залози, долькової карциноми *in situ* або протокової карциноми *in situ*. За допомогою моделі Гейла є

можливість визначити абсолютний ризик розвитку РМЗ протягом 5 наступних років і до віку 90 років. Однак, на сьогодні вона не враховує дані персонального генетичного профілю («паспорту»), тому багато дослідників пропонують альтернативні моделі Клауса, BRCAPRO, Тіфера-Дафі та ін. [28, 44-46].

У сьогоденні використовуються різні методи диференційної діагностики ДНМЗ і РМЗ. Найбільшого поширення набули морфометричні методики, при яких визначають кількість паренхіматозних клітин, фібробластів і фіброцитів, локалізованих периартеріолярно [47]. Відомий спосіб скринінгової діагностики захворювань молочної залози, що супроводжуються синдромом галактореї, який включає фізикальний огляд, пальпацію, дослідження біохімічних показників і рівня пухлинного маркера СА-15.3 в ексудаті. У якості критеріїв проліферативного захворювання розглядають підвищення активності ферментів: аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази, амілази, лактатдегідрогенази, підвищення рівня альбуміну, загального білку, сечової кислоти, пухлинного маркера СА-15.3 і зниження активності γ -глутамілтранспептидази [48].

Втім, незважаючи на все різноманіття методичних підходів до діагностики і прогнозування розвитку РМЗ, нерідко після проведених оперативних втручань та лікування з приводу верифікованих ДНМЗ в подальшому у даних пацієнток відбувається розвиток раку. Таким чином, пошук нових ефективних схем профілактики несприятливих клінічних виходів у хворих з доброякісною патологією молочних залоз є надзвичайно актуальним.

Дисертаційна робота виконана відповідно до НДР ОНМедУ на тему: "Розробка мініінвазивних методів хірургічного лікування захворювань органів грудної клітини, черевної порожнини, судин, метаболічного синдрому" (№ держреєстрації 109U00856, 2010 -2014 р/в).

Метою роботи є оптимізація діагностичного алгоритму в системі клінічного моніторингу у жінок з пухлинами молочної залози.

Для вирішення поставленої мети були визначені наступні наукові **завдання**:

1. Провести аналіз факторів ризику розвитку доброякісних новоутворень молочної залози.
2. Оцінити поширеність патологічно обтяжених алелів генів системи VEGF та TNF α у пацієток з доброякісними новоутвореннями молочної залози.
3. Оцінити роль делеційних поліморфізмів C634G гена VEGF та G308A гена TNF α у формуванні ризику виникнення раку молочної залози у жінок з доброякісними новоутвореннями молочної залози.
4. Розробити алгоритм диференційної діагностики та клінічного моніторингу хворих з доброякісними новоутвореннями молочної залози.
5. Оцінити ефективність застосування розробленого алгоритму діагностики та клінічного моніторингу хворих на доброякісні новоутворення молочної залози.

Об'єкт дослідження – доброякісні новоутворення молочної залози.

Предмет дослідження – діагностичний алгоритм в системі клінічного моніторингу у жінок з пухлинами молочної залози.

Методи дослідження – загальноклінічні, клініко-інструментальні, клініко-лабораторні (біохімічні, гематологічні), патоморфологічні, клініко-генеалогічні, генетичні, статистичні.

Наукова новизна. Вперше досліджена поширеність доброякісної патології молочної залози у жінок в умовах півдня України та визначені молекулярно-генетичні і гормональні маркери ризику розвитку РМЗ у хворих

з доброякісними новоутвореннями молочної залози. Вперше досліджена та співставлена із середньопопуляційною частота функціональних поліморфізмів С634G гена VEGF та G308A гена TNF α у жінок, що страждають на ДНМЗ.

Вперше науково обгрунтовано систему клінічного моніторингу хворих з доброякісними новоутвореннями молочної залози із застосуванням сучасних молекулярно-генетичних методів.

Науковий пріоритет за визначеними напрямками закріплено патентом України на корисну модель (Пат. №82002 Україна МПК (2013.01): А61В10/00).

Практичне значення. Вперше визначені умови й терміни динамічного спостереження у катамнестичному періоді у пацієток групи ризику, науково обгрунтовані і конкретизовані рекомендації щодо частоти та змісту скринінгу, показань до оперативного втручання, тривалості заходів вторинної профілактики з використанням методів молекулярно-генетичного дослідження.

Досліджені фактори прогнозу розвитку РМЗ у пацієток з доброякісними новоутвореннями молочної залози. Впроваджено у практику систему вторинної профілактики захворювань молочної залози з використанням сучасних методів молекулярно-генетичних та клініко-біохімічних досліджень. За матеріалами дослідження оформлено винахід на спосіб диференційної діагностики доброякісних вузлових новоутворень молочної залози та прогнозування раку молочної залози.

Матеріали дисертаційного дослідження покладено в основу програми скринінгу пухлин молочної залози у жінок репродуктивного віку. На виконання рішення колегії МОЗ України від 09.12.2010р. «Про проблемні питання в онкології», спільного наказу МОЗ України на НАМНУ від 14.05.2010р. №409/36 «Про виконання завдань та заходів Загальнодержавної

програми боротьби з онкологічними захворюваннями на період до 2016 року», наказу МОЗ України від 15.07.2011р. №417 «Про організацію амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги в Україні», рішення Одеської обласної ради від 26.08.2011р. №206-VI «Про затвердження обласної програми «Репродуктивне здоров'я населення Одеської області до 2015 року» з метою удосконалення роботи щодо раннього виявлення та профілактики захворювань молочної залози, покращення якості та доступності надання медичної допомоги жіночому населенню м. Одеси, співробітниками кафедри онкології ОНМедУ спільно з управлінням охорони здоров'я Одеської міської ради було розроблено комплекс заходів, який містив створення інфраструктури, спрямованої на зниження захворюваності та смертності від РМЗ. При реалізації даного комплексу заходів покращилися показники виявлення хворих з дифузними дисплазіями молочної залози (ДДМЗ), ДНМЗ та РМЗ на ранніх (0, 1 та 2) стадіях.

Одним з ключових складових виконання управлінського рішення було видання наказів управління охорони здоров'я Одеської міської ради від 10.06.2011 №308 «Про створення мамологічного кабінету в КУ «МП №6» та від 19.10.2011 №610 «Про удосконалення роботи щодо раннього виявлення та профілактики захворювань молочної залози серед населення м. Одеси». Згідно з цими наказами було створено міський мамологічний кабінет на базі міської поліклініки №6, затверджено маршрут пацієнтів, послідовність та обсяг надання медичної допомоги пацієнтам на різних рівнях, категорії населення м. Одеси, які підлягають направленню на консультацію до міського мамологічного кабінету, форми звітності про виявлену патологію молочних залоз.

Особистий внесок здобувача. Здобувач самостійно виконав інформаційно - патентний пошук, провів аналіз літературних джерел по заданій проблемі, сформулював мету і завдання дослідження. Комплексне

обстеження, диференційна діагностика та хірургічне лікування хворих з вузловими новоутвореннями молочної залози здійснювалося особисто дисертантом або за його безпосередньою участю. Здійснив набір та узагальнив клінічний матеріал, провів аналіз отриманих даних, розробив і сформулював основні теоретичні і практичні положення дисертаційної роботи та висновки.

Апробація результатів дисертації. Результати та основні положення дисертаційної роботи доповідалися на міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми світової медицини» (м. Одеса, 2012), науково-практичній конференції «Сучасні питання акушерства та гінекології» (м. Тернопіль, 2012), IV науково-практичному семінарі студентів та молодих вчених, присвяченого Всесвітньому дню боротьби із раком (м. Київ, 2013), засіданнях товариств хірургів та онкологів (м. Одеса, 2011 - 2013), Всеукраїнських пленумах акушер-гінекологів (м. Київ, 2012 - 2013).

Публікації. За результатами дисертаційної роботи опубліковано 11 наукових робіт, у тому числі 6 – у фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 1 – у закордонному фаховому виданні та 3 тез. Одержано патент України на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 151 сторінці друкованого тексту і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, двох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, практичних рекомендацій, висновків. Перелік використаних джерел складається з 221 найменувань (з них 115 - іншомовних). Дисертація містить 22 рисунка і 5 таблиць.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНИЙ СТАН ПРОБЛЕМИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Доброякісні дисплазії молочної залози (ДДМЗ) є одною з найбільш поширених видів патології у жінок – за оцінками вітчизняних та іноземних фахівців вони зустрічаються у 30 - 92% жінок. На різних етапах історичного розвитку хірургії та мамології ця група захворювань одержувала наступні назви: дифузна мастопатія, фіброкистозна хвороба, хвороба Бладхуда, Купера, Тіло-Фока, Реклю та Шимельбуша [49, 50]. Згідно з міжнародною класифікацією хвороб (МКХ - 10) розрізняють дифузну кистозну мастопатію, солітарні кисти молочної залози, фіброаденоз та фібросклероз молочної залози, ектазію протоків молочної залози та інші патологічні стани, пов'язані з проліферацією залозистого епітелію молочної залози [51].

Етіологія ДДМЗ досі є неясною, але більшість дослідників вважають беззаперечною роль дисгормональних порушень, в тому числі індукованих екзогенними впливами [14, 52 - 56]. Доведено, що гіперпластичні процеси молочних залоз нерідко є безпосереднім наслідком ендокринної патології. При доброякісних гіперпластичних захворюваннях геніталій у 74,4% хворих розвиваються захворювання молочних залоз, а в цілому при нейроендокринних гінекологічних захворюваннях ця цифра становить 97,8%. 70% хворих з ДДМЗ мають різноматні гінекологічні захворювання [57 - 61].

Епідеміологія ДДМЗ та ДНМЗ вивчена менше, ніж епідеміологія раку молочної залози [62 - 66]. Це пояснюється тим, що регулярний облік і статистичний аналіз доброякісних захворювань молочної залози відсутній, а відомості про поширеність цих захворювань можна одержати лише з окремих спеціальних обстежень населення [14, 67, 68].

Проблема зв'язку ДДМЗ та ДНМЗ із раком молочної залози є однією з головних і, у той же час, найбільш суперечливих у профілактиці злоякісних новоутворень. Незважаючи на те, що ДДМЗ не є облігатним предраком, клінічні спостереження свідчать, що у хворих на ДДМЗ рак даної локалізації розвивається в декілька разів частіше, ніж у здорових жінок, а при дисплазії з явищами проліферації - в 30 разів частіше [69 - 73].

За даними різних авторів до 92% жінок репродуктивного віку страждають на ДДМЗ. У зв'язку із цим, в останні роки інтерес до клінічного моніторингу доброякісних дисплазій молочної залози значно зріс, а окремими авторами зниження захворюваності на мастопатію розглядається як реальний шлях до зниження частоти розвитку РМЗ [14, 69, 70, 74].

За даними Абдурахманова З.Т. (2007 р.) у жінок, що страждають на доброякісні захворювання молочних залоз, відзначається високий рівень генітальної патології, захворювань щитовидної залози, гепатобіліарної системи, психо-емоційної напруги, а також тривалий лактаційний період. Автор відзначає, що рівень поінформованості жіночого населення Таджикистану про клінічні прояви доброякісних захворювань молочних залоз і методиці самообстеження молочної залози, а також охоплення населення країни профілактичними оглядами надзвичайно низький. Існують певні особливості щодо онкозахворюваності жінок в залежності від регіону проживання [74]. В Україні жінки краще поінформовані з питань профілактики патології молочної залози та інфраструктура вітчизняних закладів охорони здоров'я є краще розвинутою [8, 9, 12, 75]. Втім, окремі автори вказують на те, що існуючі заходи профілактики РМЗ є недостатньо ефективними навіть за сучасного рівня розвитку медичних технологій та високої доступності «еталонних» засобів скринінгу, в тому числі білатеральної мамографії, УЗД молочної залози та тонкогочастої

аспіраційної біопсії під контролем УЗД з наступним цитологічним дослідженням [17 - 20, 76, 77].

ДДМЗ виникають у жінок репродуктивного віку, при чому існує досить чіткий повіковий розподіл ризику даної патології та її малігнізації. Так, у жінок, молодших за 45 років з атиповою гіперплазією, ризик розвитку РМЗ у 7 разів вище, ніж у загальній популяції. Жінки у віці від 45 до 55 років мають ризик розвитку раку молочної залози у 5 разів вище. У жінок, старших за 55 років з атиповою гіперплазією, ризик розвитку РМЗ втричі вище, ніж у жінок без ДДМЗ [14, 28, 52, 56].

Незважаючи на те, що дистормональна природа ДДМЗ та ДНМЗ не викликає сумнівів, дані світової літератури про патогенез цих захворювань різні, зокрема існують інші думки про фактори, що сприяють розвитку мастопатії: порушення процесів апоптоза, дисбаланс імунної системи, стан рецепторного апарата [14, 16, 56 - 58, 78 - 81].

У виникненні й розвитку патологічних змін молочної залози величезна роль приділяється стану гіпоталамо-гіпофізарної системи. Порушення нейрогуморальної складової репродуктивного циклу веде до активації проліферативних процесів у гормонально залежних органах, в тому числі у молочних залозах, які є мішенню для стероїдних гормонів яєчників, пролактина, плацентарних гормонів і, опосередковано, гормонів інших ендокринних залоз організму [56 - 61, 82].

На спільність ДДМЗ і ряду гінекологічних захворювань вказують багато авторів, які одностайні в тому, що серед різноманіття екзо- і ендогенних факторів визначальним в патогенезі доброякісної патології молочної залози є порушення ритму секреції гонадотропних гормонів, при цьому гормональний дисбаланс виражається в абсолютній або відносній гіперестрогенії та дефіциті прогестерону [56, 57, 82].

Разом з тим, ДДМЗ нерідко спостерігаються у жінок з нормальними овуляторними циклами і непорушеною репродуктивною функцією. У цьому випадку вирішальна роль у виникненні патології молочних залоз приділяється не абсолютній величині вмісту гормонів в плазмі крові, а стану рецепторів статевих стероїдів у тканині залози, оскільки саме функціональний стан рецепторного апарата визначає виникнення патологічного процесу [56 - 58].

До факторів ризику розвитку ДДМЗ у жінок з гінекологічною патологією належать гіперестрогенія й прогестеронова недостатність, зниження ФСГ у хворих з міомою матки й ендометріозом; гіперпролактинемія, порушення рівнів ТТГ, Т3 і Т4 при запальних захворюваннях геніталій; недостатність прогестерона й порушення рівня тиреоїдних гормонів у жінок з порушенням менструальної функції; збільшення вмісту біогенних амінів, в т.ч. серотоніна й катехоламінів у піхвовому секреті, продукції оксиду азоту у пацієнток із запальними процесами геніталій [56 - 58].

Протягом багаторічних досліджень визначалася структура гінекологічної захворюваності жінок з доброякісними дисплазіями молочних залоз, виділені фактори ризику розвитку гіперпластичних процесів молочних залоз, встановлено характер змін у молочних залозах у жінок з різними гінекологічними захворюваннями [56, 57, 78 - 81]. Втім, з огляду на поліетіологічність захворювань молочних залоз, можливості первинної профілактики цієї патології поки що обмежені. У зв'язку із цим активне і раннє виявлення захворювань молочної залози є найбільш реальним і перспективним напрямком боротьби із цією патологією.

За даними багатьох авторів поширеність в популяції ДДМЗ, ДНМЗ та злоякісних новоутворень молочної залози корелюють між собою. Однак, серед безлічі доброякісних захворювань молочної залози (фіброаденом, кист,

нодулярних і дифузних форм фіброаденоматозу) до власно передракових відносять лише ті, які супроводжуються проліферацією та вираженою дисплазією епітелію [14, 16, 82 - 88]. Таким чином, однією з основних проблем для діагностичного процесу стає визначення онкогенності тієї чи іншої доброякісної патології молочної залози, що зрештою дозволяє вибрати вид лікування і за потребою - оптимальний обсяг оперативного втручання.

В різних вікових групах ДДМЗ та ДНМЗ мають певні особливості. Різні автори відзначають перевагу дифузних мастопатій у жінок 35 - 44 років (30 - 50%), тоді як в інших вікових групах перевага цієї патології є меншою. У віковій групі 45 - 55 років більш часто виявляють кисти молочної залози ($34,3 \pm 0,91\%$), дещо рідше - локалізовані форми фіброаденоматозу ($25,2 \pm 0,61\%$) [14, 62 - 66, 89, 90]. Слід зазначити, що саме для цієї групи є притаманною і найбільша частота онкопатології.

В більшості країн світу, так само як і в Україні, РМЗ є одним з найпоширеніших злоякісних пухлинних процесів у жінок та посідає перше місце в структурі захворюваності й смертності від злоякісних новоутворень. Захворюваність на РМЗ в Україні зросла в розрахунку на 100 тис. жіночого населення з 54,1 в 1996 році до 70,9 в 2011 році. Кожна жінка, яка захворіла в Україні на рак молочної залози, в середньому втрачає 17 - 18 років життя [10 - 12]. Одеська область посідає одне з перших місць за рівнем захворюваності на РМЗ серед жінок України, в 2011 році стандартизований показник захворюваності на РМЗ в даній області склав 76,3 на 100 тис. жіночого населення [8, 13].

Не зважаючи на те, що різноманітні ДНМЗ не несуть загрози малігнізації, на етапі первинного контакту хворої із закладами охорони здоров'я та під час надання спеціалізованої медичної допомоги, фахівці нерідко стикаються з суттєвими труднощами диференційної діагностики доброякісних та злоякісних новоутворень молочної залози, насамперед у

відношенні таких нозологічних форм, як склерозуючий аденоз, хвороба Мінца, склерозуючі папілярні пухлини [16]. Враховуючи те, що вузлові форми мастопатії, внутрішньопротокові папіломи та інші ДНМЗ підлягають хірургічному лікуванню, є висока вірогідність того, що патоморфологічний діагноз буде максимально точним.

Результати досліджень показали, що ризик розвитку раку молочної залози при ДНМЗ підвищується на 56%. Це підвищення ризику відзначалося протягом 25 років після видалення доброякісного новоутворення молочної залози. Крім того, тип виявленого доброякісного новоутворення впливає на можливість розвитку РМЗ в майбутньому. Зокрема, у пацієток з атиповою гіперплазією ризик розвитку РМЗ збільшувався у 4,2 рази. У пацієток з проліферативними змінами без атипії клітин ризик розвитку РМЗ становив 88%, а при непроліферативних змінах - не перевищував 27%, що відповідає середньопопуляційному рівню [17 - 20, 91].

Насьогодні єдиним шляхом успішного зниження захворюваності та смертності жінок від РМЗ є поліпшення якості ранньої діагностики [21 - 23]. Доповнюючи клінічний огляд, УЗД та МГ, в діагностиці захворювань молочної залози широко використовується цитологічне дослідження виділень з соска молочної залози чи пунктату пухлини. В даному випадку цитологічне дослідження є повноцінним методом, що дозволяє встановити правильний морфологічний діагноз до операції та при динамічному спостереженні за хворими [24]. Однак, цитологічне дослідження, як більшість інших діагностичних методів, має певні обмеження, які залежать від способу одержання матеріалу, локалізації патологічного вогнища, особливостей його гістологічної будови та кваліфікації лікаря-цитолога [23, 25, 26].

Як показали дослідження деяких авторів, доброякісні та злоякісні новоутворення молочної залози мають комплекс взаємообумовлених

патогенетичних ланок, серед яких велике значення мають гормональні та імунні порушення [52 - 56]. За останні роки досягнутий значний прогрес у клінічному використанні різних біологічних маркерів прогнозу та сприйнятливості. У їх числі різноманітні онкогени, оцінка функціонального стану рецепторів естрогенів і прогестерона, маркери апоптоза, рецептори факторів росту тощо. Всі ці показники дозволяють більш детально вивчити молекулярно-біологічні особливості проліферативних захворювань молочної залози, асоціюються зі ступенем диференціювання та здатністю до малігнізації, а, отже, з особливостями перебігу й прогнозом захворювання в кожному конкретному випадку [78 - 81, 92].

Слід зазначити, що процеси патоморфозу при ДНМЗ є пов'язаними зі змінами в репродуктивній системі. Таким чином, є високою ймовірність виникнення патологічних змін в молочній залозі при різних гінекологічних захворюваннях, які призводять до порушень регуляції у системі «гіпоталамус-гіпофіз-яєчники» [78, 79].

За даними деяких авторів одночасні захворювання молочної залози і геніталій зустрічаються в 70 - 97% випадків [57, 58, 93, 94]. Так, Бурдіна Л.М. (1993 р.) вивчала стан молочних залоз при різних нейроендокринних захворюваннях. Були виділені групи ризику з розвитку захворювань молочних залоз. Найбільший ризик був виявлений у хворих із гіперпластичними процесами геніталій (ендометріоз, міома матки, гіперплазії ендометрію). Саме при цих гінекологічних захворюваннях була відзначена найвища частота патологічних змін молочних залоз.

Бурдіна Л.М. (1993 р.), Кіра Є.Ф. та ін. (2000 р.) спостерігали найбільш важкі прояви виражених форм мастопатії при ендометріозі [94 - 96]. Можливо, це пов'язано з тим, що ендометріюїдні ектопії чинять негативну дію на гормональну й овуляторну функцію яєчників, що у свою чергу проявляється ановуляцією і недостатністю лютеїнової фази. За даними

багатьох авторів при ендометріозі часто виявляються вузлові новоутворення молочної залози [96, 97]. Натомість, комплексне лікування ендометріозу веде до відносної стабілізації гормонального статусу жіночого організму, а згодом і до поліпшення стану молочної залози [96].

Інші автори у жінок з міомою матки виявили проліферативні форми мастопатії з перевагою залозистого компонента. У хворих з міомою матки частіше визначалися вузлові новоутворення, ніж в інших категорій гінекологічних хворих [98]. Сидорова І.З. та ін. (1999 р.) у своїх дослідженнях відзначили зростання частоти РМЗ у хворих з міомою матки в постменопаузі. Піддубний М.І. (1994 р.) виявив регресію патологічних змін у молочній залозі після надпівкової ампутації матки із придатками у хворих міомою матки. Подібні дані одержані й іншими дослідниками [99 - 105].

За іншими даними при гіперпластичних процесах ендометрію частіше спостерігаються інволютивні процеси молочної залози [106]. Більшість дослідників відзначає підвищення частоти виникнення ДНМЗ та РМЗ у жінок з гіперплазіями ендометрію в постменопаузі [14, 56, 57, 107 - 111].

У хворих з гіперандрогенією, в основному, відзначаються фіброзно-кистозні зміни молочної залози з яскраво вираженим фіброзним компонентом. Ці хворі мають дещо менший ризик розвитку патологічних змін в молочній залозі, ніж жінки з нормальним гормональним профілем [112 - 116]. У той же час деякі автори відзначають більш часті регресивні зміни у тканині молочної залози при гіперандрогеніях [14, 112, 113].

В патогенезі змін молочної залози при гіперпролактинемії відіграють роль не стільки підвищення рівня пролактина, скільки індуковане через центральні механізми регуляції гонадотропінів зниження функції яєчників, що проявляється гіпоестрогенією. У хворих з високим рівнем секреції пролактина переважають інволютивні процеси в молочній залозі [117 - 123]. При функціональній гіперпролактинемії Серов В.Н. (1999 р.) виявив жирову

інволюцію в 24% випадків, а в 45,7% випадків - гіперпластичні процеси в молочних залозах.

При склерополікістозі яєчників Бурдіна Л.М. (1998 р.) виявила в молочній залозі гіпопластичні зміни з переважанням у морфологічній картині жирової тканини й нерізко вираженим фіброзним компонентом, а Серов В.М. (1999 р.) відзначив більшу частоту розвитку мастопатії.

Деякі автори при запальних процесах матки й придатків у 85% жінок виявляли патологічні зміни молочної залози [56, 57, 101, 124 - 128]. Це є цілком природним, тому що запальні процеси геніталій можуть бути причиною значних структурних і функціональних змін гіпоталамо-яєчничкової системи, які, в свою чергу, можуть сприяти виникненню дисгормональних дисплазій та іншої патології молочної залози [101, 102, 124, 125]. Багато авторів вказують на те, що запальні процеси геніталій є сприятливим чинником розвитку мастопатії [56, 57, 126]. Є дослідження, що показують роль *Trichomonas vaginalis* та іншої специфічної флори у розвитку фіброзно-кістозної хвороби. Передбачається, що трихомонадна інфекція може викликати дисплазію епітелію молочної залози [127]. Водночас, Бурдіна Л.М. (1998 р.) у своїх дослідженнях показала, що запальним процесам геніталій не належить провідна роль у формуванні патологічних змін молочної залози, тому що частота й ступінь вираженості змін у молочних залозах при цих захворюваннях набагато менша, ніж при нейроендокринних хворобах.

На думку деяких фахівців при ДНМЗ і проліферативній мастопатії на тлі міоми матки й ендометріозу найчастіше відзначається гіперестрогенія, прогестеронова недостатність, зниження базальної секреції ФСГ; при запальних захворюваннях геніталій - гіперпролактинемія, порушення рівнів ТТГ, Т3 і Т4; підвищення показників біогенних амінів, гіперпродукція оксиду азоту; при порушенні менструальної функції - недостатність прогестерона,

дисбаланс тиреоїдних гормонів, зниження активності ензимів антиоксидатного захисту [57 - 61, 82, 129 - 138].

Отже, більшість дослідників вважають, що ризик розвитку захворювань молочної залози при гінекологічних захворюваннях значно зростає й основною групою ризику є пацієнтки з гіперпластичними процесами геніталій (міома матки, аденоми, гіперплазія ендометрію). Втім характер змін в молочній залозі та ступінь їхнього впливу на реалізацію ризику патології молочної залози досі є дискутабельним питанням [14, 82].

Садвакасова Г.С. (2010 р.) визначила, що у пацієнток з ДДМЗ має місце підвищення кількості функціонально найбільш активних клітин, що експресують рецептори до інтерлейкіну-2 (CD25+) і рецептори, що сприяють підвищенню адгезивних властивостей клітин (CD11b+) та продукції імунорегуляторного цитокіна інтерлейкіну-2 [117]. На думку автора, це й призводить до порушення гормонального статусу у вигляді підвищення рівня пролактину й естрадіола та до прогресування хвороби. Втім, переконливих доказів такого патогенетичного зв'язку робота казахського автора не містить.

У сьогоденні у практику впроваджено безліч різних моно- і поліклональних антитіл, що виявляють експресію тих або інших білків, пов'язаних зі структурними компонентами клітини, продуктами клітинного синтезу (гормонів, ферментів, імуноглобулінів), рецепторами й т.д. Втім, існуючі методи не можуть дати стовідсоткової гарантії ідентифікації патологічного процесу, схильного до малігнізації, сама наявність патологічно обтяжених алелів генів або змінена картина генної експресії не є верифікуючим діагностичним тестом [139 - 148]. У зв'язку з цим особливого значення набуває вивчення клінічного перебігу, ефективності лікування, гормонального статусу та інших факторів прогнозу при ДДМЗ та ДНМЗ.

Багаторічний досвід використання чутливих і високоспецифічних біохімічних тестів у медичній практиці показав, що впровадження

онкомаркерів у практику значно підвищує ефективність роботи онкологів [14, 28, 29, 34, 47, 65, 66, 76]. Однак, досі не вдалося розробити жодного пухлиноспецифічного серологічного діагностикума, здатного детектувати тільки злоякісну пухлину даного гістологічного типу й виявляти її локалізацію на більш ранніх етапах розвитку. На думку деяких фахівців, до деякої міри підвищити ефективність діагностики можна, використовуючи сполучення різних онкомаркерів у процесі тестування.

Вважається, що пухлинні маркери в практичній онкології повинні відповідати декільком вимогам: бути селективно пов'язаними з пухлинним ростом; концентрація їх у сироватці крові або сечі повинна корелювати з розміром пухлини; виявлятися до клінічного прояву рецидивів. Досі не існує пухлинних маркерів, що повністю відповідають перерахованим вимогам. Діагностична значимість багатьох пухлинних маркерів, що визначається специфічністю й чутливістю, різна. Тільки деякі з великої кількості виявлених маркерів мають практичний інтерес.

В онкологічній практиці маркери пухлинного росту поєднують у наступні класи: імунологічні (асоційовані з пухлиною антигени або антитіла до них), гормони (в т.ч. ектопічні), ферменти (фосфатази, лактатдегідрогенази тощо), продукти обміну (креатин, гідроксипролін, поліаміни, вільна ДНК), білки плазми (феритин, церулоплазмін, мікроглобулін), білкові продукти деградації пухлин [76].

До найбільш перспективних варто віднести пухлиноспецифічні антигени у зв'язку з можливістю одержання моноклональних антитіл з метою специфічної діагностики та лікування [14, 149, 150]. Численні дослідження виявили ряд антигенів, асоційованих з РМЗ людини, на поверхневій мембрані та в цитоплазмі пухлинних клітин. Для оцінки ступеня диференціювання пухлинних клітин молочної залози, що необхідно при визначенні тактики лікування та установленні прогнозу, існують серії

моноклональних антитіл, що виявляють диференційовані антигени епітеліальних клітин молочної залози.

Слід зазначити, що динаміка рівня маркера становить більший інтерес, чим одноразове вимірювання його рівня. Однак, запропоновані для потреб діагностики злоякісних новоутворень підходи та пухлинні маркери на ранніх стадіях захворювання не можуть використовуватися для диференційної діагностики з ДНМЗ.

Для проведення диференціювання ДНМЗ та РМЗ запропоновано декілька підходів. Російські автори пропонують для диференційної діагностики фіброаденоми й РМЗ метод, що включає введення стерильних голчастих електродів кондуктометра в знеболену досліджувану ділянку молочної залози, вимір електричного опору тканини спочатку на високих, а потім на низьких частотах і визначення коефіцієнта дисперсії поляризації (КДП), рівного відношенню електропровідності на низькій частоті до електропровідності на високій частоті. При значеннях КДП від 1,0 до 1,39 діагностують фіброаденому, від 1,4 до 1,69 - РМЗ, а КДП 1,7 - 2,2 характерний для нормальної тканини. Запропонована методика є недосконалою, тому що електропровідність насамперед залежить від наявності або відсутності набряку тканин (ступеня гідратації тканин). Але ж набряк, як супутній симптом, зустрічається в 70% випадків незалежно від наявності при цьому фіброаденоми, раку або може бути єдиною ознакою патології молочної залози [156].

Інший спосіб диференційної діагностики фіброаденоми та РМЗ полягає в тому, що в гістологічних зрізах пухлини морфометрично визначають кількість паренхіматозних клітин, фібробластів і фіброцитів, локалізованих периартеріолярно, і при числі паренхіматозних клітин, що дорівнює або менше $18,67 \pm 1,96$, числі фібробластів, рівному або більше $11,91 \pm 0,81$, числі фіброцитів, рівному або більше $14,00 \pm 1,07$, діагностують

фіброаденому; при числі паренхіматозних клітин, що дорівнює або більше $44,62 \pm 6,56$, числі фібробластів, рівному або менше $8,32 \pm 0,61$, числі фиброцитів, рівному або менше $8,65 \pm 0,72$, діагностують РМЗ [157]. Метод не знайшов широкого застосування, що пов'язано з його низькою діагностичною точністю – у злоякісному переродженні відіграє більшу роль не кількість клітин, а наявність ознак клітинної атипії.

Відомий спосіб скринінгової діагностики захворювань молочної залози, що супроводжуються синдромом галактореї, який включає фізикальний огляд, пальпацію, дослідження біохімічних показників і рівня пухлинного маркера СА-15.3 у виділеннях з молочної залози, і при підвищенні активності ферментів: аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази, амілази, лактатдегідрогенази, підвищенні рівня альбуміну, загального білка, сечової кислоти, пухлинного маркера СА-15.3 і зниженні активності γ -глутамілтранспептидази діагностують проліферативне захворювання молочної залози [56].

Для диференціації ДНМЗ та РМЗ запропоновано досліджувати експресію онкобілків сімейства C-erbB-2, різних маркерів апоптоза - bcl-2, bcl-x, p-53, CD-95 і ін., а також показники проліферативної активності пухлинних клітин Ki-67, PCNA, які за останніми даними корелюють з клінічними виходами захворювання, а саме виживаністю та ймовірністю виникнення рецидиву захворювання [136, 137].

Перспективним напрямком досліджень є визначення гормональної та лікарської чутливості пухлин для індивідуального підбору схем терапії [28, 151, 152]. Так, було показано, що найкращі результати ендокринної терапії РМЗ досягаються при естроген- та прогестеронпозитивному статусі рецепторного апарату залозистого епітелію. Рецепторпозитивні пухлини молочної залози більш високо диференційовані, відповідно їх клінічний перебіг є більш сприятливим, а прогноз - кращим [82, 155 - 160]. Це пов'язано

з тим, що при рецепторпозитивному статусі зберігається можливість ефективного застосування гормонотерапії, тоді як при рецепторнегативному статусі адекватна відповідь на лікування спостерігається лише в 10 - 15% випадків [156].

У сьогоднішні в клініках і лабораторіях використовується великий арсенал діагностичних методик. Так, для визначення гормонального статусу пухлин молочних залоз запропоновані радіолігандний, імуноферментний і імуногістохімічний методи. Перші два методи - біохімічні, засновані на реакції зв'язування ліганда в гомогенаті (цитозолі) пухлинних клітин, не дозволяють кількісно оцінити рецепторний статус, тоді як імуногістохімічний визначає належність гормонорецепторів саме до пухлинних клітин, що практично неможливо при біохімічних дослідженнях [161].

Однак, імуногістохімічне дослідження також має ряд недоліків, серед яких основними є втрата і маскування антигену під час приготування препаратів, а також більш тривалий час визначення молекулярних маркерів. Як альтернатива імуногістохімічному методу все більший практичний інтерес здобуває метод визначення експресії молекулярних маркерів на клітинному рівні, а саме імуноцитохімічний (ІЦХ) [162 - 165]. Той факт, що пункційна біопсія є простою малотравматичною процедурою, яка практично не супроводжується ускладненнями, але дозволяє одержати достатню кількість клітинного матеріалу для подальшого дослідження, свідчить про незаперечні переваги ІЦХ. Імуноцитохімічне дослідження не вимагає більших витрат робочого часу, виконується протягом 2 - 3 годин. Перевагою методу є й те, що при його використанні відсутні втрати та маскування антигенів при проведенні й депарафінізації матеріалу з використанням агресивних хімічних реагентів, які властиві імуногістохімічному методу та

негативно позначаються на мембранних і цитоплазматичних рецепторах [163].

Іноді можливості імуноцитохімічного методу обмежуються поганою якістю мазків або малою кількістю клітин в цитопрепаратах [163, 164]. Для вирішення цієї проблеми широко використовуються так звані рідинні системи, коли пунктати, отримані під контролем УЗД, вносять у спеціальне середовище нагромадження і потім центрифугують її для концентрації малої кількості клітин в одному з мініполів на склі. Багато авторів відзначають більші переваги таких препаратів: клітини розташовуються в моношарі, зберігається їх архітектоніка, зменшується кількість елементів крові, концентрація клітин в одному місці значно заощаджує дорогі сироватки, поліпшується якість результатів дослідження [164, 165].

Зіставлення результатів експресії молекулярних маркерів при імуноцитохімічному та імуногістохімічному методах проводилося багатьма дослідниками, які довели, що збіг результатів імуноцитохімічного та імуногістохімічного дослідження складає від 61 до 92% [162, 166 - 172].

Результати досліджень проведених різними науковими колективами свідчать про великі можливості імуноцитохімічного методу в передопераційній діагностиці й оцінці деяких факторів прогнозу перебігу пухлинного процесу. Можливість до початку лікування визначити рецепторний статус пухлини і найважливіші фактори, що впливають на прогноз захворювання, дозволяє адекватно спланувати лікування до одержання гістологічного висновку.

Робота Кветного І.М. та ін. (2006 р.) присвячена удосконаленню методології комп'ютерної цифрової обробки мікрофотографій з метою стандартизації кількісного аналізу результатів морфологічного дослідження. Матеріалом для дослідження служила тканина молочної залози при різних формах гіперплазії (фіброаденома, проліферативний та непроліферативний

варіант фіброкистозної хвороби), у якій визначали експресію білків-регуляторів апоптозу: p53, Mc1-1 та ядерного антигену проліферуючих клітин - PCNA. Всі маркери досліджували на парафінових зрізах (товщина 5 мкм) авідінбіотиновим імунопероксидазним методом. Попередньо тканину молочної залози фіксували в нейтральному формаліні (рН=7,2). Перед постановкою реакції з антитілами до внутрішньоядерних маркерів p53 і PCNA проводили високотемпературне демаскування антигену в цитратному буфері (рН=7,6). Постановку імуногістохімічної реакції здійснювали за стандартним протоколом з використанням моноклональних мишачих антитіл до p53. Як позитивний контроль на Mc1-1 була використана слизова оболонка тонкої кишки людини, на p53 - тканина аденокарциноми товстої кишки, на PCNA - шкіра. Негативний контроль у всіх випадках проводили із застосуванням сироватки, що блокує. Результати дослідження свідчать про можливість уніфікації аналізу мікрофотографій за допомогою сучасних інформаційних технологій.

В іншій роботі, Волченко М.М. і Савостикова М.В. (2006 р.) представили результати 224 імуноцитохімічних досліджень експресії рецепторів естрогенів і прогестерона, онкопротеїна c-erbв-2 у гормонально-диспластичних і доброякісних новоутвореннях молочної залози: фіброзно-кистозній хворобі, фіброаденомі, гінекомастії. Експресія рецепторів естрогену була відзначена в 43,5%, рецепторів прогестерона - в 55%, онкопротеїна c-erbв-2 - в 22% спостережень. У частині спостережень експресія була пов'язана з вираженим ступенем клітинної проліферації й диспластичними змінами епітелію, що на думку авторів статті змушує шукати нові підходи до лікування доброякісних новоутворень і профілактиці РМЗ.

На сьогодні актуальним є виявлення фонових передракових процесів з використанням молекулярних, біохімічних і генетичних маркерів. У цьому

аспекті широко досліджується роль локальних тканинних факторів з аутокринно-паракринним механізмом дії (EGF, TGF β). Як показують сучасні дослідження, вони можуть бути модуляторами гормональних впливів на клітини і тканини та, відповідно, брати участь у патогенезі ряду захворювань молочної залози [59, 82, 173 - 196].

Зокрема, у цьому аспекті все більшу увагу дослідників привертають ендометріальні білки α 1-мікроглобулін (ПАМГ) і альфа2-мікроглобулін фертильності (АМГФ) або глікоделін. Як показали сучасні дослідження, ПАМГ і глікоделін беруть участь у тонкій регуляції клітинних взаємодій [174 - 177]. Згідно даним Rutanen E.M. (2000 р.), ПАМГ за допомогою аутокринних й паракринних механізмів може модулювати дію не тільки інсуліноподібних факторів росту, але й стероїдних гормонів. В останні роки активно вивчається вплив прогестерон- і релаксин-залежного ендометріального білка, глікоделіну на процеси апоптозу, ангіонеогенезу, його дія на клітини імунної системи у жінок з ДДМЗ та ДНМЗ.

Перспективним біомаркером пухлинної прогресії при ДНМЗ та РМЗ є ендотеліальний фактор росту судин (VEGF) - глікопротеїн, що зв'язується лише з ендотеліальними клітинами і стимулює їх проліферацією. Крім ангіогенної дії VEGF значно підсилює проникність судин. З цією його властивістю пов'язують локальну екстравазацію, яка спостерігається при деяких пухлинах [178 - 181].

VEGF і основний фактор росту фібробластів (β -FGF) вважаються одними з важливих індукторів пухлинного ангіогенезу. Експресія VEGF підвищується при гіпоксії або активації деяких онкогенів. Підвищена експресія p53 приводить до репресії транскрипції гена VEGF, а також гена H1-1. Експресія VEGF значно нижче в пухлинах, що не містять p53 мутантного типу і низьким ступенем васкуляризації [159, 174].

Висока експресія VEGF у злюкисних пухлинах молочної залози пов'язана з несприятливим прогнозом. Визначення й моніторинг рівня VEGF у сироватці крові в процесі лікування дозволяє оцінити можливість застосування цього показника для індивідуалізації системного лікування хворих на РМЗ. Представлені вперше в 2008 році дані про ефективність інгібітору VEGF бевацизумаба при метастатичному РМЗ надають цьому компоненту таргетної терапії особливу актуальність [179]. Так, клінічні дані продемонстрували, що людські моноклональні антитіла до VEGF можуть збільшити тривалість життя хворих на РМЗ. Втім, досвіду використання цього маркера в діагностиці ДНМЗ у світі обмаль [149, 150, 185].

Експресія VEGF стимулюється безліччю проангіогенних факторів, включаючи епідермальний фактор росту, основний фактор росту фібробластів, тромбоцитів і інтерлейкин-1 β . Крім того, рівні VEGF безпосередньо регулюються такими факторами навколишнього середовища, як рН, тиск і концентрація кисню. Загальний вплив цих різних факторів полягає в опосередкованій через VEGF стимуляції важливих для ангіогенезу факторів, включаючи антиапоптотичні гілки, молекули клітинної адгезії й металопротеїнази [181, 185, 188 - 190].

Незрілі кровоносні судини існують переважно на етапі розвитку організму, а в дорослих - лише в деяких ситуаціях, наприклад, у процесі загоєння ран або захворювань, що характеризуються аномальним ангіогенезом, наприклад, онкологічних. Під час відсутності ростових сигналів ендотеліальні клітини цих незрілих кровоносних судин піддаються програмованій клітинній загибелі (апоптозу). VEGF перешкоджає апоптозу ендотеліальних клітин у незрілих кровоносних судинах, тим самим зберігаючи їхню життєздатність. На відміну від цього, зрілі кровоносні судини, з яких сформована судинна система дорослого, більше не мають

потреби в VEGF для свого виживання і тому навряд чи будуть страждати від пригнічення активності VEGF [191 - 194].

VEGF стимулює проникність дрібних кровоносних судин. Підвищена проникність веде до діapedезу білків плазми через стінку судини й формуванню екстравазального фібринового гелю. Цей гель являє собою добре середовище для росту клітин ендотелію. У присутності високих концентрацій VEGF, характерних для онкологічних захворювань, судини здобувають надзвичайно високу проникність. Таким чином, оцінка експресії VEGF у тканині молочної залози може бути цінним критерієм для визначення прогнозу захворювання [178 - 185, 188, 191, 192]. З іншого боку, зміни експресії даного фактору росту вочевидь можуть мати й саногенетичне значення [178, 179, 196].

Інтерлейкін-6 (IL-6) є прозапальним цитокином, якому приписують участь у процесах гіперкоагуляції, а також у регуляції судинного тонусу. Збільшення його концентрації у внутрішніх середовищах є характерним для гострого запалення - IL-6 є одним з найважливіших медіаторів гострої фази запалення. Слід зазначити, що за певних умов IL-6 може діяти як антизапальний цитокін [193 - 195].

Тумор-некротичний фактор (TNF, кахексін або кахектин) є плейотропним прозапальним цитокином. З моменту його виділення у чистому вигляді Carswell et al. в 1975 р. ця біологічно активна речовина є предметом чисельних досліджень у різних галузях теоретичної та практичної медицини. Цитокіни - антигеннеспецифічні фактори. Тому специфічна діагностика неопластичних захворювань за допомогою визначення рівня цитокінів неможлива. Але визначення їх концентрації в крові надає важливу інформацію про функціональну активність різних типів імунокомпетентних клітин; про важкість патологічного процесу, його перехід на системний рівень, та, зрештою, про прогноз захворювання.

Предиктивна медицина - це новий напрямок молекулярно-біологічних досліджень у клінічній медицині, що виник завдяки розшифровці геному людини та має дві характерні риси - індивідуальний підхід до хворого та попереджувальний характер. Визначення генної мережі захворювання, ідентифікація в ній центральних генів і генів-модифікаторів, аналіз асоціації їх поліморфізмів з конкретним захворюванням, розробка на цій основі комплексу профілактичних заходів для конкретного пацієнта є основою предиктивної медицини. Актуальною областю досліджень сьогодення є вивчення факторів схильності до онкологічних захворювань, в основі яких лежить поліморфізм генів [28, 33, 34, 44].

Відповідний сімейний анамнез є в 20% випадків у хворих на рак молочної залози [28]. У жінок з "вираженою" сімейною схильністю (у родички першого ступеня був РМЗ у віці до 50 років) ризик розвитку раку молочної залози становить 93%. У жінок зі "слабкою" сімейною схильністю ризик розвитку РМЗ становить 43%. У жінок без сімейної схильності ризик розвитку РМЗ становить 18%.

Той факт, що захворювання часто успадковується по материнській лінії (аутосомно-домінантний тип), було встановлено у 60-х роках. В таких сім'ях нерідко виявляють мутантні гени BRCA1 (113705, 17q21, R(113705, 17q21R)) і BRCA2. При наявності гена BRCA1 рак молочної залози розвивається в 85% випадків (Любченко Л.М., 2010 р.) [40]. Однак в останні роки ставлення до доцільності скринінгу жіночого населення на носійництво цього мутантного гену є більш скептичним – за даними американських дослідників BRCA1 обумовлює не більше 1,5% випадків раку молочної залози у загальній популяції та не більше 8% випадків так званого «сімейного» раку.

Встановлено, що гени BRCA1 і BRCA2 є генами-супресорами пухлинного росту і належать до групи "генів загального контролю". Обидва гена відіграють важливу роль у процесах ембріонального розвитку. В 5 - 10%

усіх випадків раку молочної залози зустрічаються мутації гена BRCA1. Однак, гермінативні мутації BRCA1 і BRCA2 не пояснюють весь спектр спадкових форм раку органів жіночої репродуктивної системи. В більшості випадків рак молочної залози не пов'язаний з мутацією зазначених генів, а може бути обумовлений порушеннями репродуктивної поведінки в онтогенезі та змінами традиційного укладу життя в сучасних умовах. При мутаціях гена E-кадгеріна (192090, 16q22.1, COR, UVO, RR), білка міжклітинних взаємодій також розвивається рак молочної залози та яєчників. З цією ж мутацією пов'язують розвиток раку ендометрію. На сьогодні мутації більше 500 генів асоціюють з ризиком виникнення РМЗ [38, 39].

За даними деяких авторів (Сінявіна Л.В., 2006; Успенський Д.А., 2003; Бубликов И.Д., 1998; Ditsch N. et al. 2010; Saraiva P.P. et al., 2005) одним з провідних чинників ризику виникнення як доброякісних, так і злоякісних новоутворень молочної залози, є порушення функції щитоподібної залози. При цьому взаємозалежність репродуктивного статусу, як одного з основних факторів, що впливають на ризик виникнення ДНМЗ, у літературних джерелах оцінюється неоднозначно.

Ряд дослідників пояснює це закономірними змінами у співвідношеннях між прогестероном і естрогеном, а також між фракціями естрогену при порушенні функціональної активності щитоподібної залози. При цьому туморогенез може бути асоційованим як з гіпертиреоїдними, так і з гіпотиреоїдними станами. Гормональні зрушення при гіпотиреозі, що призводять до збільшення маси тіла, розвитку інсулінорезистентності і гіперінсулінемії, сприяють формуванню мастопатій, що пояснюється здебільшого дією інсуліну, який має власні рецептори на клітинах епітелію дольок та стимулює їх проліферацію. Таким чином, порушення гормонального профілю у жінок з тиреоїдною патологією можуть призвести до зміни стану рецепторної системи в молочних залозах і розвитку в них

дисгормональної гіперплазії. При цьому вираженість проліферативних змін не пов'язана безпосередньо з мірою порушення тиреоїдного статусу [8, 153, 154].

Perou C. et al. (2000 p.) вказують на те, що цінним маркером прогнозу може бути рівень експресії генів, відповідальних за клітинну проліферацію. На думку авторів цей показник є досить сталим й може навіть використовуватися для класифікації пухлин.

Таїц І.П. (2010 p.) дослідила частоту алельного поліморфізму гена GP-IIIa, що контролює синтез β -3 субодиниці інтегринових рецепторів, у жінок з ДДМЗ та ДНМЗ. Нею встановлено, що носійництво алеля PL-AI гена виключає ймовірність виникнення доброякісних захворювань молочної залози. Пацієнтки, гомозиготні за алеллю PL-AI гена GP-IIIa, належать до групи ризику по розвитку ДДМЗ та ДНМЗ, при цьому частота різних поліморфізмів даного гена у пацієток з різним гістологічним типом патології молочної залози не розрізнялася. Основним патогенетичним фактором у розвитку патології автор вважає зміни імунореактивності у жінок з поліморфізмом PL-AI гена GP-IIIa та визначила тісний зв'язок доброякісної патології молочної залози з рівнем ембріотропних аутоантитіл [55].

Коган І.Ю. (2005 p.) представив дані про особливості, виявлених для рівнів естрогенних рецепторів, маркерів проліферації PCNA, Ki-67, регуляторних білків апоптозу (Msi-1, p53) у тканинах молочної залози при різних гістологічних формах її фіброкистозних змін. Найбільш значимі розходження між гістологічними варіантами фіброкистозної хвороби були виявлені в змісті антиапоптозного фактора Msi-1. Виявлено гетерогенність молекулярно-біологічних характеристик різних типів гіперпластичного процесу в молочній залозі. В даній роботі показано, що вже на етапі атипової проліферації епітелію можлива наявність некомпенсованого стану тканини, що характеризується відносним переважанням мітотичної активності над

процесом апоптозу. При цьому експресія естрогенових рецепторів та факторів проліферації в тканинах молочної залози при її фіброзно-кістозних змінах знаходилися у реципрокних відносинах.

Таким чином, проблема діагностики проліферативних форм ДДМЗ і ДНМЗ, що є фактором високого ризику розвитку РМЗ, залишається невирішеною. Інвазивні методи дослідження стану молочної залози, які існують та використовуються у сьогоденні, переважно орієнтовані на фокальні утворення, що виявляють на підставі клінічного, ехографічного та/або рентгенологічного методів дослідження [197 - 216]. Відомо, що до 56% випадків атипової гіперплазії молочної залози можуть мати клінічний перебіг без формування вузлового компоненту [14, 52, 55]. Тому діагностика, а, отже, і вчасне лікування проліферативних форм ДДМЗ та ДНМЗ є складною проблемою.

У таких випадках важливо виділити клінічні маркери, які тісно асоційовані з розвитком гіперпластичного процесу в молочній залозі. До таких маркерів, на думку К.Н. Байлюк та ін. (2008 р.), належать комбіновані методи, зокрема метод мультифокальної трепанбіопсії молочної залози з ехографічним контролем. За даними авторів чутливість методу складає 96%, а специфічність - 98%. Однак ці дані були одержані на невеликій когорті хворих із сполученням ДДМЗ та міоми матки, досвіду використання даного методу з метою скринінгу за даними літератури немає.

Незважаючи на все різноманіття методичних підходів до діагностики і прогнозування розвитку РМЗ, нерідко після проведеного лікування та оперативних втручань з приводу верифікованих доброякісних пухлин молочної залози в подальшому у даних пацієнток діагностують РМЗ. Тому надзвичайно актуальним питанням залишається пошук нових ефективних схем профілактики несприятливих клінічних виходів у хворих з доброякісною патологією молочної залози.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Клінічна характеристика хворих

Дисертаційне дослідження виконано на 592 хірургічних хворих з доброякісними новоутвореннями молочної залози, яким було проведено оперативне лікування. Дослідження було проведено у два етапи. У 536 хворих, яким було виконано оперативне лікування в 2008 – 2010 рр., проведено ретроспективне дослідження наявності факторів ризику розвитку даної патології; 56 хворих було включено до проспективного дослідження ризику розвитку раку молочної залози з використанням молекулярно-генетичного методу (рис. 2.1).

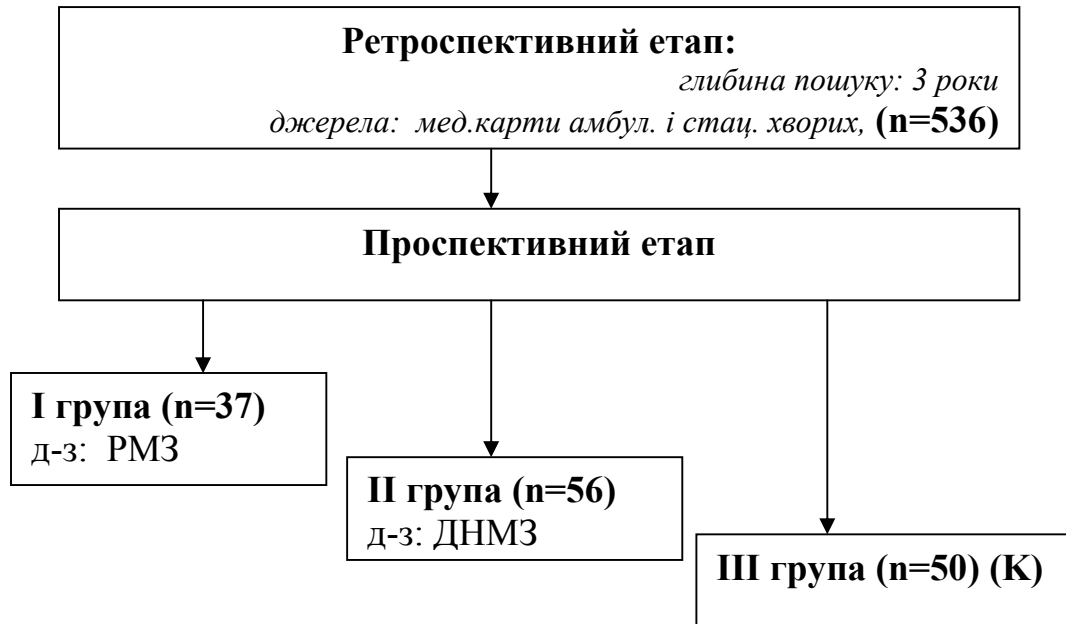


Рис. 2.1 Дизайн дослідження.

Перспективний етап дослідження виконано на базі хірургічного відділення з інвазивними методами діагностики та лікування Центру реконструктивної та відновної медицини (Університетська клініка) ОНМедУ на протязі 2010 – 2012 рр. Всього у перспективному дослідженні приймало участь 143 жінки, у тому числі 37 – з верифікованим раком молочної залози (I група), 56 – з доброякісними новоутвореннями молочної залози (II група) та 50 – здорових жінок (III група - контрольна). У хворих I та II групи перед проведенням оперативного лікування було досліджено наявність мутацій поліморфізму C634G гена VEGF та поліморфізму G308A гена TNF α .

З метою вивчення ефективності триступеневої системи надання медичної допомоги мамологічним хворим проведено ретроспективний аналіз звітної медичної документації (форма №12, форма №35-здоров) за 2008 – 2010 рр. із визначенням епідеміології доброякісної патології та раку молочної залози у жінок м. Одеси та її динаміки в 2011 – 2012 рр. після впровадження удосконаленого алгоритму діагностики захворювань молочної залози.

Обстеження жінок, які прийняли участь у дослідженні, проводили згідно з наказами МОЗ України від 03.11.2008р. №624 та від 30.07.2010р. №645 [217]. Згідно з цими наказами клінічне обстеження проводиться у всіх вікових групах щорічно, а у жінок старших 40 років додатково проводиться мамографія. Жінкам проводилося клінічне, лабораторні, променеві, патоморфологічні, генетичні, клініко-генеалогічні дослідження, для інтерпритації отриманих результатів використовувалися методи статистичної обробки.

2.2 Методика досліджень

2.2.1 Клінічне дослідження. Клінічне обстеження молочних залоз, окрім огляду та пальпації, включало ретельний збір анамнезу з

урахуванням факторів ризику розвитку РМЗ, у якості яких враховували:

- вік більше 35 років;
- сімейний анамнез: при наявності онкопатології у родичів;
- вік менархе до 12 років;
- перші пологи після 30 років;
- менопауза після 55 років;
- атипія в результатах попередніх біопсійних матеріалів;
- зловживання алкоголем (вживання більш 100 мл міцних напоїв або 200 мл вина в день);
- вживання екзогенних гормонів: при безперервному вживанні КОК або ЗГТ більше 10 років.

При клінічному обстеженні звертали увагу на дані анамнезу, враховуючи при цьому всі перелічені фактори ризику, супутні захворювання, в першу чергу гінекологічного та ендокринологічного профілю. Клінічне обстеження дає можливість оцінити стан шкіри, ареол і сосків (при цьому звертали увагу на ділянки уплощення, втягнення, набряку шкіри, втягнення і ерозію сосків), визначити наявність і характер виділень з сосків. При огляді і пальпаторному дослідженні вивчали ступінь розвитку молочних залоз, форму, розміри, стан шкірного покриву, соска, ареолярної зони, наявність волосянності ареоли, деформації соска, наявність шкірних рубцевих змін, втягнення, вибухань, пігментації.

Правильно проведена пальпація в різних позиціях дозволяла виявити пухлиноподібні утворення, їх розміри, консистенцію, рухливість, контури, зв'язок з навколишніми тканинами, шкірою і соском. При цьому обов'язково були обстежені зони регіонарного лімфовідтоку - пахвові, над- і підключичні області. При клінічному обстеженні молочних залоз визначаючим є принцип онкозастереженості. Клінічними ознаками малігнізації визначали наступні:

- пухлина, яка виявляється при пальпації;

- втягування соска або шкіри молочної залози;
- асиметрія сосків;
- ерозія соска;
- біль в молочній залозі;
- аксиллярна лімфаденопатія;
- набряк верхньої кінцівки;
- набряк шкіри молочної залози — “лимонна шкірка”.

При обстеженні молочних залоз та веденні жінки при виявленні патології молочної залози застосовували правило “семи позицій”:

- 1) положення — обстеження жінки проводилося спочатку у положенні сидячи, далі - стоячи, після цього - лежачи з піднятими руками;
- 2) розміру — звертали увагу на асиметрію розмірів залоз;
- 3) пальпації — проводилася “за часовою стрілкою годинника” пучками пальців;
- 4) тиску — відмічають щільність молочної залози, за умови наявності утворення — його щільність та зміщення;
- 5) методика обстеження — повинна відповідати прийнятому алгоритму;
- 6) зворотного зв'язку — передбачає узгодженість та послідовність дій спеціалістів різного фаху;
- 7) диспансерне спостереження.

При виявленні патології під час проведення скринінгу, здійснювалося подальше обстеження стану молочної залози, яке проводилося з використанням “потрійного тесту”, що включає:

- клінічне обстеження молочних залоз;
- білатеральну мамографію після 40 років;
- при наявності об'ємних утворень - тонкогільчату аспіраційну біопсію під контролем УЗД з наступним цитологічним дослідженням.

2.2.2 Лабораторні дослідження. Лабораторні дослідження жінкам проводилися в клінічній лабораторії Центру реконструктивної та відновної медицини (Університетська клініка) ОНМедУ. Забір венозної крові проводився натще в одноразові вакуумні пробірки. Показники загального аналізу крові отримували з цільної венозної крові за допомогою автоматичного аналізатору Cobas Micros (Франція). Показники системи згортання крові отримували з плазми крові за допомогою напівавтоматичного аналізатору TS – 400 (США). Біохімічні показники та гормони крові отримували з сироватки крові за допомогою автоматичних аналізаторів відповідно Respons 920 (Німеччина) та Chem Well (США) [218]. Для визначення рівня гормонів крові використовували імуноферментний метод дослідження.

2.2.3 Променеві дослідження. У жінок віком менше 40 років з метою зниження променевого навантаження на організм при пальпаторному виявленні об'ємного новоутворення в молочній залозі для діагностики доцільно використовувати замість мамографії УЗД молочних залоз.

Показання до проведення УЗД:

- скринінг молочних залоз у молодих жінок (вік менше 40 років);
- моніторинг стану молочних залоз у жінок, які приймають гормональні препарати (гестагени, КОК, ЗГТ);
- інтерпретація мамографічних даних щодо визначення структури об'ємних утворень;
- динамічне спостереження за розмірами об'ємних новоутворень у молодих жінок;
- контрольне обстеження після пункційної біопсії та хірургічних втручань на молочній залозі.

Обстеження краще проводити в першій фазі менструального циклу. УЗД є як самостійним методом виявлення доброякісних і злоякісних утворень, так і додатковим, що застосовується в сукупності з методом рентгенівської мамографії. У ряді випадків ультразвук перевершує діагностичні можливості мамографії - при дослідженні щільних молочних залоз у молодих жінок; має ряд переваг у диференціації рідинних і солідних утворень; у жінок, які страждають на ДДМЗ. Крім того, ультразвукові сканери використовуються для динамічного спостереження за вже виявленими ДНМЗ, щоб визначити, чи не відбулося жодних змін. Під час вагітності та в період годування грудьми - ультразвук є провідним методом дослідження молочних залоз. Використання високочастотного датчика забезпечує достатню роздільну здатність для визначення новоутворень навіть малого розміру. УЗД молочних залоз проводили за допомогою апарату Aloka Prosound α 6 (Японія). Проте, необхідно враховувати, що при УЗД недостатня візуалізація ранніх доклінічних форм, невеликих за розміром вогнищ РМЗ.

“Золотим стандартом” обстеження молочних залоз є білатеральна мамографія, що обумовлено: радіорезистентністю тканини зрілої молочної залози, низькою дозою опромінення сучасних мамографічних апаратів, високою ефективністю діагностики безсимптомних злоякісних пухлин: 85 - 90%. Інформативність та діагностична цінність мамографії визначається мамографічною щільністю – це ступінь рентгенологічної щільності тканини молочної залози. Висока мамографічна щільність відмічається при перевазі фіброзної тканини, низька — при жировій інволюції молочних залоз, проміжна - при тому або іншому ступені візуалізації протокових структур.

Оцінка мамографічної щільності при інтерпретації мамограм проводилася рентгенологом відповідно до класифікації (Wolfe J.N., 1987; Byrne C., Schairer C., 1995) [204, 215], відповідно до якої визначаються чотири типи мамограм:

N1 — паренхіма представлена цілком або майже цілком жировою тканиною, можуть бути поодинокі фіброзні сполучнотканинні тяжі.

P1 — візуалізуються протокові структури, які займають не більше 25% обсягу молочної залози.

P2 — протокові структури займають більше 25% обсягу молочної залози.

DY — надзвичайно щільна (непрозора) паренхіма (“дисплазія”), що зазвичай вказує на гіперплазію сполучної тканини.

Встановлення мамографічної щільності має важливе діагностично-прогностичне значення: ризик розвитку РМЗ у жінок з підвищеною мамографічною щільністю в 3 рази вищий, ніж у жінок із нормальною мамографічною щільністю. Мамографію проводили на апараті Hologic M IV (США). Прийом екзогенних естрогенів та гестагенів підвищують щільність тканини молочної залози на мамограмі, чим знижують діагностичні можливості мамографії при виявленні ранніх стадій РМЗ. Це вимагає більш уважного підходу до оцінки мамограм у разі обстеженні пацієток, які приймають гормональні препарати.

Магнітно-резонансна томографія (МРТ) з контрастним посиленням є високочутливим методом візуалізації патології молочних залоз. МРТ молочних залоз проводиться жінкам між 6-м і 17-м днями менструального циклу. При МРТ можлива візуалізація обох молочних залоз одночасно, що обумовлює перевага методу у виявленні прихованих злоякісних утворень в протилежній залозі у пацієток з РМЗ. МРТ дозволяє чітко відрізнити жирові структури від злоякісних новоутворень (що досить важко зробити при УЗД). Імпульсні послідовності, що використовуються в МРТ, дозволяють «придушити» МР-сигнал від жирової тканини. При МРТ чітко диференціюються кистозні новоутворення, що мають характерний МР-сигнал, дослідження з контрастуванням дозволяє диференціювати запальні

захворювання молочних залоз від пухлин, виконати передопераційну оцінку абсцесів і ходів нориць в тканині молочної залози. МРТ дозволяє проводити аналіз контрастування і виведення контрастної речовини тканиною молочної залози, що є основою для можливості відрізнити злоякісні і доброякісні новоутворення. Показаннями до МРТ молочних залоз з контрастним посиленням є:

1. Передопераційна оцінка поширеності пухлини і виявлення змін в іншій молочній залозі.

2. Оцінка рубцювання після органозберігаючого лікування або відновних операцій на молочній залозі (особливо за наявності супутніх фіброзних змін залози). МРТ дозволяє чітко диференціювати фіброзно-змінену і рубцеву тканину молочної залози, у разі рецидиву - чітко виділити з фіброзного конгломерату пухлинну тканину.

3. У разі виявлення метастатичного ураження лімфатичних вузлів або віддалених метастазів неясного походження МРТ повинна бути рекомендована в якості методу пошуку первинного ураження (навіть при рентгенонегативних результатах), особливо при обстеженні пацієток групи високого ризику (з мамографічно щільною тканиною молочних залоз).

У пацієток з силіконовими імплантами МРТ з контрастним посиленням дає інформацію, яку неможливо отримати іншими методами. Структура силіконового імпланту під час проведення МРТ чітко виділяється в тканині молочної залози і не є значною перешкодою для діагностики навіть невеликих патологічних змін на відміну від інших методів медичної візуалізації. Рентгенівська мамографія, комп'ютерна томографія та УЗД не володіють такими можливостями - для цих методів силіконові імпланти є істотною діагностичною перешкодою.

Проведення МРТ можна рекомендувати хворим з діагностичними проблемами, зумовленими грубим рубцюванням тканини молочної залози.

Крім того, вкрай необхідно в комплексі діагностичних заходів використовувати МРТ молочних залоз у пацієнток групи високого ризику (реконструктивна хірургія при видаленні пухлин II - III стадії, мультифокальних пухлин, стан після рецидиву пухлини).

Для інтерпретації результатів обстеження молочних залоз за допомогою мамографії, УЗД та МРТ використовуються міжнародні категорії BIRADS:

Категорія BIRADS 0: неможливо прийти до однозначного висновку за результатами візуалізації, необхідно дообстеження. Ця категорія правомірна при скринінгових обстеженнях.

Категорія BIRADS 1: нормальні результати мамографії, немає новоутворень, порушень архітекτονіки або підозрілих кальцинатів.

Категорія BIRADS 2: доброякісні зміни.

Категорія BIRADS 3: найбільш ймовірно доброякісне новоутворення (до 98% за те, що є доброякісний процес), контрольна візуалізація через 3-6 місяців.

Категорія BIRADS 4: новоутворення, підозріле на злякисний процес, необхідна морфологічна верифікація.

Категорія BIRADS 5: всі виявлені ознаки вказують на наявність раку молочної залози.

Категорія BIRADS 6: під цю категорію потрапляють пацієнтки з уже верифікованим діагнозом злякисного процесу молочної залози.

2.2.4. Патоморфологічні дослідження. Біоптати пухлин молочної залози відбиралися шляхом аспіраційної тонкоголкової пункційної біопсії та трепанобіопсії. Клітинний та тканинний матеріал вузлових новоутворень досліджувався лікарем патоморфологом за допомогою патоморфологічних методів у патологоанатомічному відділенні Центру реконструктивної та відновної медицини (Університетська клініка) ОНМедУ.

Тонкоголкова пункційна аспіраційна біопсія ДНМЗ та РМЗ проводилася одноразовим шприцем об'ємом 20 мл. Пунктат поміщали на

предметне скло, проводили фіксацію етиловим спиртом 96%, фарбували мазки за методикою Папаніколау.

Для проведення забору гістологічного матеріалу використовували одноразові стерильні голки для трепанбіопсії діаметром G14 і G16, які поміщали в спеціальний напівавтоматичний пристрій. Після проведення місцевої анестезії шкіри та ділянки молочної залози з пухлиною проводили голку для трепанбіопсії крізь шкіру і підшкірно-жирову клітковину в паренхіму молочної залози аж до пухлини, яку пунктуємо. В цій точці при натисканні кнопки напівавтоматичного біопсійного пристрою він вистрілював і голка висувалася вперед. Після кожного вистрілювання голку витягали, відкривали камеру і оцінювали якість отриманого зразка тканини. В більшості випадків проводили дві або три біопсії для забезпечення отримання адекватних зразків тканини. Частину отриманої тканини негайно замочували в буферному розчині формальдегіду і направляли до патоморфологічної лабораторії для гістологічного та імуногістохімічного аналізу; іншу частину тканини поміщали в стерильну пробірку і негайно відправляли для дослідження до генетичної лабораторії. У здорових жінок біопсію тканини молочної залози не робили.

Фрагменти біопсійного матеріалу товщиною до 3 мм фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну рН 7.0 на протязі 24 годин при температурі 37 °С. Далі в вакуумній камері мікрохвильового гістопроесора Histos 5 (Milestone S.r.l., Італія) згідно з протоколом для типів тканин проводилася дегідратація патентованим розчином JFC (Milestone S.r.l., Італія), парафінізація шматочків тканини в поліфункціональному вакуумному мікрохвильовому гістопроесорі Histos 5 (Milestone S.r.l., Італія). Протокол дослідження зафіксовано, відповідає стандартам якості ISO та GLP. Заливка проводилася в касетні блоки (ПластиВакс). Зрізи товщиною 5 - 6 мкм виконувалися на роторному мікроскопі Leica (Німеччина) одноразовими

ножами. Препарати фарбувалися за стандартною методикою гематоксиліном-еозином (готовими розчинами гематоксиліну Гарріса (GBG) та еозина (БіоОптика, Італія)). Зрізи покривалися БіоМаунтом (БіоОптика, Італія) та покривним склом.

Вивчалися цитологічні і гістологічні препарати на мікроскопі Leica DM750 з фото-відеовиходом та камерою 5М пікселів. Оцінка результатів проводилася згідно із загальновизнаними цитологічними та гістологічними критеріями.

2.2.5 Генетичні дослідження. Генетичні дослідження проводилися в молекулярно-генетичній лабораторії Центру реконструктивної та відновної медицини (Університетська клініка) ОНМедУ.

Матеріалом для генетичного дослідження були цільна венозна кров та біоптат пухлини молочної залози. Для отримання 1 зразка ДНК з цільної крові до епендорфу відбирали 100 мкл цільної крові та додавали 300 мкл лізуючого розчину. Біоптат, що отримали в результаті проведення трепанбіопсії новоутворення молочної залози, розміром більше 50 мм³ поміщали в порцелянову ступку. Додавали рівний об'єм фізрозчину, PBS або транспортного середовища. Ретельно гомогенізували тканину порцеляновим товкачем. Відбирали 50 мкл гомогенату для виділення ДНК. Обсяг матеріалу, що досліджується для виділення ДНК - 0,1 мл.

Виділення ДНК виконувалось за загально прийнятою методикою, набором реагентів «ДНК-експрес» фірми «Літех».

Лізуючий розчин і розчин для відмивання №1 (якщо вони зберігалися при температурі від 2 до 8 °С) прогріваємо при температурі 65 °С до повного розчинення кристалів. Відбираємо необхідну кількість одноразових пробірок (включаючи негативний і позитивний контролі виділення). Вносимо в кожную пробірку по 300 мкл лізуючої розчину. Маркуємо пробірки. У пробірки з лізуючим розчином вносимо по 100 мкл проб, використовуючи наконечники з аерозольним бар'єром. В пробірку негативного контролю (НК) виділення

вносимо 100 мкл ОКО. В пробірку позитивного контролю (ПК) виділення вносимо 90 мкл ОКО.

Проби ретельно перемішуємо на вортексі і прогріваємо 5 хв. при температурі 65 °С. Центрифугуємо 5 хв. при 5 тис. об/хв на мікроцентрифузі. Якщо проба розчинилася не повністю, центрифугуємо пробірку на мікроцентрифузі 5 хв. при 12 тис об/хв і використовуємо для виділення ДНК надосадову рідину після перенесення її в нову пробірку. Ретельно ресуспендуємо сорбент універсальний на вортексі. У кожен пробірку окремим наконечником додаємо по 25 мкл ресуспендованого сорбенту універсального. Перемішуємо на вортексі, ставимо в штатив на 2 хв., ще раз перемішуємо і залишаємо в штативі на 5 хв.

Осаджуємо сорбент універсальний в пробірках центрифугуванням при 5 тис. об/хв протягом 30 с. Видаляємо надосадову рідину, використовуючи вакуумний відсмоктувач і окремий наконечник для кожної проби.

Додаємо в проби по 300 мкл розчину для відмивання №1, перемішуємо на вортексі до повного ресуспендування сорбенту універсального. Осаджуємо сорбент універсальний центрифугуванням при 5 тис. об/хв на мікроцентрифузі протягом 30 с. Видаляємо надосадову рідину, використовуючи вакуумний відсмоктувач і окремий наконечник для кожної проби.

Додаємо в проби по 500 мкл розчину для відмивання №2, перемішуємо на вортексі до повного ресуспендування сорбенту універсального, центрифугуємо 30 с. при 10 тис. об/хв на мікроцентрифузі. Видаляємо надосадову рідину, використовуючи вакуумний відсмоктувач і окремий наконечник для кожної проби. Повторюємо процедуру відмивання розчином для відмивання №2 до видалення надосадової рідини повністю.

Поміщаємо пробірку в термостат при температурі 65 °С на 5 - 10 хв. для підсушування сорбенту універсального. При цьому кришки пробірок повинні

бути відкриті. У пробірки додаємо по 50 мкл ТЕ-буфера для елюції ДНК. Перемішуємо на вортексі. Поміщаємо в термостат при температурі 65 °С на 5 хв., періодично струшуючи на вортексі. Центрифугуємо пробірки при 12 тис. об/хв протягом 1 хв. на мікроцентрифузі. Надосадова рідина містить очищену ДНК. Після цього проби готові до постановки ПЛР.

При приготуванні робочої ампліфікаційної суміші всі компоненти додаємо окремими наконечниками з аерозольними бар'єрами (фільтрами). Такі ж наконечники використовуємо і для внесення до пробірки препарату ДНК. Розріджувач, Таq-полімераза і мінеральне масло є однаковими для всіх комплектів формату «SNP-експрес», фірми «Літех». Робочі суміші готували безпосередньо перед ампліфікацією. Після внесення зразка пробірки з ампліфікаційними сумішами якомога швидше поміщали до ампліфікатора іCycler фірми «BIO-RAD».

1. Готуємо і нумеруємо пробірки для проведення ампліфікації місткістю 0,5 мл відповідно з кількістю аналізованих проб плюс негативний контроль. Для кожної проби готуємо 2 пробірки (Н (норма) і М (мутація)).

2. За 20 - 30 хвилин до приготування робочої ампліфікаційної суміші витягаємо комплект реагентів для ПЛР з морозильника, розморожуємо вміст. Пробірки з реакційною сумішшю і повністю розмороженим розчином розріджувача ретельно перемішуємо. Перемішування розріджувача відбувається при перевертанні пробірки (міхуром повітря). Перемішування реакційної суміші проводимо вортексіюванням.

3. Зі складових комплекту готуємо робочі суміші реагентів для ампліфікації з розрахунку на 1 пробу: 17,5 мкл розріджувача, 2,5 мкл реакційної суміші, 0,2 мкл Таq-полімерази (вноситься в останню чергу і перед її внесенням суміш трохи перемішуємо). Готуються 2 робочі суміші: з реакційною сумішшю НОРМА і з реакційною сумішшю мутації.

4. Після додавання Taq-полімерази, яке проводиться в останню чергу, ретельно перемішуємо суміш піпетуванням.

5. Додаємо по 20 мкл відповідної робочої ампліфікаційної суміші в усі відповідні пробірки, що підготовлені для ампліфікації.

6. Додаємо в усі пробірки по 1 краплі (близько 25 мкл) мінерального масла.

7. Вносимо по 5 мкл зразка з обробленої аналізованої проби в пробірку з робочою ампліфікаційною сумішшю НОРМА і в пробірку з робочою ампліфікаційною сумішшю мутацій під шар масла. В якості негативного контрольного зразка вносимо розріджувач в обсязі 5 мкл в обидва типи реакційної суміші.

8. Пробірки закриваємо і центрифугуємо протягом 3 - 5 с. при 1500 - 3000 об/хв при кімнатній температурі на мікроцентрифузі-вортексі.

9. Переносимо пробірки в прогрітій до температури + 94 °С (стабільна температура в режимі Пауза) програмований термостат (ампліфікатор) і проводимо ампліфікації за програмою, що зазначена в наборі.

Розподіл продуктів ампліфікації проводили методом горизонтального електрофорезу в 2% агарозному гелі з додаванням бромистого етідіуму, який дає світіння ДНК при ультрафіолетовому світлі (джерело струму та камери для здійснення електрофорезу фірми «BIO-RAD»).

Інтерпретація результатів відбувалась за допомогою системи відео документації гелів фірми «Compact imaging system», всі смуги на гелі, після електрофорезу повинні бути чіткими і приблизно однакової інтенсивності (допускалися невеликі відмінності в яскравості як між тестами на норму і мутацію, так і від проби до проби).

Використовували три варіанти інтерпретації результату дослідження: нормальна гомозигота, гетерозигота, мутантна гомозигота.

2.2.6 Клініко-генеалогічне дослідження. Для проведення клініко-генеалогічного дослідження складали родовід з його графічним

зображенням [219]. Складання родоводу починається зі збору відомостей про сім'ю, і насамперед зі збору відомостей про пробанда – пацієнтки, що увійшла до складу вибірки та є носієм досліджуваної ознаки. Діти однієї батьківської пари (брати і сестри) називаються сибсами. Якщо сибси мають тільки одного батька, вони називаються полусибсами. Розрізняють єдиноутробних (загальна мати) та єдинокровних (загальний батько) сибсів. Зазвичай родовід збирається у зв'язку з вивченням одного або декількох захворювань (ознак). Чим більше поколінь втягується в родовід, тим більше інформації вона може містити. Для складання родоводу використовували загальноприйнятні символи (рис. 2.2).

При аналізі родоводів враховували ряд особливостей різних типів успадкування ознак. Для аутосомно-домінантного успадкування є характерним наступне:

- 1) ознака зустрічається в родоводі часто, практично в усіх поколіннях, однаково часто і у хлопчиків, і у дівчаток;
- 2) якщо один з батьків є носієм ознаки, то ця ознака виявиться або у всього потомства, або у половини.

Аутосомно-рецесивне спадкування відрізняється тим, що

- 1) ознака зустрічається рідко, не у всіх поколіннях, однаково часто і у хлопчиків, і у дівчаток;
- 2) ознака може проявитися у дітей, навіть якщо батьки не мають цієї ознаки;
- 3) якщо один з батьків є носієм ознаки, то він не проявиться у дітей або проявиться у половини потомства.

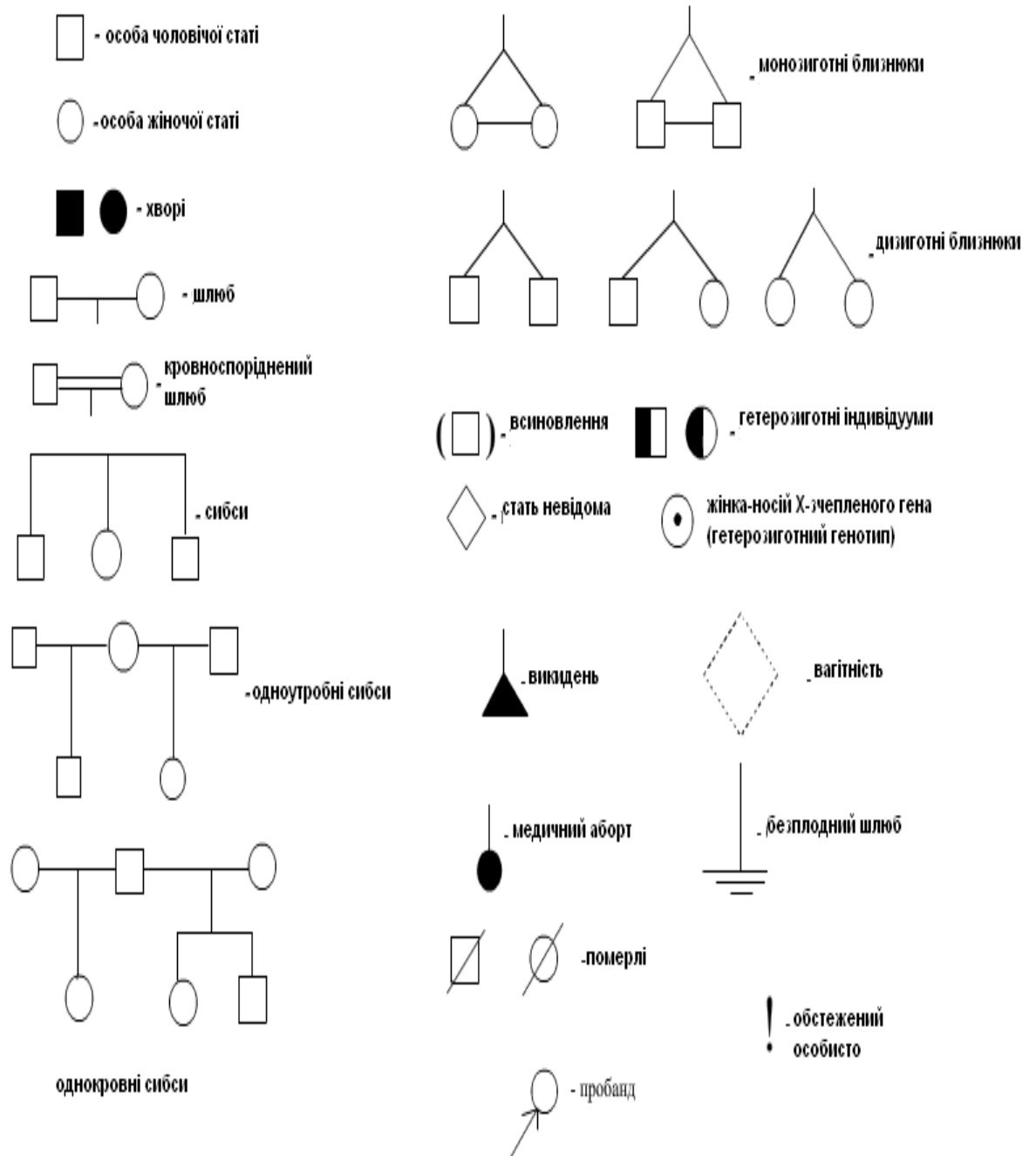


Рис. 2.2 Символи, що використовуються при складанні родоводу.

Успадкування, зчеплене зі статтю зустрічається в наступних варіантах:

1) X-домінантне успадкування:

- Частіше ознака зустрічається у осіб жіночої статі;

- Якщо мати хвора, а батько здоровий, то ознака передається потомству

незалежно від статі, він може проявлятися і у дівчаток, і у хлопчиків;

- Якщо мати здорова, а батько хворий, то у всіх дочок ознака буде проявлятися, а у синів ні.

2) Х-рецесивне спадкування:

- Частіше ознака зустрічається у осіб чоловічої статі;

- Частіше ознака виявляється через покоління;

- Якщо обоє батьків здорові, і мати гетерозиготна, то ознака часто проявляється у 50% синів;

- Якщо батько хворий, а мати гетерозиготна, то володарями ознаки можуть бути і особи жіночої статі.

3) У-зчеплене успадкування:

- Ознака зустрічається тільки у осіб чоловічої статі;

- Якщо батько несе ознаку, то, як правило, цією ознакою володіють і всі сини.

Цитоплазматичне спадкування характеризується наступним:

1) ознака однаково часто зустрічається у представників обох статей;

2) ознака передається нащадкам тільки від матері;

3) мати, що є носієм ознаки, передає її або всьому потомству, або тільки його частині.

Щоб скласти схему клініко-генеалогічного дослідження, спочатку визначають тип успадкування ознаки - домінантний або рецесивний. Для цього з'ясовують:

1) чи часто зустрічається досліджувана ознака (в усіх поколіннях чи ні);

2) чи багато членів родоводу мають дану ознаку;

3) чи мають місце випадки народження дітей, що мають цю ознаку, якщо у батьків вона не виявляється;

4) чи мають місце випадки народження дітей без досліджуваної ознаки, якщо обоє батьків її мають;

5) яка частина потомства несе ознаку в сім'ях, якщо її носієм є один з

батьків.

В подальшому, з'ясовується питання чи успадковується ця ознака зчеплено зі статтю. Для цього визначають:

1) як часто зустрічається ознака у осіб обох статей; якщо зустрічається рідко, то особи якої статі несуть її частіше;

2) особи якої статі успадковують ознаку від батька і матері, що несуть дану ознаку.

Виходячи з результатів аналізу, визначаються генотипи всіх членів родоводу.

2.2.7 Методи статистичної обробки. Статистична обробка проводилася методами дисперсійного та кореляційного аналізу [220, 221]. Перевірці гіпотез про положення та розсіяння передувало проведення перевірки нормальності розподілу кількісних ознак з використанням критерію Колмогорова-Смірнова та перевірки рівності генеральних дисперсій за допомогою критерію Фішера [206].

Критерій Колмогорова-Смірнова дозволяє оцінити вірогідність нульової гіпотези про те, що виборча сукупність репрезентує генеральну сукупність, що має нормальний розподіл та розраховується за формулою:

$$D = \max_{1 \leq i \leq N} \left| F(Y_i) - \frac{i}{N} \right|,$$

де F – теоретичний розподіл;

N – розмір вибірки.

При значенні D менше критичного приймалася нульова гіпотеза, при перевищенні критеріального значення приймалася альтернативна гіпотеза про інший характер розподілу.

Гіпотеза про рівність дисперсій двох нормальних генеральних сукупностей приймалася, якщо відношення більшої дисперсії до меншої було меншим від критичного значення розподілу Фішера:

$$F_{crit} = \frac{S_1^2}{S_2^2}$$

$$F_{crit} < F_{\alpha, v_1, v_2}$$

де α – рівень значущості;

v_1 та v_2 – ступені свободи для дисперсій вибірок, що порівнюються;

S_1 та S_2 – значення дисперсій вибірок, що порівнюються.

Після підтвердження нормальності розподілу ознак та рівності дисперсій для порівняння груп та перевірки гіпотези про рівність центрів розподілу у вибірках, що представляли кількісні дані, одержані для різних референтних груп (контролю та досліду), використовували непарний критерій Ст'юдента, який визначали за формулою:

$$t = \frac{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)}{\sqrt{\frac{S_1^2}{N_1} + \frac{S_2^2}{N_2}}}$$

де S_1 та S_2 – значення дисперсій вибірок, що порівнюються;

\bar{X}_1 та \bar{X}_2 – оцінки середніх значень;

N_1 та N_2 – розміри вибірок (референтних груп).

Нульова гіпотеза ($H_0: \bar{X}_1 = \bar{X}_2$ проти $H_1: \bar{X}_1 \neq \bar{X}_2$) приймалася, якщо за абсолютною величиною критеріальне значення було більше за максимум t-розподілу, взятого з v -ступенями свободи, тобто при $|t| > t_{v, \alpha/2}$.

Альтернативна гіпотеза ($H_0: \bar{X}_1 \leq \bar{X}_2$ проти $H_1: \bar{X}_1 > \bar{X}_2$) приймалася, якщо за абсолютною величиною критеріальне значення було більше за максимум t-розподілу, взятого з v -ступенями свободи при $|t| > t_{v, \alpha}$.

У випадку непідтвердження припущення про нормальність розподілу кількісних ознак, а також при порівнянні референтних груп за ознаками шкали найменувань або рангів, використовувався непараметричний критерій χ^2 з корекцією на безперервність за Йетсом.

$$\chi^2 = \sum \frac{(|O - E| - \frac{1}{2})^2}{E}$$

де O – частота явища, що спостерігається;

E – частота очікуваного явища.

Розраховане значення критерію χ^2 порівнювалося з процентною точкою теоретичного розподілу χ^2 при числі ступенів свободи, рівному $(n-1)*(m-1)$, де n та m – відповідна кількість строк та стовпчиків таблиці спряженості та рівні значущості α , заданого на рівні 95% вірогідності (тобто $\alpha = 0,05$).

Кореляційний аналіз проводився для кількісних величин, розподілених за законом нормального розподілу за методом найменших квадратів Пірсона (r), а для рангових величин за методом рангової кореляції Спірмена (r_s). При оцінці взаємозв'язку між перемінними шкали найменувань розраховували коефіцієнт асоціації Пірсона (r_A) за формулою:

$$r_A = \frac{ad - bc}{\sqrt{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}}$$

де a, b, c і d – чисельність груп перемінних, розподілених за клітинами чотирипольної таблиці.

Для вимірювання кореляції між дихотомічними ознаками (x та y) у двох спряжених серіях випробувань використовували коефіцієнт кореляції знаків R_{xy} :

$$R_{xy} = \frac{p(xy) - p(x)p(y)}{\sqrt{p(x)p(y)(1-p(x))(1-p(y))}},$$

де $p(xy)$ – частка співпадань однакових символів;

$p(x)$ та $p(y)$ – відносна частота зустрічуваності того самого символу у кожній групі.

Перевірку статистичних гіпотез проводили на рівні значимості $p < 0,05$. Частоти мутацій генів і теоретично очікуваний розподіл генотипів розраховували з використанням таблиць спряженості із наступним обчисленням критерію Пірсона χ^2 .

Статистичну значимість різниці між частотами вибірок оцінювали за допомогою точного критерію Фішера (Fisher exact test).

Визначення відповідності до розподілу Харді-Вайнберга частот генотипів у популяції проводили шляхом розрахунку критерію χ^2 за формулою:

$$\chi^2 = \frac{(N_1 N_3 - \frac{1}{4} N_2^2)^2 \times N}{n_1^2 n_2^2}$$

де N_1, N_2, N_3 – чисельність генотипів XX, Xx, xx ;

N – загальний обсяг вибірки;

n_1 і n_2 – число алелів досліджуваних генів у виборці.

Для розрахунку показників гетерозиготності використовували он-лайн OEGE калькулятор.

Визначення вірогідності відмінностей популяційних частот проводили за допомогою точного критерію Фішера з виправленням Йетса для парних порівнянь, міжгрупові відмінності за допомогою дисперсійного аналізу за Фрідманом.

Ризик виникнення патологічного стану розраховували за допомогою відношень шансів (ВШ) за формулою:

$$OR = \frac{ad}{bc},$$

де a - число індивідуумів з даним маркером у досліджуваній групі;

b - число індивідуумів без маркера в досліджуваній групі;

c - число індивідуумів з даним маркером у контрольній групі;

d - число індивідуумів без маркера в контрольній групі.

95% довірчий інтервал шансів розраховували за формулою:

$$\ln(OR) \pm 1,96 \times \sqrt{\text{var}(\ln(OR))},$$

де $\text{var}(\ln(OR))$ - стандартне відхилення.

У разі необхідності розраховували довірчий інтервал відношення шансів шляхом потенціювання:

$$95\%CI = (e^x \ e^y),$$

де x і y - значення мінімуму й максимуму для 95% довірчого інтервалу.

Для дослідження взаємозалежності різних клінічних характеристик використовували кореляційний аналіз за Спірменом. Для формування таблиць спряженості використовували програмне забезпечення MS Excel 2010, для основних розрахунків - програму Statistica 7.0.

РОЗДІЛ 3

ЗАГАЛЬНА КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА

3.1 Ретроспективний аналіз ризику розвитку раку молочної залози у жінок

При аналізі поширеності ДДМЗ (код за МКХ10: N60-N64), ДНМЗ (код за МКХ10: D24) та РМЗ (код за МКХ10: C50) в м. Одесі у 2008 - 2010 рр. встановлено, що на кожний випадок РМЗ припадало в середньому 7 - 8 випадків доброякісних захворювань молочної залози (рис. 3.1).

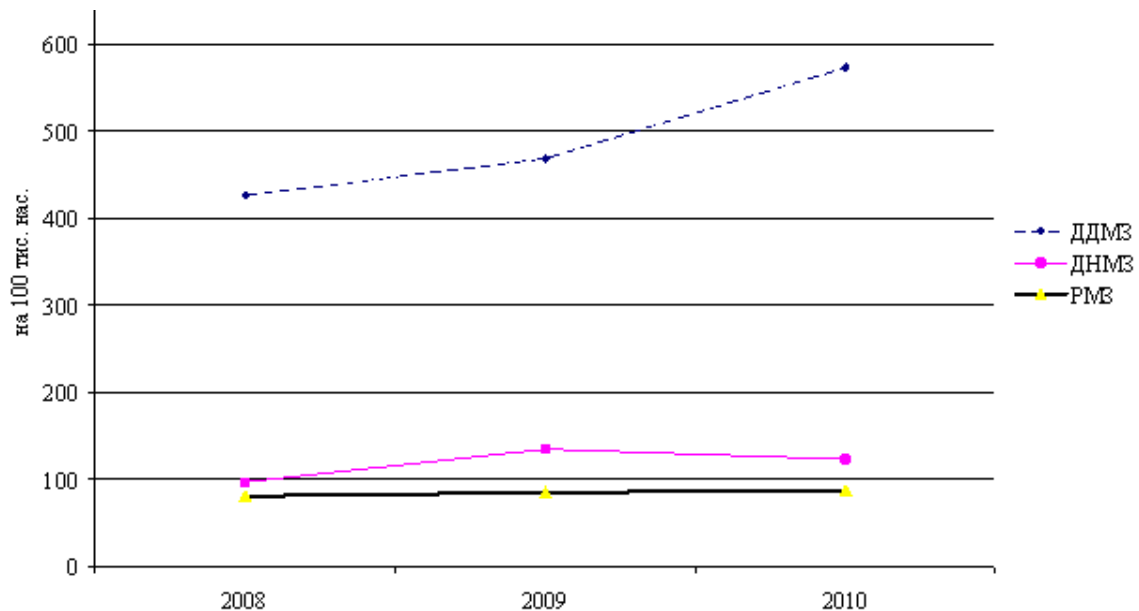


Рис. 3.1 Поширеність захворювань молочної залози в м. Одесі у 2008 – 2010 рр.

При подальшому аналізі встановлено, що частота захворюваності на РМЗ у м. Одесі та в Одеській області перевищує загальноукраїнський рівень. Так, якщо відповідно з даними канцер-реєстру в 2010 р. грубий показник захворюваності на РМЗ в Україні склав 64,8 випадків на 100 тис. жіночого

населення, то в Одеській області цей показник був 76,8 випадків, а в м. Одесі він сягав 87,6 випадків на 100 тис. жіночого населення.

Зважаючи на тісну кореляцію показників виявлення захворюваності на ДДМЗ, ДНМЗ та РМЗ можна було передбачити, що частота різних видів доброякісної патології також буде перевищувати середні національні рівні. Втім, відповідні показники виявилися навіть меншими за загальнонаціональний рівень. Так, у 2010 році частота виявлення ДНМЗ становила 123,5 випадків на 100 тис. жіночого населення, що майже в 1,4 нижче, ніж у більшості інших регіонів України.

Слід зазначити, що питання діагностики захворювань молочної залози зберігають свою актуальність у зв'язку із стійкою тенденцією до росту цієї патології. Серед них ДДМЗ є найбільш частою нозоформою.

Ретроспективний аналіз 536 хворих з ДНМЗ, яким було проведено оперативне лікування, показав, що проліферативна форма реєструвалася лише в 112 випадках (22,4%). Переважали унілатеральні ураження (74,0%).

Супутня гінекологічна патологія у жінок з ДНМЗ на ретроспективному етапі відзначалася у 297 випадків (55,4%), в тому числі у 123 – хронічних запальних захворювань геніталій (22,9%), 95 - міоми матки (17,7%), 54 – ендометріозу (10,1%), 25 – полікістозу яєчників (4,7%), що свідчить про наявність ендокринних порушень у хворих з ДНМЗ.

Згідно з ретроспективним аналізом лише в 3 випадках у жінок, які перенесли оперативне втручання з приводу ДНМЗ, в подальшому було діагностовано РМЗ. При цьому прямого зв'язку наявності доброякісного новоутворення з подальшим виникненням злоякісної пухлини виявлено не було. Таким чином, незважаючи на наявність в арсеналі лікаря сучасних методів медичної візуалізації, їх прогностична цінність щодо виникнення злоякісних новоутворень молочної залози залишається невисокою.

3.2 Проспективне дослідження поширеності пухлин молочної залози у обстежених жінок

На проспективному етапі при оцінці поширеності різних клінічних форм передракової доброякісної пухлинної патології у 56 жінок з ДНМЗ, яким було проведено оперативне лікування, найчастіше встановлювали діагноз локальний фіброаденоматоз (23 випадки або 41,1%) та полікістоз молочної залози (17 випадків або 30,4%). Достатньо часто в обстежених жінок визначалася хвороба Мінца (13 випадків або 23,2%). В поодиноких випадках реєструвалися гамартома, гігантська листовидна фіброаденома, запальна киста молочної залози.

Характерними клініко-рентгенологічними ознаками локального фіброаденоматозу була наявність ділянки ущільненої структури середньої інтенсивності різної форми з нечіткими, іноді поліциклічними контурами (рис. 3.2).



а)



б)

Рис. 3.2 Мамографічна картина локального фіброаденоматозу (а, б).

На УЗД посилення судинного рисунка не відзначалося. Втім, незважаючи на достатньо високу щільність утворення, при застосуванні технології медичної візуалізації пальпаторно вузол мав м'яку консистенцію. Так само, він сприймався як м'який під час проходження голки для трепанбіопсії.

Перебіг захворювань був стереотипним. Пацієнтки мали скарги на наявність ущільнення у молочній залозі, біль, що посилювався у міжменструальний період, набрякання молочної залози. В окремих випадках мала місце екскреція рідини з соска. Пальпаторно у пацієнок з локальним фіброаденоматозом молочні залози були щільними, з окремими дифузно розташованими вузликами не різко відмежованими від оточуючих тканин.

Склерозуючі аденози, тобто доброякісні проліферативні процеси, локалізуються переважно у дольковому (ацинарному) компоненті молочної залози. Ця найбільш проста форма епітеліальної проліферації характеризується незначними структурними змінами протокових та долькових структур, обмежених шаром епітеліальних та міоепітеліальних клітин при збереженні базальної мембрани. Середній вік пацієнок з цим видом ДНМЗ склав $37,2 \pm 0,6$ років.

На рентгенограмах визначалися множинні різної щільності тіні неправильної форми з нечіткими контурами (рис. 3.3), які відповідали ділянкам глобулярної гіперплазії.

Склерозуючий аденоз характеризується компактною проліферацією ацинусів зі збереженням внутрішнього епітеліального та зовнішнього міоепітеліального шарів, оточених базальною мембраною. Хоча стискання ацинусів оточуючою фіброзною тканиною у ряді випадків було вираженим, конфігурація дольок була збережена.

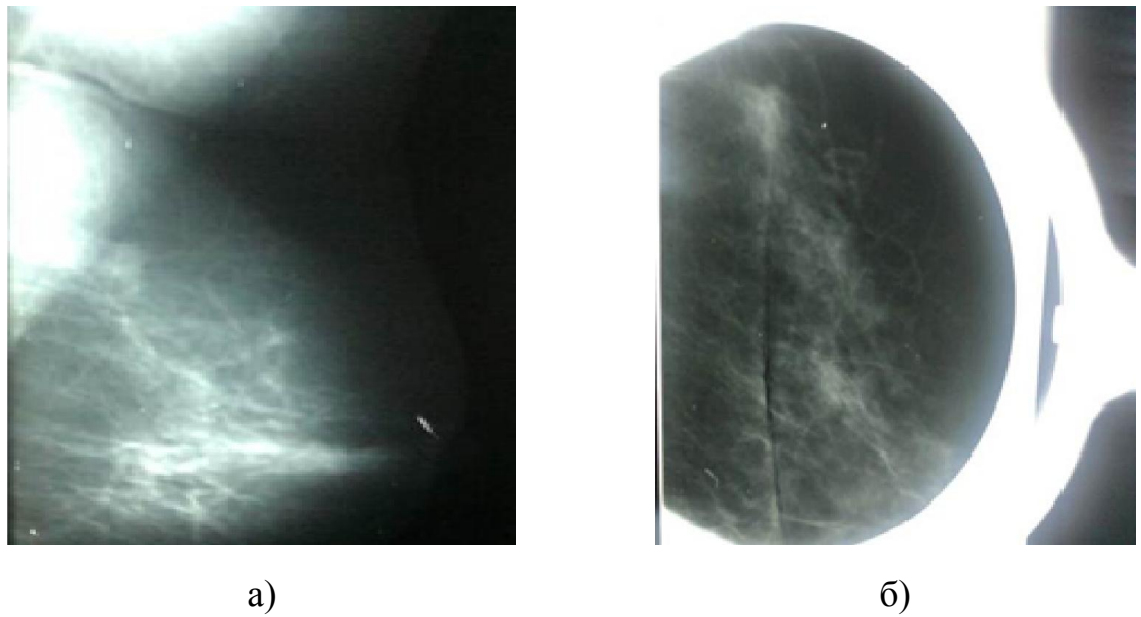


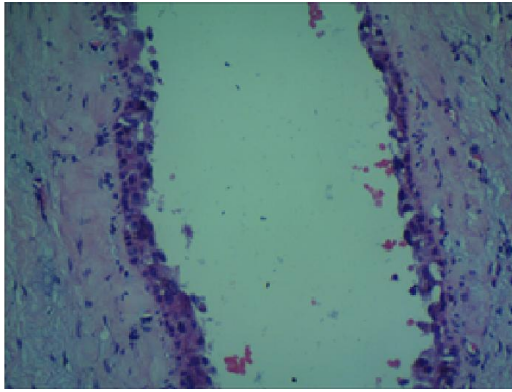
Рис. 3.3 Мамографічна картина склерозуючого аденозу (а), збільшення зони аденозу в 1,5 рази (б).

У двох випадках мав місце апокриновий аденоз, що характеризувався апокриновою метаплазією епітелію більш ніж у 50% структур вогнища аденоза (рис. 3.4). У зв'язку з тим, що при даній формі мав місце виражений ядерний поліморфізм, у цих випадках виникала потреба у диференціюванні діагнозу з інфільтруючим РМЗ. Клінічні прояви склерозуючого аденозу залежали від форми захворювання. При вузловій формі пальпувалися поодинокі щільні рухливі вузли.

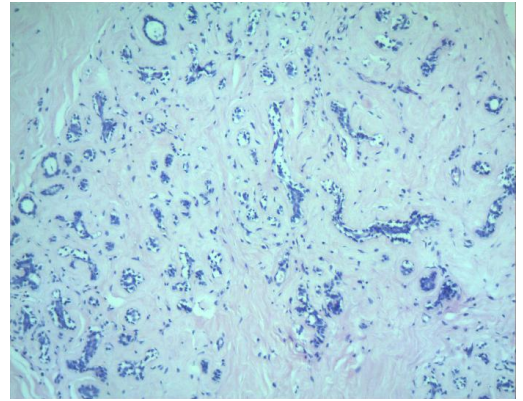
Вузлова мастопатія у вигляді локального фібросклеозу зустрічалася у жінок, віком старше 40 років. При даном захворюванні на рентгенограмі визначалися утворення неоднорідної структури неправильної або округлої форми з нечіткими контурами, що не дозволяло до операції повністю виключити інфільтративний рост.

Слід зазначити, що при диспластичних процесах молочної залози без проліферації нечіткість контурів вузла на мамограмі обумовлена здебільшого фіброзним компонентом, який формує вузли та ділянки ущільненої

структури неправильної форми, які тісно прилягають до ділянок фібросклероза, аденоза або кист.



а)



б)

Рис. 3.4. Протокова дисплазія з переходом в *carcinoma in situ* (а) та склерозуючий аденоз (б). Забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. х 400 (а) та зб. х 200 (б).

У випадках проліферативного фіброаденоматоза вузли з нечіткими контурами формують вогнища епітеліальної проліферації з гігантськими дольками, солідними та криброзними структурами у протоках. На мамограмах також в окремих випадках визначалися вузли з променистими контурами, підозрілі щодо інвазивного РМЗ (рис. 3.5).

При змішанно-тканинних пухлинах тяжистість контурів вузла обумовлена фіброзними тяжами, що складаються з ділянок фібросклерозу. При дрібних кистах до 0,5 см променистість по периферії вузла обумовлена фіброзними тяжами, що проходять проміж кистами. При кистах більшого розміру променистість може бути пов'язана із запальними змінами стінки кисти з вираженою лімфоїдною інфільтрацією. При дисплазіях з

епітеліальною проліферацією поряд з неоднорідністю структури вузлів, які мають неправильну форму на мамограмах, іноді зустрічається й тяжистість по периферії вузла. При УЗД у таких випадках визначалися ділянки зниженої ехогенності.

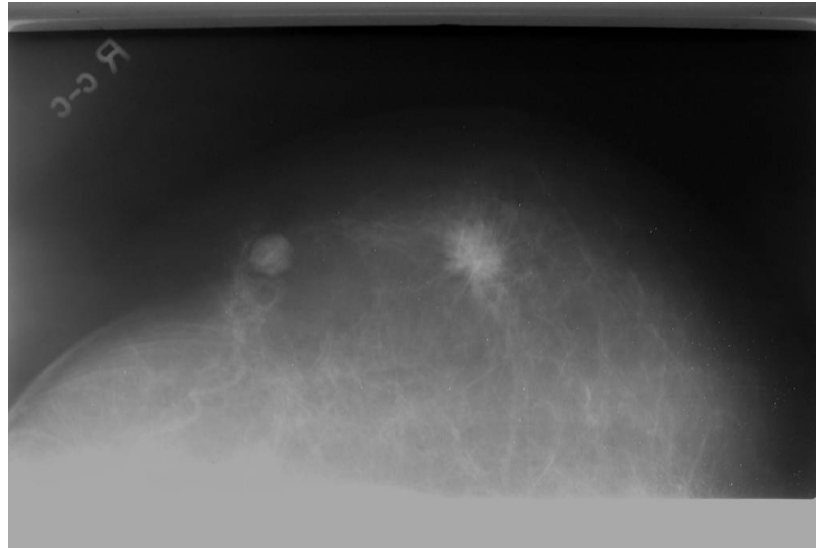


Рис. 3.5 Мамографічна картина локального проліферативного фіброаденоматозу та раку молочної залози.

У пацієток з кистами молочної залози, які перевищували у діаметрі 20 мм, при пальпації визначалися щільно-еластичні утворення з гладенькими контурами, добре відмежовані від оточуючих тканин. Розміри утворень, що пальпуються, цілком співпадали з рентгенологічними даними, що є ознакою експансивного росту. Втім, при аналізі рентгенограм щільна структура молочної залози дещо утруднювала діагностику кисти.

При УЗД киста виглядає як ділянка зниженої ехогенності округлої або овальної форми з рівними чіткими контурами, з посиленням акустичного сигналу у прилеглий позаду тканині молочної залози. У більшості випадків внутрішні ехосигнали в порожнині кисти були відсутні. При багатокammerній

кисті молочної залози відзначалася поліциклічність контурів та наявність сигналів відбиття від перетинок, при цьому акустичне посилення позаду від кисти було менш вираженим. Пристінкові розростання виявлялися у вигляді зони підвищеного відбиття, пов'язаної зі стінкою кисти (рис. 3.6).

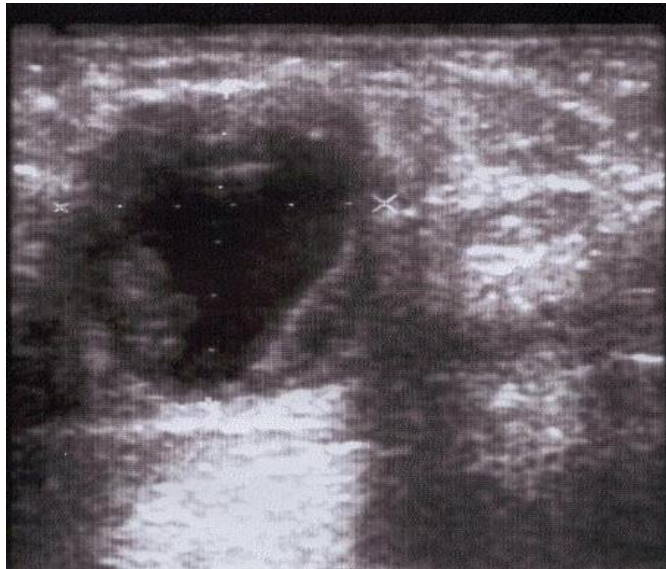


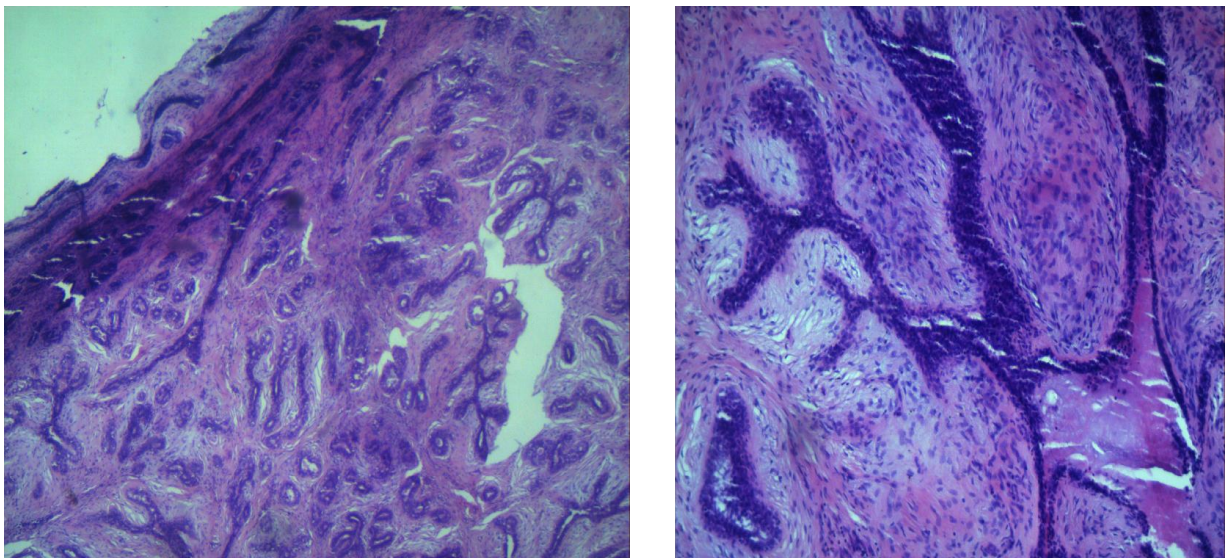
Рис. 3.6 УЗД картина кисти молочної залози з пристінковими розростаннями.

Як правило, киста відображалася рентгенологічно як округле або овальне утворення з рівними або поліциклічними контурами при багатокамерних кистах молочної залози. В окремих випадках спостерігалася кільцеподібна тінь на стінках порожнини, що свідчить про достатньо давній патологічний процес. Втім, посилення судинного рисунка при цьому не спостерігалось.

Як вже зазначалося вище, локальний фіброаденоматоз був встановлений у 41,1% жінок основної групи. При діагностичному пошуку враховували те, що вузлову мастопатію може симулювати нещільна фіброаденома. Точність цитологічної діагностики при даному вигляді

патології коливається від 40 до 80% та залежить від розмірів новоутворення і його гістологічної будови, а також від виду застосованої біопсії.

У 4 випадках фіброаденоми неможливо було пропальпувати, вони були виявлені під час мамографічного дослідження. Для фіброаденом периканалікулярної будови більш характерні правильна округла форма, рівні, чіткі контури, однорідна структура, зона «просвітлення», що свідчить про експансивний рост. Частим явищем були кальцінати, що свідчить про тривалість патологічного процесу.



а)

б)

Рис. 3.7 Периканалікулярна (а) та інтраканалікулярна (б) фіброаденома. Збарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. х 400.

Периканалікулярна фіброаденома при гістологічному дослідженні виглядала як чітко відокремлена від оточуючих тканин структура з однорідним рисунком будови. Переважала щільноволокниста фіброзна сполучна тканина, яка концентрично розташовувалася навколо стиснених протоків. По периферії пухлини сполучна тканина формувала фіброзну капсулу, яка й обумовлювала чіткі та рівні краї пухлини, що спостерігалися

при рентгенологічному дослідженні. При наявності інволютивних та дистрофічних процесів у стромі відбувалося звапнення, що цілком збігається з даними візуалізації.

Для фіброаденом інтраканалікулярної та змішаної будови є характерною дольчаста структура, бугристі нечіткі контури, частіше без обідка просвітлення, неоднорідна структура вузла, частіше без вапняних включень. Морфологічно інтраканалікулярна фіброаденома характеризується значним подовженням та кистозним розширенням протоків, у просвіт яких виступають масивні сосочки з пухкої, набряклої або міксоматозної сполучної тканини, розташованої на широкій основі (рис. 3.7).

Сполучна тканина менш щільна, що обумовлює на рентгенограмі тінь меншої інтенсивності ніж при периканалікулярній фіброаденомі, з нерівними, місцями бугристими або узурованими крайовими відділами, які не завжди чітко відокремлені від оточуючих тканин. Фібозна капсула, як правило, відсутня, що відображається на мамограмах. На УЗД ці доброякісні утворення проявляються ділянками зниженої ехогенності округлої або овальної форми. При розмірах пухлини більше 1 см контури її виглядали більш чіткими. В залежності від співвідношення фіброзної та залозистої тканини змінюється й акустична щільність позаду новоутворення. Іншими словами, чим менше фіброзної тканини містила пухлина, тим більшу площу акустичної тіні спостерігали при УЗД. Це пов'язано із тим, що сполучна тканина дає на ультрасонограмах просвітлення як зона більшого відбиття, а залозиста та жирова тканина дає менше відбиття й тому виглядає більш «темною». При наявності грудок вапна визначаються просвітлення у вигляді «іскорок».

На нашу думку, комплексна доопераційна діагностика фібраденом дає можливість упорядкувати показання до хірургічного втручання з

урахуванням небезпеки малігнізації пухлини в залежності від її гістологічної будови.

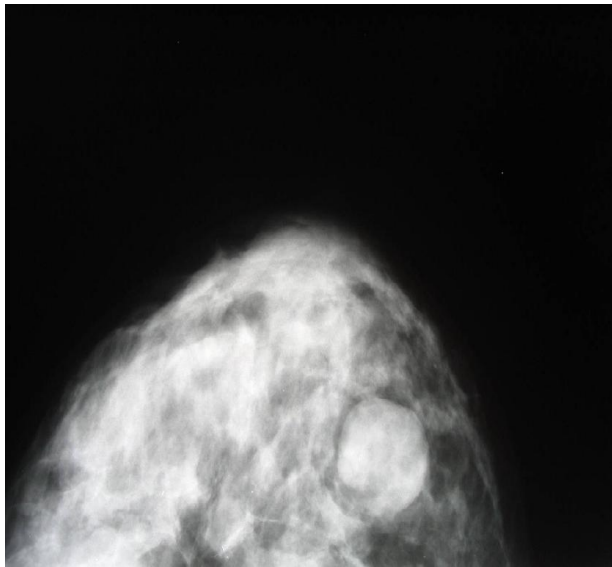
В одному випадку у пацієнтки 37 років була діагностована листоподібна (філоїдна) фібраденома. Ця пухлина має розвинутий стромальний компонент. Відомо, що листоподібні пухлини розвиваються менш, ніж у 0,5-1% хворих різними пухлинами молочних залоз, й виникають з мезенхімальних-епідермальних зачатків (тобто зародкових структур) трубчасто-альвеолярних залоз з неправильною диференціацією. У більшості випадків вони формуються швидше звичайних фіброаденом, часом досягаючи великих розмірів протягом декількох місяців. Відомі випадки, коли листоподібна пухлина виконувала практично весь обсяг молочної залози. Виділяють доброякісну, граничну і злоякісну форми листоподібної пухлини.

Можливості УЗД також неоднозначні і обмежені проведенням профілактичних оглядів, отриманням диференційно-діагностичних ознак доброякісності або злоякісності, а також проведення УЗД під час контрольованої тонкоіголкової пункційної біопсії. При УЗД листоподібна фіброаденома виглядає як солідне гіпо-або ізоехогенне новоутворення, добре відмежоване від оточуючих структур, що має неоднорідну структуру за рахунок кистозних і щілиновидних порожнин (шаруватий малюнок за типом «качана капуста»). У більшості випадків (71%) пухлина має гіперехогенний ободок, за винятком вузлів невеликих розмірів - до 4 см.

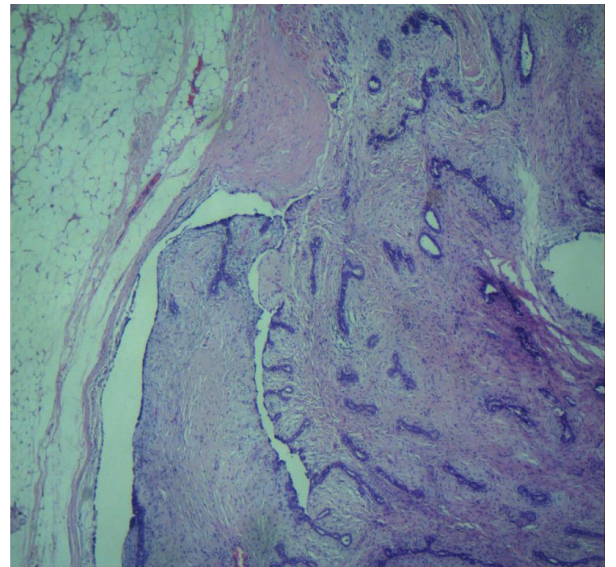
У нашому спостереженні мала місце гранична філоїдна пухлина, особливістю якої є клітинна строма з ділянками міксоматозу, дистрофічними змінами і крововиливами (рис. 3.8).

Особливістю листоподібних пухлин є висока здатність рецидивувати після висічення протягом найближчих 2 - 3-х років і часто (за різними джерелами з частотою від 10 до 70% спостережень) перетворюватися в

пухлину з особливо злякисним перебігом - у фібросаркому або фіброаденосаркому відповідно до генеруючих їх клітинних структур. Водночас, формування первинно-злякисної листовидної пухлини може протікати досить довго (відомо 17-річне спостереження). У цьому випадку достатнім обсягом оперативного втручання є виконання мастектомії за Маденом, тобто видалення всієї молочної залози з клітковиною пахвової і підключичної зон, зберігаючи грудні м'язи.



а)

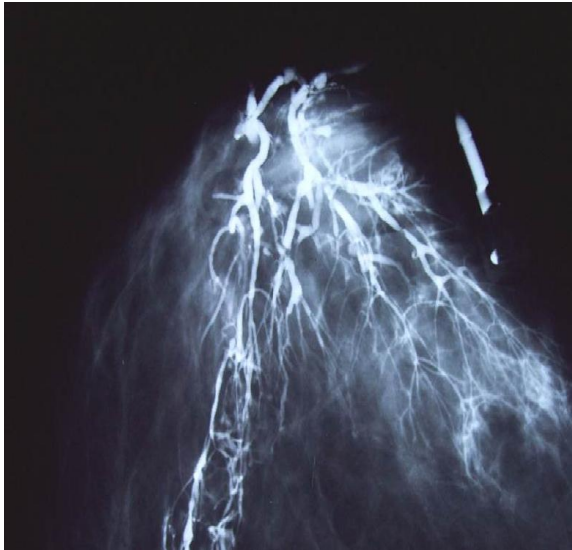


б)

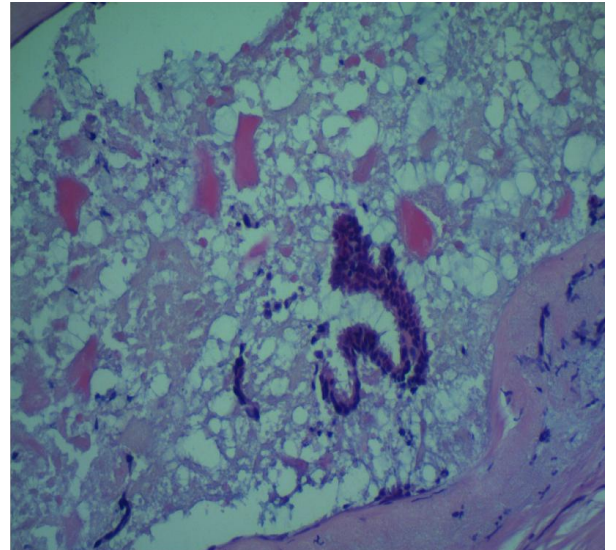
Рис. 3.8 Мамографічна (а) та гістологічна (б) картина філоїдної фіброаденоми молочної залози (б - забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. х 400).

Особливе місце серед виявлених випадків ДНМЗ займає так звана хвороба Мінца, яка визначалася у 23,2% жінок основної групи. В її основі лежать папіломатозні розростання епітелію кистозно розширених вивідних протоків молочної залози. Основними скаргами таких хворих було виділення крові з соска, помірна болісність у перiareолярній ділянці. Оскільки

папіломатозні вирости розміщені поверхнево, то вони легко травмуються при стисканні або забитті молочної залози, при цьому відбувається відрив папіломи і з'являється мікрокровотеча. При натисканні на молочну залозу на соску з'являється крапля крові. Глибоко розміщена папілома клінічно проявлялася виключно кров'яними виділеннями із соска.



а)



б)

Рис. 3.9 Дуктографія (а) та гістологічна картина (б) внутрішньопротокової папіломи (б - забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. х 200).

Тільки за допомогою ретельної послідовної пальпації можна було виявити ту область, при натисканні якої з'являється кров. У ряді випадків уточнити локалізацію папіломи допомагала контрастна мамографія – дуктографія (рис. 3.9).

Внутрішньопротокова папілома нерідко малігнізується, її відносять до облігатного передраку, тому при виборі об'єму оперативного втручання цей факт обов'язково враховується. Даній категорії хворих було проведено оперативне втручання в обсязі секторальної резекції молочної залози з

інтраопераційною хромодуктографією та гістологічним дослідженням видаленої тканини.

3.3 Фактори ризику розвитку диспластичних процесів молочної залози

При оцінці клініко-анамнестичних особливостей пацієток з ДНМЗ встановлено, що середній вік обстежених склав $28,2 \pm 0,7$ років (рис. 3.10).

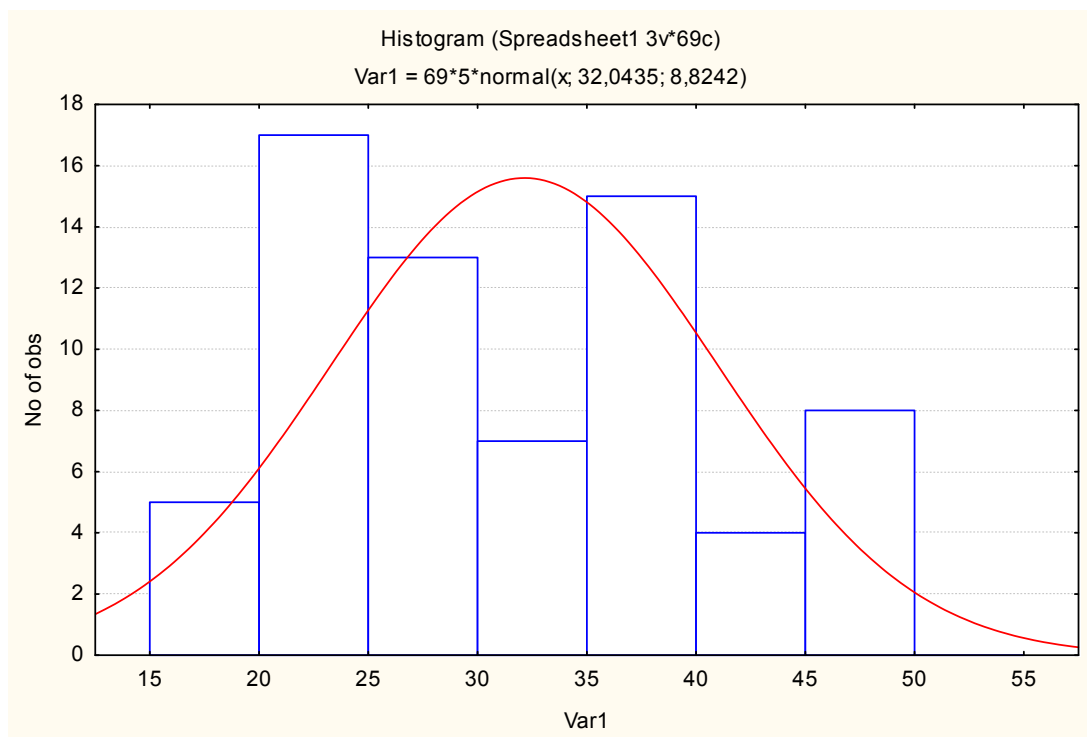


Рис. 3.10 Вікова структура вибірки хворих на проспективному етапі дослідження.

Професійні шкідливості в анамнезі визначалися лише у 11 (19,6%) жінок, в основному зайнятих на хімічному виробництві та у нафтопереробці, а також працюючих на посадах, де трудова діяльність пов'язана з тривалим

психоемоційним напруженням. На обтяжений спадковий анамнез щодо патології молочної залози вказували 49 (87,5%) пацієнток, випадки РМЗ у родичів першого ступеня (сібсів або по висхідній лінії) за нашими даними зустрічалися у 17 (30,4%) пацієнток.

При генеалогічному аналізі, як правило, в родині випадки ДНМЗ відзначалися у декількох близьких родичок (рис. 3.11). Водночас, найбільш значущим фактором ризику виявилася наявність РМЗ або інших злоякісних новоутворень репродуктивних органів у родичок по материнській лінії (ВШ = 1,4; ДІ 95% 1,1-1,7).

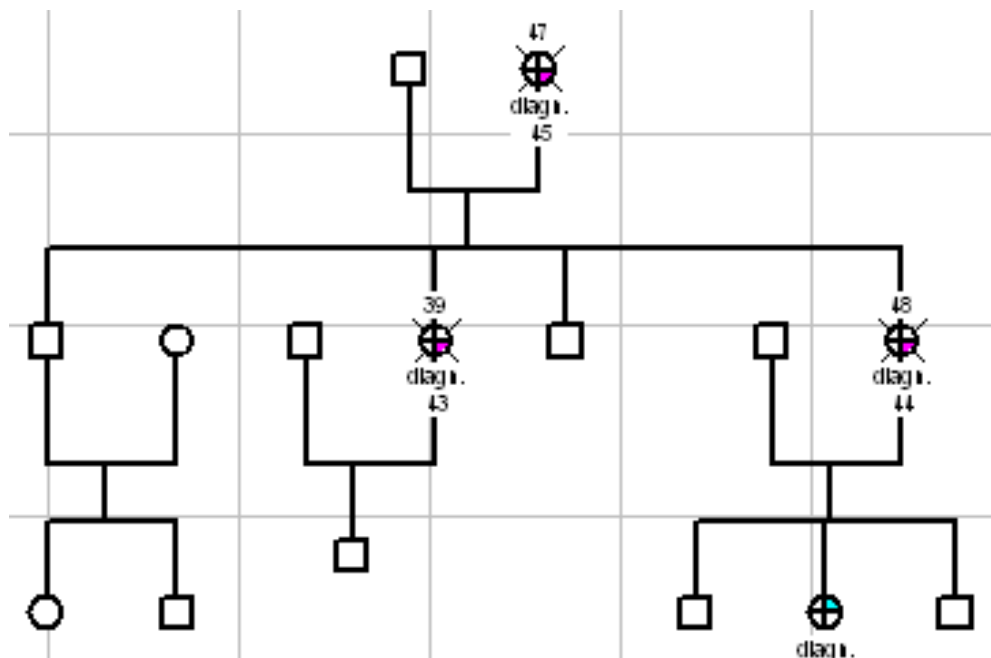


Рис. 3.11 Генеалогічне дерево пацієнтки С., 40 років.

Зокрема, два та більше випадків захворювань новоутвореннями органів жіночої репродуктивної системи відзначалося у 4 (10,8%) жінок I групи та у 7 (12,5%) жінок II групи. Поодинокі випадки новоутворень органів репродукції зустрічалися у 11 (29,7%) жінок I групи та у 14 (25,0%) жінок II групи. Таким

чином, міжгрупові відмінності за частотою виявлення спадкової обтяженості не були статистично достовірними ($p > 0,05$).

Індекс маси тіла жінок з ДНМЗ складав в середньому $27,3 \pm 0,4$ кг/м², що достовірно вище контрольних значень ($21,1 \pm 0,2$ кг/м²). Зловживали міцною кавою та кофеїн-місткими напоями (енергетиками) 37,5% жінок основної групи та 20,0% контрольної, палили 42,9% пацієток з ДДМЗ (у контрольній групі – 50,0%).

За клініко-анамнестичними характеристиками основна й контрольна групи були порівнюваними. Раннє настання менархе зустрічалося частіше, ніж у здорових жінок, у хворих на ДНМЗ (10,0% проти 2,0%). Пізнє менархе також частіше зустрічалося у жінок основної групи (8,0%). У більшості обстежених жінок менструальний цикл становив 21 - 35 днів.

Опсоменорея зустрічалася у жінок з ДНМЗ у 12,0 % випадків, пройоменорея – у 6,0% випадків. У більшості обстежених жінок (88,0%) менструальна кровотеча тривала протягом 3 - 7 днів. Таким чином, у хворих з ДНМЗ найчастіше мали місце порушення становлення менструальної функції та опсоменорея.

При вивченні дітородної функції обстежених жінок було виявлено, що перша вагітність у всіх пацієток наступала в середньому у віці $21,1 \pm 0,2$ року. У двох (3,6%) хворих на ДНМЗ перша вагітність наступила у віці старше 31 року. Першу вагітність переривали шляхом медичного аборту частіше жінки із ДНМЗ (16%), тоді як у контрольній групі таких було лише 6,0%. Кожна третя жінка із всіх обстежених зробила два та більше медичні аборти. Більшість обстежених жінок народила одну дитину (68,0%), більше двох дітей мали 12,0% пацієток. Короткий період грудного вигодування немовля або його повна відсутність мали 23,2% жінок. У 5 (8,9%) випадках виникненню ДНМЗ передувала мастит, що виник у лактаційний період.

Супутні гінекологічні захворювання на проспективному етапі дослідження було виявлено у 46,0% жінок основної групи з ДНМЗ та у 28,0% жінок з РМЗ. Найчастіше у пацієток з ДНМЗ визначалися хронічні запальні захворювання геніталій, генітальний ендометріоз, полікістоз яєчників та міома матки (рис. 3.12). Таким чином, за підсумками проведеного ретроспективного та проспективного досліджень, наявність зазначеної гінекологічної патології обумовлює значну кількість випадків ДНМЗ (ВР = 0,85 ДІ 0,56; 1,14), збільшуючи ймовірність розвитку диспластичних процесів в молочній залозі майже у 1,5 рази.

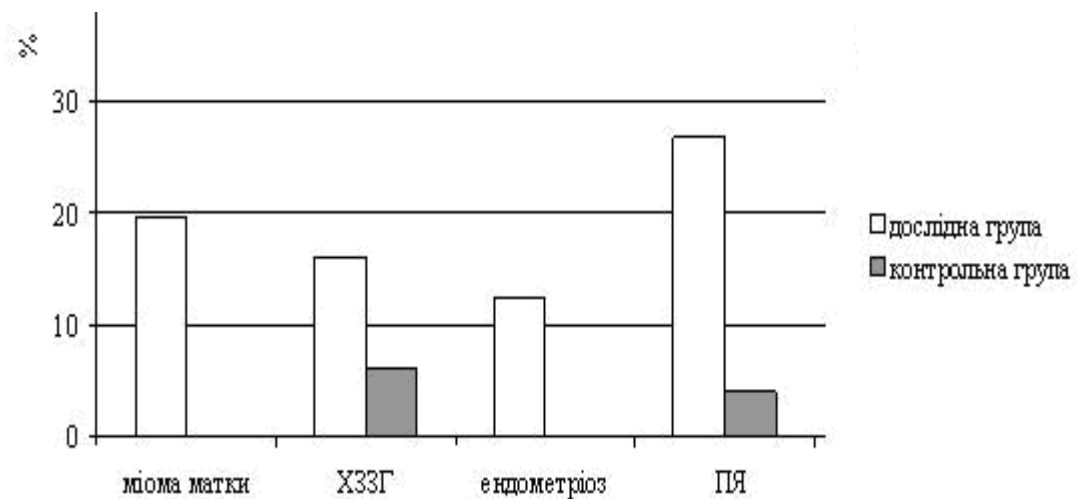


Рис. 3.12 Супутня гінекологічна патологія у групах порівняння.

Передменструальний синдром (нервово-психічна, набрякла, цефалгічна форми) був виражений у 5 (10,0%) жінок контрольної і 39 (69,6%) основної групи ($\chi^2=36,28$ $p<0,001$). У 3 (6,0%) жінок контрольної групи і 16 (28,6%) жінок основної групи відзначалися порушення сну, скарги на головний біль, швидку стомлюваність, образливість, дратівливість, емоційну лабільність. Ці жінки у передменструальний період скаржилися на нагрубання молочних залоз, появу відчуття розпирання, наростання набряклості стромы,

збільшенні кровонаповнення, появу ущільнень в другу фазу менструального циклу.

Основним механізмом розвитку доброякісних дисплазій тканини молочної залози при цьому вочевидь є порушення секреції гормонів й сталі зміни гомеостазу, характерні для хронічної гінекологічної патології.

З клінічної практики відомо, що молочна залоза відповідає на циклічне виділення статевих гормонів. Максимальний розмір молочних залоз спостерігається в пізню лютеїнову фазу циклу. Пік секреції рідини, мітотичної активності та продукції ДНК залозистою тканиною і клітинами епітелію відзначається у лютеїновій фазі. Пік мітозів в кінці лютеїнової фази змінюється апоптозом. Отже, основна роль прогестерону полягає в стимулюванні розвитку альвеол молочної залози. Залежно від дози і тривалості впливу прогестерон може потенційно видозмінювати відповідь як нормальних, так і ракових клітин молочної залози на різних рівнях.

Число естрогенових рецепторів в епітелії молочних залоз знижується в лютеїновій фазі менструального циклу, в той час як число прогестеронових рецепторів залишається високим протягом всього циклу. Очевидність синергічного впливу естрогену і прогестерону *in vitro* показана в дослідженнях "нормальної" тканини молочної залози, отриманої при біопсії, поруч з фібroadеномою або раком. У жінок з регулярним циклом також встановлений максимум проліферації епітеліальних клітин молочної залози в лютеїнову фазу на тлі високого рівня прогестерону.

Наведені результати показують, що прогестерон підтримує циклічну проліферацію молочних залоз у нормальному менструальному циклі. Зокрема, прогестерон інгібує ріст ендометрію, але стимулює зростання епітелію молочних залоз. У зв'язку з цим деякі автори вважають, що естроген-прогестеронова циклічна проліферація може сприяти акумуляції генетичних помилок, які, можливо, ведуть до розвитку РМЗ.

У великому числі популяційних та клініко-генеалогічних досліджень було показано, що в сім'ях хворих на РМЗ серед кровних родичів дане захворювання зустрічається достовірно частіше у 4,5 - 7 разів. Вважається, що максимальний вплив цього чинника припадає на вікову групу в 30 - 45 років. Втім, у нашому дослідженні така залежність не прослідковувалася.

Велике значення мають фактори репродуктивного анамнезу. Як показали одержані результати, фактором ризику є вік настання менархе до 12 і пізніше 15 років. Це спостереження узгоджується із даними більшості дослідників. Водночас, можна відзначити збільшення ризику розвитку РМЗ із збільшенням віку настання природної менопаузи. Неприятливими факторами можна вважати пізній початок статевого життя (25 років і старше), відсутність або нерегулярність статевої активності.

При оцінці генеративної функції обстежених жінок звертає на себе той факт, що число пологів в I та II групі у порівнянні з контролем було відмінним. Відповідно до даних регресійного аналізу ризик виникнення пухлин молочної залози різко зростає у тих жінок, що не народжували, однаковий у тих, що народжували 1 - 3 рази і значно знижується при народженні 4 і більше дітей. Негативними факторами є перші пологи у віці 35 років і старше, а також відсутність лактації.

Певне значення мають також метаболічні порушення, ознаками яких є надмірна вага. Натомість, наявність високого зросту та астенічна будова тіла практично не впливала на ризик виникнення пухлин молочної залози.

У нашому дослідженні частка жінок, що мали професійні шкідливості або проживали в екологічно несприятливих регіонах, була невисокою, втім даний фактор за даними літератури є одним з провідних у детермінації більш високої (в 1,5 - 2 рази) захворюваності на РМЗ у мешканок великих промислових міст.

Певну роль в визначенні ризику розвитку РМЗ відіграють тютюнопаління, вживання алкоголю, порушення психоневрологічного статусу, травми молочної залози. Відповідно до наших спостережень пряме значення нутриціологічних факторів у розвитку пухлин молочної залози є спірним. Описаний в літературі негативний вплив надмірного вживання в їжу тваринних жирів безпосередньо не підтверджується даним дослідженням, однак з огляду на підтвердження ролі надмірного аліментарного статусу та метаболічних порушень у генезі РМЗ такий зв'язок виглядає цілком ймовірним.

Як показали наші дослідження, одним з провідних чинників ризику виникнення РМЗ є вік, чим старше жінка, тим вище ймовірність захворювання. Водночас, довести чіткий зв'язок виникнення ДНМЗ з віком не вдалося.

Чимало клініко-епідеміологічних досліджень показують, що виникненню пухлин, як правило, передують той чи інший передпухлинний стан. Дослідження в цьому напрямку мають не тільки теоретичне, а й, безумовно, практичне значення, оскільки виявлення та лікування передпухлинних станів є профілактикою злоякісних новоутворень.

Вивчення епідеміології доброякісних захворювань дозволяє виявити загальні фактори ризику розвитку РМЗ. При аналізі даних, присвячених порівняльному вивченню епідеміології доброякісних захворювань і РМЗ, виявляються певні протиріччя. Одні виключають спільність в етіології цих процесів, інші відзначають тотожність факторів ризику. У більш детальних дослідженнях зазначається, що різні форми доброякісних захворювань мають різну епідеміологічну близькість до РМЗ.

Необхідно відзначити, що всі доброякісні захворювання молочної залози є в тій чи іншій мірі фактором ризику. Однак найбільш небезпечні внутрішньопотокова папілома, полікістоз, вузлові форми мастопатії.

Найменшим ризик є у фіброаденоми. Іноді РМЗ розвивається і без попередніх доброякісних змін, у всякому разі, без їх клінічних проявів. Слід зазначити, що поділ факторів ризику на різні групи досить умовний. Це, мабуть, пояснюється складними, поліетіологічними аспектами канцерогенезу.

Незважаючи на актуальність проблеми поширеності раку молочної залози, слід зазначити, що на його частку припадає лише 3 - 5% від всієї патології молочних залоз. Іншу частину складають доброякісні захворювання, які часто вносять у життя жінок значний дискомфорт.

Діагностика РМЗ і доброякісних захворювань заснована на єдиних принципах. Вона повинна носити комплексний характер: обов'язковою є участь лікарів різних спеціальностей: гінеколога, онколога, рентгенолога, спеціаліста з ультразвукової діагностики, морфолога, а також, при необхідності, інших фахівців.

Враховуючи різке збільшення кількості жінок з патологією молочних залоз, значно більшу роль в діагностичному і лікувальному процесах мають відігравати лікарі акушери-гінекологи. Це найбільш відвідувані жінками фахівці, тому їх онкологічна настороженість може врятувати не одне життя. Не слід забувати про навчання жінок прийомам самообстеження, але й не перевищувати значущість даного методу для виявлення ДНМЗ та ранніх стадій РМЗ.

З огляду на вищезазначене, можна визначити основні фактори щодо ризику розвитку ДДМЗ та ДНМЗ (табл. 3.1).

Патофізіологічним обґрунтуванням впливу визначених факторів ризику є наступне. Спадковий фактор, тобто наявність доброякісних і злоякісних новоутворень у родичів по материнській лінії, обумовлює схильність до виникнення порушень у клітинному циклі, у дисрегуляційних проявах на етапі процесів проліферації.

Фактори ризику виникнення патології молочних залоз

Фактор ризику	ВР	ДІ 95%
Вік старше 35 років	2,1	1,6 - 2,5
Обтяжений спадковий анамнез	1,4	1,1 - 1,7
Нейроендокринні порушення	2,2	1,8 - 2,6
Низький паритет	1,2	1,1 - 1,3
Артифіціальні аборти	1,3	1,1 - 1,5
Ожиріння	1,5	1,2 - 1,7
Тривале психоемоційне напруження	1,2	1,1 - 1,3
Пізня перша вагітність	1,4	1,2 - 1,6
Короткий період грудного вигодування	1,5	1,3 - 1,7
Тривалий період грудного вигодування	1,2	1,0 - 1,4
Раннє менархе	1,5	1,3 - 1,7
Пізнє менархе	1,6	1,3 - 1,8
Дефіцит лютеїнової фази	1,4	1,1 - 1,8
Запальні захворювання молочної залози	1,2	1,1 - 1,4
Супутні гінекологічні захворювання	1,5	1,2 - 1,8
Мастит	1,1	1,0 - 1,2

Наявність нейроендокринних порушень у вигляді патологічних змін нейрогуморальної складової репродуктивного циклу у свою чергу веде до активації проліферативних процесів в гормонально залежних органах, у тому числі в тканинах молочної залози. Часте штучне переривання вагітності (на найбільш ранніх термінах) призводить до того, що порушення гормональних впливів викликають виражену перебудову залози та загальну гіперплазію залозистого компонента. За нашими даними, ризик виникнення ДНМЗ

підвищується при надлишковій вазі тіла, а також при тривалому психоемоційному напруженні, які призводять до зміни секреторної функції ендокринних залоз.

До інших факторів ризику належать пізня перша вагітність (після 30 років), відсутній, короткий (не більше одного місяця) або довгий (більше одного року) період грудного вигодовування; раннє менархе (до 12 років); ендокринне безпліддя (ановуляторне); порушення менструального циклу (дефіцит лютеїнової фази), гінекологічні захворювання (міома матки, ендометріоз, гіперпластичні процеси ендометрія), запальні захворювання молочних залоз (мастит).

Гормональному впливу піддається паренхіма, на яку діють естрогени, прогестерон, пролактин і соматотропний гормон. Опосередковано на тканини молочної залози діють тиреоїдні гормони та інсулін. У меншій мірі до гормонального впливу схильна строма, в якій можлива гіперплазія під впливом естрогенів.

Взаємовідносини гормонів і жирової тканини молочної залози вивчені недостатньо. Жирова тканина, адипоцити молочної залози є депо естрогену, прогестерону і андрогенів. Адипоцити не синтезують статеві гормони, але активно їх захоплюють з плазми. Під впливом ароматаз андрогени перетворюються в естрадіол і естрон. Цей процес з віком посилюється, що, можливо, є одним з факторів збільшення ризику розвитку РМЗ. За нашими даними, у жінок старших 35 років ризик розвитку ДНМЗ збільшується вдвічі (ВШ = 1,8 (ДІ 95% 1,3 - 2,3)).

Важливою причиною виникнення диспластичних захворювань молочних залоз вважають порушення балансу статевих стероїдів - естрогену і прогестерону в організмі жінки, в результаті якого розвивається відносна гіперестрогенія, що призводить до проліферації епітелію альвеол, проток,

посиленню активності фібробластів і викликає проліферацію сполучної тканини молочної залози.

В даний час передбачаються три рівнозначних, які не виключають один одного, механізми проліферативної дії естрогенів на молочну залозу:

1) пряма стимуляція клітинної проліферації за рахунок взаємодії естрадіолу, пов'язаного з естрогенним рецептором з ядерної ДНК;

2) непрямий механізм - за рахунок індукції синтезу факторів росту, що діють на епітелій молочної залози ауто- або паракринно;

3) стимуляція клітинного росту за рахунок негативного зворотного зв'язку, згідно з яким естрогени нівелюють ефекти інгібуючих факторів росту.

Вплив естрогенів на клітинну проліферацію в тканинах молочної залози може здійснюватися також опосередковано - через фактори росту. Стимулюють проліферацію і диференціювання епітеліальних клітин молочної залози і гальмують апоптоз наступні чинники зростання і протоонкогени: епідермальний фактор росту (ЕФР); інсуліноподібний фактор росту типів I і II (ІПФРІ і ІПФРІІ); α -трансформуючий фактор росту (ТФР α) і протоонкогени. Існує також теорія генотоксичної дії естрогенів, згідно з якою метаболіти естрадіолу - 4ОН Е2; 3,4 quinone - проникають у клітину, оминаючи естрогенові рецептори, зв'язуються з ядерної ДНК і пошкоджують її.

Прогестерон здатний обмежувати вплив естрогенів на тканину молочної залози. Залежно від дози і тривалості впливу прогестерон може потенційно видозмінювати відповідь як нормальних, так і ракових клітин молочної залози на різних рівнях. Це стимуляція продукції 17 β -гідроксистероїддегідрогенази і естронсульфотрансферази, які швидко окислюють естрадіол в менш активний естрон і потім, зв'язуючи останній, перетворюють його на неактивний естрона сульфат. Це дозрівання і

диференціювання епітелію альвеол, який піддається подальшому клітинному діленню та down-регуляція естрогенних рецепторів в епітелії молочних залоз проявляється зниженням проліферації клітин, стимульованої естрогенами. Нарешті, це модуляція апоптозу клітин молочної залози за допомогою p53-супресора пухлини та модулювання мітогенних протоонкогенів.

Таким чином, разом із здатністю прогестерону знижувати експресію рецепторів естрогенів, даний гормон зменшує локальну концентрацію активних естрогенів, обмежуючи тим самим стимуляцію проліферації тканин молочної залози.

Подібно до естрогенів, прогестерон також опосередковано впливає на клітинну проліферацію епітелію молочних залоз - через фактори росту. Так прогестерон підвищує експресію ТФР α (трансформуючого фактора росту) і ЕФР (епідермального фактора росту) і знижує експресію ТФР β і ІПФР (інсуліноподібного фактору росту). Зазначені вище фактори переважно виробляються стромою молочної залози під впливом прогестерону.

Встановлено, що ЕФР, ТФР α і ІПФР викликають проліферацію епітелію, в той час як ТФР β інгібує її. Свої ефекти фактори росту проявляють відстрочено, а не відразу ж після впливу прогестерону, причому між самими чинниками зростання існують взаємодії, які проявляються змінами їх експресії та зв'язку з рецепторами.

Різнострамовано діючи на проліферацію, індуковані прогестероном чинники зростання, ймовірно, обумовлюють протилежні ефекти прогестерону на тканині. Відзначено, що надлишкова експресія чинників зростання може проявитися транзиторним зростанням проліферації з подальшим її пригніченням.

Неоднозначна дія прогестерону на тканини молочної залози також пов'язана з впливом останнього на різні типи рецепторів прогестерону, які бувають двох видів: А і В. Хоча обидва типи рецепторів зв'язуються з

прогестероном, функціональна активність у них різна. У той час, як В-тип рецептора забезпечує стимулюючі ефекти прогестерону на клітину, А-тип - супресуючу його активність. У різних тканинах-мішенях співвідношення різних типів рецепторів прогестерону може визначати чутливість цих тканин до дії даного гормону. Як було встановлено, в нормі співвідношення двох типів рецепторів рівне, однак, при розвитку диспластичних процесів в молочній залозі в її тканинах починає переважати один з типів рецептора, забезпечуючи тим самим чутливість молочної залози до впливу прогестерону, причому співвідношення двох типів рецепторів варіює серед пацієнток.

Ступінь розвитку молочної залози і диференціація вкрай важливі для оцінки схильності до канцерогенезу. Характер специфічної дольчатої морфології служить своєрідним показником рівня диференціації і, отже, можливого ризику перетворення епітелію молочної залози у випадку впливу декількох генотоксичних факторів. Регуляція росту і диференціації молочної залози здійснюється під впливом двох основних жіночих статевих гормонів - естрадіолу і прогестерону.

Є докази, що естрогени не чинять карциногенної дії. Як мітогени вони можуть виконувати роль стимуляторів росту, якщо злоякісна трансформація вже відбулася в результаті впливу інших факторів. Естрогени впливають за допомогою зв'язування зі специфічними а- і b-рецепторами. При вивченні проліферативної кінетики нормального епітелію молочної залози виявлено пік проліферації в II фазі менструального циклу.

Залучення прогестагенів в карциногенез молочної залози є більш комплексним і забезпечує інгібіторний механізм впливу на клітинну проліферацію за допомогою гальмування G1-фази і заключної диференціації. Вплив прогестинів проявляється у підтримці геномічної стабільності ДНК і їх взаємодії всередині G1 / S - контрольного пункту клітинного циклу.

Досі ведуться суперечки про те, які гормони грають провідну роль у карциногенезі: естрогени, прогестерон, або їх комбінація. Вважають, що надмірний клітинний розподіл є основою для розвитку злоякісного фенотипу. Карцерогенні мутації з'являються в онкогенах, в генах, що гальмують ріст пухлини, і в генах, залучених до відновлення ДНК. Крім того, декілька генів, що контролюють відповідь клітини на вплив фактора росту, також кодують рецептори до факторів росту і для протеїнів, залучених до сигнального перетворення в цитоплазмі, і для ядерних факторів транскрипції.

Розрізняють 4 фази клітинного циклу: G, синтез ДНК, S-фаза і G2-мітоз (M). Клітини можуть залишити клітинний цикл і увійти у фазу спокою – G₀, з якої можуть повторно входити в клітинний цикл. Клітини можуть також пройти клітинний цикл з подальшим входженням в необоротну програму диференціації.

У ракових клітинах молочної залози прогестагени впливають на клітинний цикл по різному. Прогестагени можуть залишити клітинний цикл і увійти у фазу спокою або G₀-фазу, з якої можуть потім знову увійти в клітинний цикл. У порядку альтернативи клітини можуть залишити клітинний цикл з метою входження в необоротну програму клітинної диференціації. Мітогенний ефект естрогенів здійснюється в ранню G₁-фазу. Прогестини інгібують клітинний цикл в ранній G₁-фазі і прискорюють клітинний цикл у пізній G₁-фазі. Таким чином, дія прогестинів здійснюється всередині G₁ - фази.

Відомо, що розвиток гіперпластичних процесів у молочних залозах відзначається у 52% хворих з гіперпролактинемією. Патогенетична роль гіперпролактинемії у розвитку мастопатії до кінця не уточнена.

Можливо, з одного боку, зростання вмісту пролактину в сироватці крові може бути тільки маркером центральних (гіпоталамо-гіпофізарних) порушень в системі регуляції репродуктивної функції. Але, з іншого боку,

надлишок пролактину робить прямий стимулюючий вплив на проліферативні процеси в периферійних органах-мішенях статеві системи, що реалізовується шляхом збільшення вмісту рецепторів до естрадіолу в тканинах молочної залози і підвищення чутливості клітин до дії останнього. Однак, роль гіперпролактинемії як фактора ризику розвитку РМЗ не доведена.

Питання про роль гіпотиреозу в розвитку РМЗ також не достатньо вивчено. Однак, доведено, що гіпофункція щитоподібної залози підвищує ризик виникнення дисплазій молочних залоз порівняно зі здоровими жінками в 3,8 рази. У більшості пацієнок з гіпотиреозом є недостатність лютеїнової фази циклу або ановуляторні цикли, а також відбувається підвищена стимуляція лактотрофів гіпофізу тіроліберином і, як наслідок, виникає функціональна гіперпролактинемія, що в кінцевому підсумку, може призводити до розвитку проліферативних процесів у тканині молочної залози. Існуюча інсулінорезистентність при цукровому діабеті 2-го типу та ожирінні супроводжується хронічною компенсаторною гіперінсулінемією та асоційованою з нею активацією проліферативних процесів.

3.4 Клініко-анамнестичні особливості хворих на РМЗ

При дослідженні частоти різних форм РМЗ у I групі встановлено, що серед пацієнок превалювали високо- та помірnodиференційовані інвазивні протокові пухлини (табл. 3.2). При цьому середній вік жінок з РМЗ був дещо більшим від показників у II та III групах.

Злоякісною пухлиною у 22 (59,5%) хворих були вражені зовнішні квадранти, у 6 (16,2%) - внутрішні квадранти молочної залози, у 9 (24,3%) - центральна частина або одночасно декілька квадрантів молочної залози. За

результатами післяопераційного гістологічного дослідження найбільш часто (86,5%) зустрічався протоковий, дольковий і дольково-протоковий рак молочної залози.

Таблиця 3.2

Повікова структура РМЗ у пацієток репродуктивного віку

Тип пухлини	До 25 років		26-30 років		31-35 років		36-40 років		Старше 40 років	
	Абс	%	Абс	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Інвазивний протоковий рак	1	2,7	1	2,7	1	2,7	6	16,2	20	54,1
Інвазивний апокриновий рак	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2,7
Інвазивний дольковий рак	-	-	-	-	-	-	-	-	3	8,1
Інші види раку	-	-	-	-	1	2,7	1	2,7	2	5,4

При аналізі розподілу РМЗ за стадіями пухлинного процесу встановлено перевагу хворих з ранніми стадіями захворювання – 28 жінок (75,7%).

Всім хворим проводилося імуногістохімічне (ІГХ) дослідження злоякісної пухлини молочної залози з метою визначення ступеня гормонозалежності та факторів прогнозу шляхом визначення рецепторів до естрогену, прогестерону, HER-2/NEU, Ki67.

3.5 Результати хірургічного лікування хворих

Оперативне лікування було проведено 592 хірургічним хворим з ДНМЗ. З них 536 хворих було включено до ретроспективного дослідження, 56 хворих увійшли до проспективного дослідження (II група спостереження). Крім того, в рамках комплексного лікування проведено оперативне втручання 37 хворим з РМЗ, які увійшли до проспективного дослідження (I група спостереження).

Діагноз ДНМЗ встановлювали при відповідній клінічній, рентгенологічній та морфологічній картині. За умови недостатньо інформативного цитологічного результату хворим проводили повторну аспірацію чи біопсію пухлини в залежності від клінічного перебігу. При підозрі на злоякісний процес проводилося лікування відповідно до клінічного протоколу, затвердженого наказом МОЗ України від 30.07.2010р. №645. При встановленні діагнозу ДНМЗ проводили патогенетичну терапію або видалення новоутворення з наступним консервативним лікуванням.

При виявленні під час клінічного обстеження та УЗД у пацієнок молодше 40 років вузлового новоутворення молочної залози, тактика визначалася характером візуалізованого новоутворення. При солідних новоутвореннях проводили тонкогільчату аспіраційну біопсію з цитологічним дослідженням та трепанбіопсію. Діагноз ДНМЗ підтверджували відповідними цитологічною та гістологічною картинами. При відсутності атипії проводилася патогенетична терапія чи видалення новоутворення з наступним консервативним лікуванням. За умови неадекватного цитологічного результату проводилася діагностична мамографія, за результатами якої визначалася подальша тактика та проводилася консультація онколога. При наявності кистозного новоутворення молочної залози у пацієнок молодше 40 років проводили

тонкогільчату аспіраційну біопсію під контролем УЗД, а в подальшому орієнтувалися на характер вмісту кисти за клінічними та цитологічними ознаками. При кров'янистому вмісті, наявності залишкового новоутворення, гіперплазії та/або атипії при цитологічному дослідженні проводили МГ.

При визначенні тактики ведення пацієток з доброякісною патологією молочної залози велике значення мала узгоджена взаємодія спеціалістів різного фаху, що представлено у вигляді наступного алгоритму (рис. 3.13).

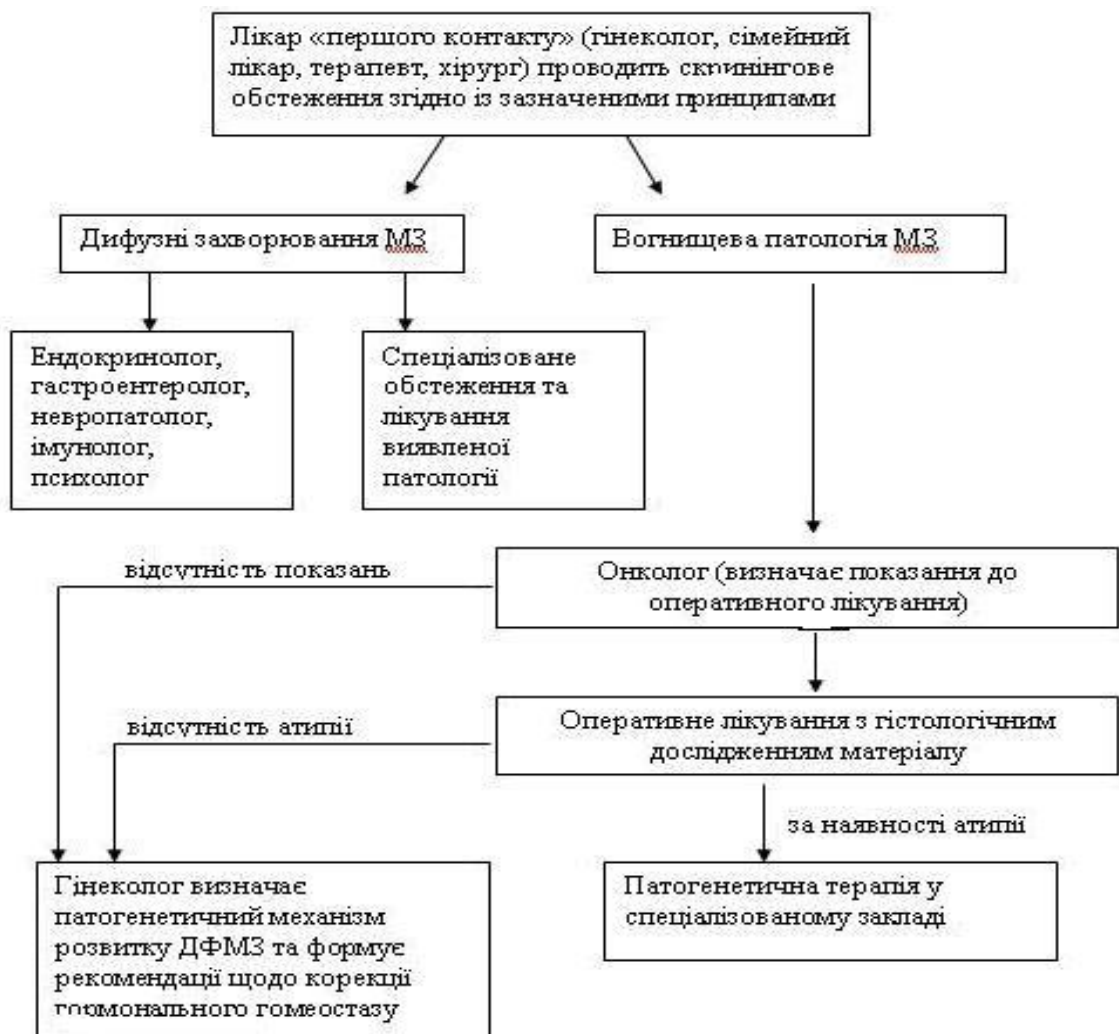


Рис. 3.13 Алгоритм взаємодії лікарів різного фаху при обстеженні жінок групи ризику розвитку доброякісної патології молочної залози та визначення тактики їх лікування.

На тлі проведення консервативного лікування спостерігали за перебігом патологічного процесу протягом 8 - 12 тижнів, після чого при наявності рецидиву кисти проводили повторну аспіраційну біопсію з цитологією та мамографічне дослідження. При відсутності рецидиву проводили спільне спостереження жінок з лікарем гінекологом, індивідуалізовану патогенетичну терапію.

Хірургічне лікування проводилося в залежності від клінічної маніфестації основного захворювання. Переважній більшості пацієнок з ДНМЗ виконували секторальну резекцію молочної залози, в окремих випадках за показаннями – просту мастектомію чи профілактичну білатеральну підшкірну мастектомію з одномоментною реконструкцією; хворим на РМЗ виконували оперативне втручання в радикальному обсязі згідно із затвердженими МОЗ України стандартами лікування (радикальна резекція, квадрантектомія молочної залози з використанням прийомів онкопластичної хірургії, підшкірна мастектомія, мастектомія за Маденом, реконструктивно-пластичні операції). Всі операції проводилися під загальним знеболюванням з інтраопераційною гістологічною діагностикою видаленої пухлини та країв резекції. Важливим компонентом у досягненні задовільних короткострокових та довгострокових результатів лікування є планування обсягу оперативного втручання в залежності від передопераційного діагнозу та отриманого гістологічного висновку під час операції, передопераційна розмітка шкірних розтинів і переміщення клаптів при онкопластичних та реконструктивно-пластичних операціях.

Секторальну резекцію виконували шляхом видалення ділянки тканини молочної залози, підозрілої на рак або з доброякісним новоутворенням молочної залози. Розтин шкіри молочної залози проводився параареоларно або субмаммарно, іноді – радіально над пухлиною. Оперативне втручання виконували наступним чином. Хірург намічав лінії розтину для секторальної

резекції за допомогою кольорового маркеру або 1% розчину діамантового зеленого, згідно з розміткою проводився розтин шкіри та підшкірної клітковини. Виділяли ділянку молочної залози з пухлиною, відступивши 2 - 3 мм від краю пухлини, проводили видалення сектору молочної залози на всю товщу до фасції великого грудного м'яза під контролем руки. Проводили зупинку кровотечі за потребою та контроль гемостазу після видалення сектору молочної залози. Видалений сектор молочної залози відправляли на термінове гістологічне дослідження (триває 15 - 20 хвилин). При виявленні раку розширяли обсяг оперативного втручання згідно з клінічною ситуацією та наданою згодою пацієнтки. Якщо за даними інтраопераційного гістологічного дослідження новоутворення виявилось доброякісним, проводили наближення країв рани молочної залози окремими вузловими швами, попередньо встановлювали дренаж в місце ложа пухлини та виводили його через рану або через контрапертуру. При необхідності накладали субдермальні шви. На шкіру накладали окремі вузлові шви або косметичний внутрішньошкірний шов. Дренаж видаляли на 2 - 3 добу після операції. Шви знімали на 10 - 12 добу після оперативного втручання.

При виявленні у хворих непальпованої зони локального фіброаденоматозу або скупчення мікрокальцинатів на передопераційному етапі проводили локалізацію патологічної ділянки молочної залози за допомогою спеціального рентгенопозитивного гарпуна та інтраопераційного мамографічного обстеження видаленого сектора молочної залози перед направленням на дослідження до патологоанатомічного відділення.

Подібні підходи використовували у хворих на РМЗ при радикальній резекції та квадрантектomії, коли об'єм втручання визначався видаленням декількох сегментів або квадранту молочної залози. В таких випадках проводили інтраопераційне гістологічне дослідження країв резекції, а також видалення жирової клітковини підлопаткової, підключичної і пахвової зон з

регіональними лімфовузлами. Для цього проводили продовження розтину шкіри до пахвової ділянки або окремий напівкруглий розтин шкіри в пахвовій зоні по краю росту волосся. Даний вид оперативного втручання використовували у хворих на РМЗ на ранніх стадіях захворювання.

В окремих випадках при наявності протипоказань до органозбережних операцій хворим на РМЗ проводили радикальну підшкірну мастектомію з одномоментною або відтермінованою реконструкцією молочної залози шкірно-підшкірно-м'язевими клаптями чи імплантатами.

За показаннями хворим на РМЗ виконували мастектомію за Маденом, яка передбачає видалення молочної залози з пахвовою клітковиною, але без видалення великого і малого грудного м'язів. Мастектомія за Маденом поєднує в собі достатню радикальність і водночас функціональність. Збереження грудних м'язів значною мірою зменшує кількість такого ускладнення, як порушення рухливості плечового суглоба. Дане оперативне втручання проводилося під загальною анестезією, яка може бути у вигляді внутрішньовенного наркозу (знеболювання за допомогою внутрішньовенного введення спеціальних препаратів) або ендотрахеального наркозу (вводиться спеціальна трубка в дихальні шляхи, через яку вводять спеціальні препарати у вигляді газу).

Оперативне втручання виконувалося наступним чином. Хірург помічав дві напівовальні лінії розтину. Розтинали шкіру та підшкірну клітковину, тканину молочної залози акуратно відокремлювали від шкірно-підшкірного лоскуту з одного боку до грудини, з іншого - до найширшого м'яза спини, зверху - до ключиці, знизу - до реберної дуги. Великий і малий грудні м'язи не видалялися. Послідовно видаляли жирову клітковину іпсилатеральної підлопаткової, підключичної і пахвової зон з регіональними лімфовузлами, в яких можуть бути метастази раку. Проводили зупинку кровотечі за потребою та контроль гемостазу після видалення молочної залози і клітковини з

регіональними лімфовузлами. Всі етапи оперативного втручання проводили за допомогою апарата зварювання живих тканин вітчизняного виробництва ЕК-300М. В нижньому шкірно-підшкірному клапті хірург робив отвір, через який проводився дренаж – багато просвітна гумова трубка, що приєднувалася в подальшому до вакуумного відсмоктування (груша або гармошка). Далі накладали вузлові субдермальні шви та внутрішньошкірні шви на рану, асептична дав'яча пов'язка з метою стискання пахвової зони.

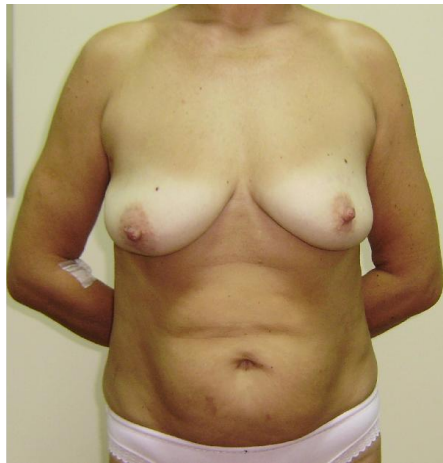
Після операції використовували сухий холод впродовж 15 – 20 хв. на область післяопераційної рани. У перші дні після оперативного втручання звертали увагу на скупчення крові або лімфатичної рідини під клаптями шкіри. По дренажу в перші дні надходить лімфатична рідина з домішкою крові в обсязі 100 – 150 мл на добу. Дренаж видаляли на 5 - 6 добу після операції. Шви знімали на 12 - 14 добу.

Таблиця 3.3

Види оперативних втручань у пацієнок з вузловими захворюваннями молочної залози на проспективному етапі дослідження

Назва операції	І група (n = 37)		ІІ група (n = 56)	
	Абс.	%	Абс.	%
Секторальна резекція	-	-	55	98,2
Радикальна лампектомія чи квадрантектомія	22	59,5	-	-
Проста мастектомія	-	-	1	1,8
Радикальна мастектомія з реконструкцією	2	5,4	-	-
Радикальна мастектомія за Маденом	13	35,1	-	-

Більшості пацієнок з ДНМЗ виконували секторальну резекцію, в одному випадку у зв'язку з гігантською листовидною фіброаденомою була виконана проста мастектомія (табл. 3.3).



а)

б)

Рис. 3.14 Хвора В. з діагнозом рак правої молочної залози $mT1cN0M0$ стадія I, клінічна група II. До операції (а) та після правосторонньої радикальної підшкірної мастектомії з одномоментною реконструкцією торакодorzальним клаптом, лівосторонньої симетризуючої мастопексії (б).

У групі пацієнок зі злоякісними новоутвореннями переважали інвазивні протокові форми, пухлини були невеликих розмірів. Основними

оперативними втручаннями, що застосовувалися у цій групі, були органозберіжні (радикальна лампектомія, квадрантектомія) та реконструктивно-пластичні (підшкірна мастектомія з реконструкцією). За показаннями виконували радикальну мастектомія за Маденом.

На нашу думку, модифікована радикальна мастектомія зі збереженням шкіри з одномоментною реконструкцією молочної залози є методом вибору у хворих первинно-операбельним раком на ранній стадії, які мають протипоказання чи обмеження до виконання органозберігаючого лікування. Ця методика забезпечує найкращі естетичні результати і показники загальної задоволеності хворої результатами лікування (рис. 3.14).

Відповідно до результатів наших спостережень, у переважної більшості пацієнток з ДНМЗ післяопераційний період перебігав без ускладнень. В 3 випадках відзначалася гематома післяопераційної рани, в 2 випадках на тлі запальної кисти відзначалося вторинне загоєння післяопераційної рани. Помірна лімфорея, як закономірний плин раннього післяопераційного періоду, спостерігалася в 73% хворих з ДНМЗ та 100% хворих з РМЗ. В I-й групі проспективного дослідження у трьох пацієнток з РМЗ у віддаленому післяопераційному періоді після мастектомії за Маденом виникли явища лімфостазу 1 - 2 ступеню, який проявлявся помірним набряком м'яких тканин іпсилатеральної верхньої кінцівки.

3.6 Результати удосконалення діагностичного алгоритму

З метою удосконалення роботи щодо раннього виявлення і профілактики захворювань молочної залози, покращення якості і доступності надання медичної допомоги жіночому населенню м. Одеси та на виконання

рішення колегії МОЗ України від 09.12.2010 р. «Про проблемні питання в онкології», спільного наказу МОЗ України на НАМНУ від 14.05.2010 р. №409/36 «Про виконання завдань та заходів Загальнодержавної програми боротьби з онкологічними захворюваннями на період до 2016 року», наказу МОЗ України від 15.07.2011 р. №417 «Про організацію амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги в Україні», рішення Одеської обласної ради від 26.08.2011 р. №206-VI «Про затвердження обласної програми «Репродуктивне здоров'я населення Одеської області до 2015 року», співробітниками кафедри онкології Одеського національного медичного університету (ОНМедУ) спільно з управлінням охорони здоров'я Одеської міської ради було розроблено комплекс заходів, який містив створення інфраструктури, спрямованої на зниження захворюваності та смертності від РМЗ. При моделюванні результатів реалізації даного комплексу заходів планувалося підвищення в найближчі роки показників виявлення ДДМЗ, ДНМЗ, РМЗ на ранніх стадіях. Одночасно очікувалося тимчасове зростання захворюваності на РМЗ в перші два роки у зв'язку з більш активним виявленням цієї патології з подальшою стабілізацією та поступовим покращенням даного показника.

Ключовою складовою виконання даного управлінського рішення була розробка здобувачем на посаді головного позаштатного мамолога та видання наказів управління охорони здоров'я Одеської міської ради від 10.06.2011 р. №308 «Про створення мамологічного кабінету в КУ «МП №6» та від 19.10.2011 р. №610 «Про удосконалення роботи щодо раннього виявлення та профілактики захворювань молочної залози серед населення м. Одеси» та створення триступеневої схеми надання медичної допомоги мамологічним хворим. Згідно з цими наказами було створено міський мамологічний кабінет на базі міської поліклініки №6 м. Одеси, затверджено маршрут пацієнтів, послідовність та обсяг надання медичної допомоги пацієнтам на різних

рівнях, визначено категорії населення, які підлягають направленню на консультацію до міського мамологічного кабінету, форми звітності щодо виявленої патології молочної залози. Обсяг надання медичної допомоги в міському мамологічному кабінеті передбачав огляд пацієнтів лікарем-мамологом; проведення мамографії; флюорографії; УЗД молочних залоз, щитоподібної залози, органів черевної порожнини та малого тазу; лабораторне обстеження; огляд онкохірургом та суміжними спеціалістами за потребою, насамперед гінекологом та ендокринологом.

Метою даних управлінських рішень було вирішення наступних завдань:

1. Покласти виконання масової діагностичної роботи та поглибленого обстеження захворювань молочних залоз на фахівців-мамологів амбулаторно-поліклінічних відділень загальнолікувальної мережі. До спеціалізованих лікувальних закладів 3-го рівня повинні потрапляти лише хворі з вузловими новоутвореннями молочних залоз для проведення диференційної діагностики та лікування.

2. На етапі первинного контакту пацієнтки і лікаря-мамолога усунути «фактор страху» перед онкологічним закладом та лікарем-онкологом, що запобігає відтермінованості візиту жінки до фахівця.

До прийняття даних управлінських рішень спонукав досвід роботи мамологічної служби Центру реконструктивної та відновної медицини (Університетська клініка) ОНМедУ за 2010 - 2011 роки, який свідчить про високу ефективність надання медичної допомоги мамологічним хворим за триступеневою схемою у вигляді системної роботи та злагоджених дій первинного рівня медичної допомоги (сімейні лікарі), кабінету мамології консультативно-діагностичного відділення та спеціалізованої стаціонарної допомоги мамологічним хворим (третій рівень надання медичної допомоги). На першому рівні завданням лікаря було проведення профілактичних заходів (в тому числі направлення на мамографію з метою скринінгу), своєчасність

виявлення патології та направлення хворих на додаткове обстеження. На третьому рівні основним завданням було проведення лікування передпухлинних захворювань та РМЗ згідно з існуючими стандартами та обов'язковим урахуванням індивідуальних особливостей перебігу захворювання і супутньої патології кожної хворої.

Основний тягар щодо проведення обстеження та диференційної діагностики захворювань молочної залози було покладено на спеціалістів консультативно–діагностичного відділення, що дозволило максимально ефективно використовувати дороговартісне діагностичне та лабораторне обладнання без зайвого обтяження стаціонарних потужностей. Результатом спільної роботи підрозділів Університетської клініки ОНМедУ стало збільшення кількості виявлених хворих з ДНМЗ та ранніми стадіями РМЗ одночасно зі зменшенням показників загальної захворюваності на РМЗ серед приписного жіночого населення з 84,6 на 100 тис. в 2010 році до 63,3 на 100 тис. в 2011 році.

За даними офіційної звітної статистики після впровадження положень вищезазначених наказів управління охорони здоров'я Одеської міської ради серед жіночого населення м. Одеси в 2011 році на 12,8% підвищилася кількість виявлених хворих з ДДМЗ зі стабілізацією даного показника в 2012 році, а кількість виявлених хворих з ДНМЗ підвищилася на 12% в 2012 році. Одночасно зріс показник виявлення РМЗ в ранніх стадіях та на профілактичних оглядах (табл. 3.4, рис. 3.15).

Таким чином, враховуючи результати проведеної організаційної та лікувально-профілактичної роботи, запропонований обсяг заходів виявився достатньо ефективним щодо оптимізації програми скринінгу, спрямованого на своєчасне виявлення хворих на передпухлинні захворювання та РМЗ, а також покращення якості та доступності надання медичної допомоги мамологічним хворим м. Одеси.

Про це, зокрема, свідчить зростання виявлення РМЗ на ранніх стадіях захворювання та при профілактичних оглядах (рис. 3.15.). Так, якщо у 2010 році на 1 та 2 стадії раку припадало 84,7% виявлених випадків, то у 2012 – вже 88,0%. Відповідно, частка захворювань, виявлених при профілактичних оглядах, зросла з 56,7% до 63,9%.

Таблиця 3.4

Результати моніторингу захворювань молочної залози в м. Одесі (2010 - 2012 рр.)

Захворюваність/ Нозологія (код за МКБ - 10)	2010 р.		2011 р.		2012 р.	
	Абс. число захворювань	Відносний показник (на 100 тис. жін. населен.)	Абсол. число захворювань	Відносний показник (на 100 тис. жін. населен.)	Абсол. число захворювань	Відносний показник (на 100 тис. жін. населен.)
ДДМЗ (N 60 - 64)	2957	573,2	3777	733,1	3601	700,9
ДНМЗ (D 24)	637	123,5	639	124,1	767	149,3
РМЗ (C50)	465	87,6	406	76,5	443	83,6

Наш досвід дозволяє рекомендувати впровадження в практику відкриття мамологічних кабінетів в консультативно-діагностичних центрах та амбулаторних відділеннях лікувально-профілактичних закладів

загальнолікувальної мережі у кількості, відповідної до епідеміологічної ситуації щодо РМЗ в регіоні.

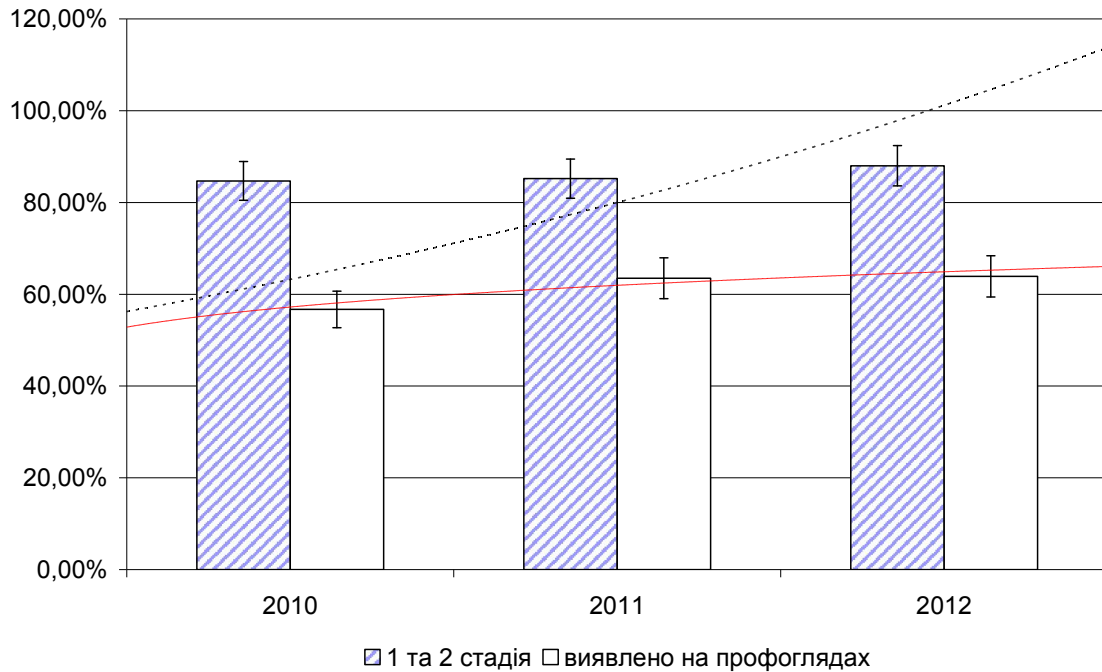


Рис. 3.15 Виявлення РМЗ у жінок м. Одеси (2010 - 2012 рр.).

Наведені у розділі результати були опубліковані у наступних фахових виданнях:

1. Дубініна В.Г. Біомаркери проліферації при доброякісних пухлинах молочної залози / В.Г. Дубініна, С.Г. Четверіков, О.В. Заволока, О.М. Морозюк, В.В. Сажиєнко, В.Ю. Вододюк // Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. - 2012. - №1. - С. 106-108
2. Дубініна В.Г. Досвід удосконалення роботи щодо профілактики та раннього виявлення захворювань молочної залози серед жіночого населення Одеси. / В.Г. Дубініна, О.В. Заволока, І.В. Шпак // Одеський медичний журнал. - 2013. - N 2. - С. 72-76

РОЗДІЛ 4

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ ДЕТЕРМІНАНТИ ДИСПЛАСТИЧНИХ
ПРОЦЕСІВ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Всі гени, що входять до складу генетичної мережі при РМЗ можна поділити на декілька груп. По-перше, це гени що відповідають за розвиток молочної залози (BTRC, ER884, ER883, IL6ST, MAP2K4), проліферацію клітин (GLI3, CCND1, ARNT2, RARA) та їх міграцію (IRS1, PPM1A), регулюють апоптоз (BCL2, ITPR1), забезпечують нормальне функціонування сигнальних шляхів, асоційованих з рецепторами до естрогенів (ER), а також із каскадом PI3K (IRS1, IGF1R, ADCY1, ADCY9). Від 20% до 50% випадків спадкового РМЗ пов'язані з гермінальними мутаціями генів BRCA1 та BRCA2, а з урахуванням синдромальної патології РМЗ може бути асоційований також з мутаціями генів CHEK2, MLH1, TP53, CDH1 та інші.

Значний інтерес являють також співвідношення між генами, що регулюють активність нітрегичних систем та естроген-залежних механізмів регуляції клітинного циклу (рис. 4.1). Як видно з наведеного рисунка, ген VEGFA знаходиться у відношеннях коекспресії з геном NOS3, TNF та TP53.

Зазначені гени, у свою чергу, тісно взаємодіють з такими генами як MIER1, TNFRSF1A, CEBPA, AIFM2, MYB, SIN3A, RFW2, STEAP3, TP63, ZDHHC21, FLT1, KDR, NRP1 і NRP2, VD2AP, GUCY1B3, CAV3, NOSTRIN, LYPLA1, NOSIP. Наведене свідчить про складний характер взаємодії ангіогенних факторів у виникненні та детермінації подальшого клінічному перебігу РМЗ, але для прояснення прогностичної ролі VEGF при РМЗ необхідні додаткові проспективні клінічні дослідження із залученням більших за розміром виборок пацієнтів.

Ендотеліальний фактор росту судин (VEGF) - основний індуктор ангіогенезу, а також нейрональної проліферації, координатор росту судин і нейронних мереж, що володіє нейропротективними властивостями. VEGF продукується клітинами, що знаходяться в щільній близькості до ендотеліальних клітин, такими як кардіоміоцити під час активного ангіогенезу капілярів на етапах розвитку та неонатального зростання. VEGF здійснює свої ефекти через рецептори ендотеліальних клітин, такі як VEGFR-1 VEGFR-2, нейрофілін-1 і нейрофілін-2.

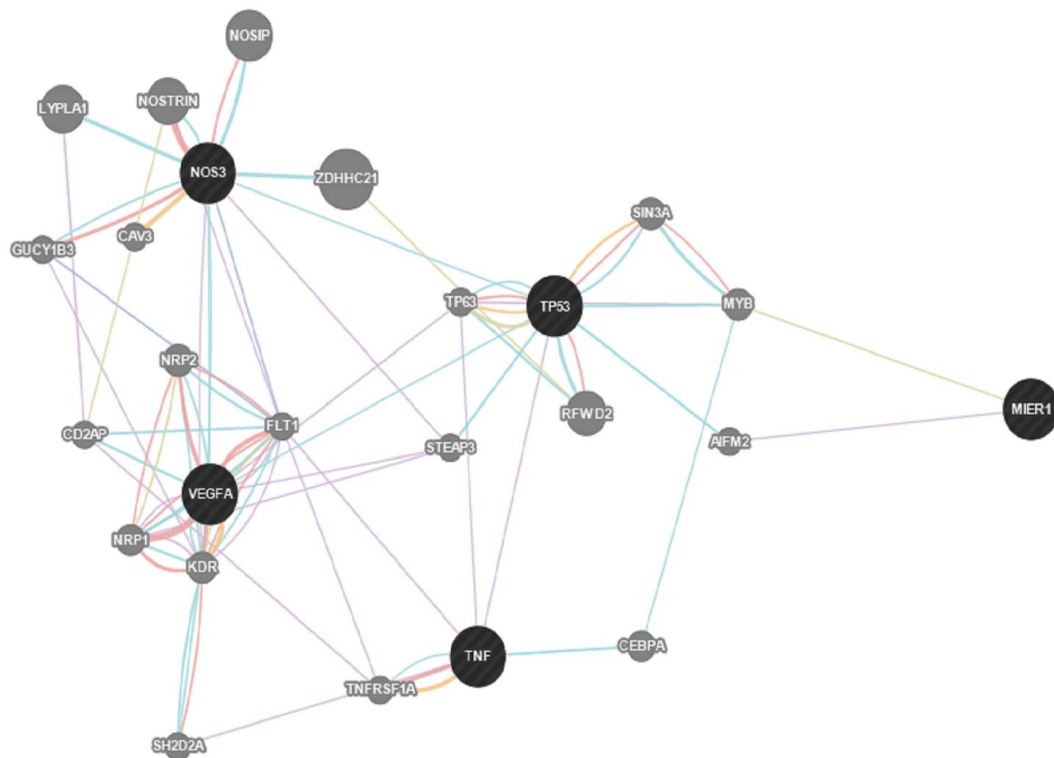


Рис. 4.1 Регуляція експресії гену VEGFA.

Експресія VEGF регулюється гіпоксією, він індукує плейотропні реакції, що дозволяють ендотеліальним клітинам проліферувати, мігрувати, збиратися в трубки і формувати пов'язану мережу, виживати і посилювати

свою проникність. VEGF стимулює міграцію ендотеліальних клітин шляхом посилення рухливості і збільшення експресії матричних металопротеїназ і плазміногеном активаторів, матричних молекул (остеопінтин) і матричних рецепторів ($\alpha v\beta 3$ інтегрин) і коннексина-43 щілинних містків. Інактивація одиночного VEGF алеля веде до пов'язаної з гапло-недостатністю загибелі ембріонів через аномалії розвитку кровоносних судин приблизно на 9-й день вагітності. Диференціація ангиобластів не порушена, але порушено утворення просвітів судин, відгалужень і ангиогенез. Інактивація VEGF під час постнатального розвитку веде до порушення постнатального розвитку судин і життєздатності ендотелію, збільшує смертність, затримує ріст і порушує розвиток печінки, серця і нирок. Рівень експресії VEGF прогресивно зменшується після народження і мінімальний у більшості тканин дорослих, за винятком місць активного ангиогенезу, таких як яєчники, матка та шкіра (зростання волосся). Високі рівні VEGF в дорослих нирках пов'язані з ендотеліальною фенестрацією. Однак експресія VEGF реіндукується під час патологічного ангиогенезу, в тому числі при утворенні пухлин.

Слід зазначити, що в фаховій літературі наявні дані про те, що за рівнем VEGF можна судити про ефективність терапії. Foekens et al. продемонстрували зв'язок між високою експресією VEGF і низькою ефективністю звичайної системної терапії (тамоксифену або хіміотерапії). При вивченні зразків пухлинної тканини, узятих у 618 пацієнток з поширеним РМЗ, які отримували ці види лікування, вони показали, що середні і високі рівні VEGF пов'язані з меншими показниками виживаності без прогресування і пострецидивної виживаності.

Крім того, результати доклінічних досліджень підтверджують клінічні дані, отримані Foekens et al. Так, дані Liang et al., отримані під час роботи з лініями пухлинних клітин, дозволяють припустити, що VEGF може брати участь у розвитку стійкості до гормональної терапії і, тим самим, у

прогресуванні захворювання. У деяких випадках експресії VEGF сприяли і самі антагоністи гормонів, як це показано на лініях пухлинних клітин.

За припущеннями деяких дослідників, роль VEGF при РМЗ не обмежується ангиогенезом. Як і клітини ендотелію, пухлинні клітини при РМЗ самі експресують і VEGF, і його рецептори. Тобто, клітини пухлини можуть сприяти своєму зросту і уникати апоптозу за допомогою VEGF (аутокринна сигнальна петля). Weigand et al. показали, що при РМЗ на поверхні пухлинних клітин знаходиться рецептор VEGF-2. Робота цих рецепторів стимулюється VEGF, що говорить про існування, незалежно від ангиогенних ефектів VEGF, аутокринної сигнальної петлі. Mercurio et al. підтвердили ці дані, припустивши, що клітини, здатні до аутокринної передачі сигналу VEGF, відбираються в умовах гіпоксії, і що для найбільш агресивних пухлинних клітин характерна залежність від VEGF. Ці ж автори також припустили, що крім протиапоптозної дії аутокринна передача сигналу за допомогою VEGF може відігравати суттєву роль в міграції пухлинних клітин і в прогресуванні захворювання. Так, VEGF взаємодіючи з NP-1, стимулює протиапоптозні сигнальні шляхи (PI3K/Akt). Нарешті, тісно взаємодіє з VEGF семафорин 3А - білок, що перешкоджає за рахунок зв'язування з NP-1 міграції пухлинних клітин. VEGF конкурує з семафоріном 3А за зв'язування з NP-1, блокуючи тим самим інгібуючі властивості семафоріна. Від VEGF залежить експресія інтегрину $\alpha\beta_4$, що сприяє за рахунок шляху PI3K/Akt виживанню пухлинних клітин РМЗ в умовах стресу.

Показано, що VEGF і ангиогенез - важливі компоненти росту і метастазування пухлини при цілому ряді солідних новоутворень. Це справедливо і щодо різних типів РМЗ, включаючи запальний і метастатичний РМЗ, пухлини з інвазивним і неінвазивним зростанням, із залученням і без залучення лімфовузлів. В одній з робіт Yoshiji et al. при дослідженні 18 зразків тканин молочної залози виявили, що в кожному з них експресія VEGF

помітно вище, ніж в навколишніх здорових тканинах. В іншому дослідженні, присвяченому оцінці ролі VEGF при РМЗ, Brown et al. виявили, що високий рівень VEGF визначається при протоковому, але не при інфільтративному дольковому раку. Дослідження, проведене Jacobs et al. ще в 2006 році, показало, що високий ризик розвитку інвазивного РМЗ пов'язаний з поліморфізмами 2578С і 1154G. Пізніші дослідження довели, що поліморфізм цих генів посилює експресію VEGF.

Інтенсивна ангиогенна активність відзначається при запальній формі РМЗ. Намагаючись охарактеризувати ангиогенний фенотип захворювання, Van der Auwera et al. за рівнем мРНК визначили експресію факторів пухлинного ангиогенезу і лімфангиогенезу у пацієток із запальним та незапальним РМЗ. Висока ангиогенна активність спостерігалася при обох типах РМЗ, проте при запальній формі РМЗ експресія мРНК ангиогенних і лімфангиогенних факторів, включаючи VEGF-C і VEGF-D, була значно вище. Ці дані пояснюють, чому при запальній формі РМЗ частіше має місце метастазування гематогенним і лімфогенним шляхом.

Експресія VEGF загалом обумовлена насамперед генетичними факторами, в тому числі наявністю функціональних поліморфізмів. Подібні дані одержані й щодо TNF α , експресія якого залежить від наявності функціональних поліморфізмів гену TNF.

Дослідження молекулярних механізмів проліферативних (гіперпластичних) процесів та пошук шляхів їх фармакологічної корекції є однією з найбільш динамічно прогресуючих галузей сучасної молекулярної медицини. Розуміння базисних основ індукції клітинного росту, особливо в умовах пухлинної трансформації клітин, є невід'ємною частиною грамотного підходу до управління і моніторингу проліферативної активності.

Раннє виявлення в організмі вогнищ патологічної проліферації і вміння регулювати ці процеси відкривають необмежені можливості у профілактиці

та лікуванні такого захворювання жіночої репродуктивної системи як рак молочної залози. В даний час детально вивчені ключові механізми активації сигнальних шляхів, стимулюючих клітини до патологічної проліферації.

Етапи прогресії захворювання, починаючи з хронічних запальних змін в нормальній тканині, які згодом викликають активацію проліферативних процесів, розвиток локальних пухлин з ймовірним переходом у РМЗ. За різними даними, на «проходження» цих стадій потрібно від 3 до 20 років.

Клітини молочної залози піддаються безперервному впливу різних факторів, що стимулюють їх проліферацію. Як вже зазначалося, існує кілька альтернативних шляхів, через які клітини отримують сигнали, що стимулюють їх до активного поділу.

По-перше, це стимуляція клітинної проліферації при взаємодії естрадіолу з естрогеновими рецепторами. В разі естроген-залежної проліферації події розвиваються наступним чином. Естроген потрапляє в клітину і активує естрогеновий рецептор (ER), який знаходиться в цитоплазмі клітини в неактивному стані. Взаємодія гормону з рецептором активує останній і сприяє його проникненню в ядро. Потрапивши в ядро, цей комплекс стимулює експресію так званих естроген-залежних генів. До них, насамперед, відносяться рецептор до епідермального фактору росту (EGF-R), фактор росту кератиноцитів (KGF), циклін-залежні кінази (CDK), фактор росту ендотелію судин (VEGF), інсуліно-подібний фактор росту (IGF) і безліч інших білків. Всі ці білки підвищують чутливість клітин молочної залози до факторів, що індукують гіперпластичні процеси.

Можлива також стимуляція клітинної проліферації ростовими факторами. Шлях, через який відбувається активація клітинного поділу в тканині молочної залози - це сигнальні каскади, стимульовані ростовими факторами. Для пухлин молочної залози це, найчастіше, епідермальний

фактор росту (EGF), який також здатний активувати ядерний фактор транскрипції NF- κ B і через нього стимулювати клітинний розподіл.

Нарешті, значну роль відіграє цитокіновий шлях регуляції, пов'язаний з фактором некрозу пухлини (TNF- α). TNF- α стимулює експресію циклооксигенази-2 (COX-2) - основного ферменту у біосинтезі простагландинів (PGE2). Останні є активаторами ядерного фактору транскрипції NF- κ B, який включає експресію генів епідермального фактору росту (EGF), фактору росту ендотелію судин (VEGF), інсуліноподібного фактору росту (IGF). Всі ці білки стимулюють клітинний поділ.

Загалом, TNF α займає особливе місце серед цитокінів. Власно кажучи, це ціле сімейство цитокінів, які здійснюють свої функції через відповідне сімейство клітинних рецепторів. У це сімейство входять лімфотоксин α і β , Fas-ліганд, мембранні молекули CD40 і CD30, P-75 рецептор нейротрофіну, TNF α -пов'язаний апоптоз-індукуючий ліганд (TRAIL) та ін. Продуцентами цієї групи цитокінів є активовані мононуклеарні фагоцити, ендотеліальні клітини, антигенстимульовані Т-клітини (CD4 + і CD8 +), активовані НК-клітини. Біологічні властивості TNF α є надзвичайно різноманітними й залежать від переважання того або іншого цитокіну з його сімейства. Основними ефектами є стимулювання продукції ІЛ-1, ІЛ-6 і самого TNF α , стимуляція процесів адгезії, антитілоутворення В-клітинами, індукція колонієутворюючих факторів ендотеліальними клітинами і фібробластами, костимуляція Т-клітинної активації і ЕК-клітин. Члени сімейства Fas-лігандів TRAIL індукують апоптоз, а лімфотоксини α і β відіграють важливу роль у розвитку лімфоїдних органів.

Мутації в гені TNF передаються у спадок, як і схильність до солідних пухлин, і є своєрідними маркерами можливості їх утворення. TNFB/A алель також пов'язаний з підвищеним рівнем продукту гена в циркулюючій крові, що є протипухлинним фактором.

Важливим є той факт, що поліморфізми генів TNFA і TNFB асоційовані з рівнем експресії стероїдних рецепторів на малігнізованих клітинах молочної залози. Присутність естрогенового і прогестеронового рецепторів корелює зі сприятливим прогнозом у хворих на РМЗ. Як з'ясувалося, секреція TNF α і TNF β опосередковується алельним станом їх генів. Поліморфізм у позиції 308 в промоторній області TNFA модифікує генну експресію. Поліморфізм гена TNFB у позиції 252 першого інтрона збільшує рівень секреції його продукту. Таким чином, можна сказати, що існує асоціація між поліморфізмом генів TNFA та TNFB і експресією стероїдних рецепторів у хворих на РМЗ. Цей факт визначає важлива взаємодія ендокринної та імунної системи. Дійсно, генетична можливість продукувати більш високий рівень TNF α імунними клітинами і адипоцитами може регулювати рівень експресії прогестеронового рецептора пухлинними клітинами і, таким чином, впливати на пухлинну прогресію.

Таким чином, патогенетичні механізми розвитку пухлин молочної залози можна вважати тісно пов'язаними із функціональними поліморфізмами генів VEGF та TNF. Очевидно, що, блокуючи основні канали надходження сигналів, стимулюючих проліферацію, ми можемо розраховувати на успіх у профілактиці та лікуванні цієї патології, тобто фармакологічна корекція повинна здійснюватися на всіх етапах і по відношенню до всіх сигнальних каскадів, які запускають механізми патологічної клітинної проліферації.

При дослідженні відмінностей генотипів за частотою зустрічальності функціональних поліморфізмів у обстежених жінок нами встановлено наступне. Серед жінок з морфологічно підтвердженим ДНМЗ частота мутантного гомозиготного варіанту AA гена TNF α склала 1,8%, частота мутантного гомозиготного варіанту GG гена VEGF - 0%. Відповідно серед жінок, які були оперовані з приводу РМЗ, частота мутантного гомозиготного

варіанту AA гена TNF α склала 2,7%, частота мутантного гомозиготного варіанту GG гена VEGF – 27,0% (табл. 4.1).

Натомість, серед здорових жінок частота мутантного гомозиготного варіанту AA гена TNF α склала 2,0%, частота мутантного гомозиготного варіанту GG гена VEGF - 0% ($p>0,05$). В усіх клінічних групах переважали wild-алелі.

Таблиця 4.1

Частота функціональних поліморфізмів генів VEGF та TNF α у обстежених жінок

Гени Алелі		Жінки з РМЗ* (n = 37)		Жінки з ДНМЗ** (n = 56)		Здорові жінки (n = 50)	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
VEGF (C634G)	CC	22	59,5	52	92,9	47	94,0
	CG	5	13,5	4	7,1	3	6,0
	GG	10	27,0	0	0	0	0
TNF α (G308A)	GG	20	54,0	28	50,0	47	94,0
	AG	16	43,3	27	48,2	2	4,0
	AA	1	2,7	1	1,8	1	2,0

*РМЗ – рак молочної залози;

**ДНМЗ – доброякісні новоутворення молочної залози.

При статистичній обробці матеріалу, який одержано при обстеженні групи населення за цікавою досліджуваною ознакою, основою для з'ясування генетичної структури популяції є закон генетичної рівноваги Харді - Вайнберга. Він відображає закономірність, відповідно до якої за певних умов співвідношення алелів генів і генотипів в генофонді популяції зберігається

незмінним у низці поколінь цієї популяції. На підставі цього закону, маючи дані про частоту народження в популяції рецесивного фенотипу, що володіє гомозиготним генотипом (aa), можна розрахувати частоту народження зазначеного алеля (a) в генофонді даного покоління.

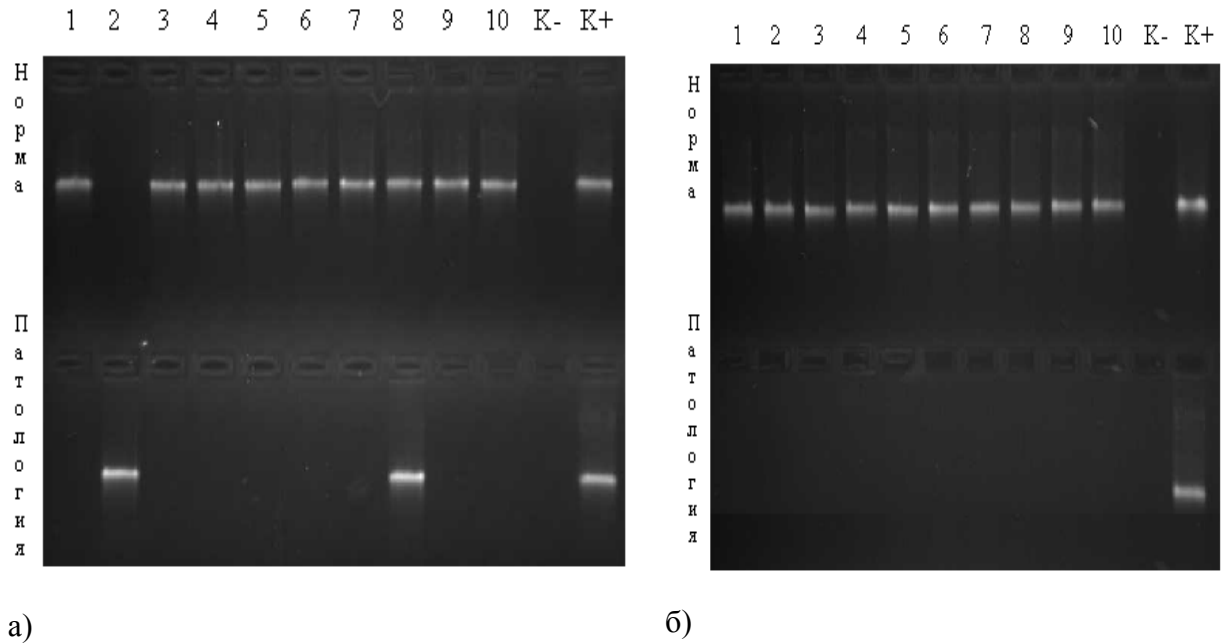
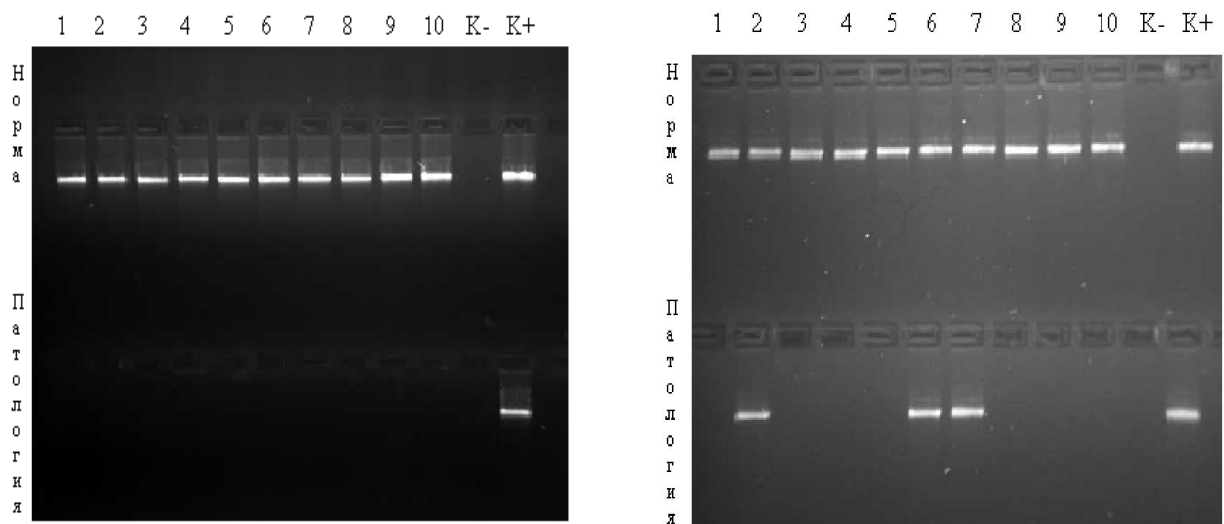


Рис. 4.2 Електрофорез продуктів ампліфікації з направленими праймерами в агарозному гелі VEGF (K- негативний контроль, K+ позитивний контроль): 1, 3-7, 9,10 - гомозиготний носій нормального гену, 8 - гетерозиготна форма поліморфізму, 2 - гомозиготний носій мутації гену (а); 1 – 10 - гомозиготний носій нормального гену (б).

Поширивши ці відомості на найближчі покоління, можна передбачити частоту появи в них людей з рецесивною ознакою, а також гетерозиготних носіїв рецесивного алеля. Той факт, що популяція хворих на РМЗ є нерівноважною, свідчить про накопичення патологічно обтяженого алелю гена VEGF протягом декількох поколінь (рис. 4.2 та рис. 4.3).

Відповідно до закону Харді-Вайнберга при відносно постійних умовах частота алелів в популяції залишається незмінною з покоління в покоління. В цих умовах популяція знаходиться в стані генетичної рівноваги, в ній не відбуваються еволюційні зміни. Проте в природі немає ідеальних умов. Під впливом факторів еволюції (мутаційний процес, ізоляція, природний відбір та інше) генетична рівновага в популяції постійно порушується, відбувається елементарне еволюційне явище - зміна генофонду популяції. Втім, накопичення патологічно обтяжених алелів, особливо при гомозиготному стані, може бути критичним для існування такої популяції.



а)

б)

Рис. 4.3 Електрофорез продуктів ампліфікації з направленими праймерами в агарозному гелі **TNF** (К- негативний контроль, К+ позитивний контроль):

1–10 - гомозиготний носій нормального гену (а);

1, 3-5, 8-10 - гомозиготний носій нормального гену, 2,6,7 - гетерозиготна форма поліморфізму (б).

При оцінці відповідності розподілу частот різних генотипів (табл. 4.1), що були визначені внаслідок дослідження ДНК, виділеного з крові та тканини пухлини молочної залози, було встановлено, що у групі жінок з РМЗ поширення гомозиготних та гетерозиготних генотипів не відповідає рівнянню Харді-Вайнберга ($\chi^2=26,89$ $p<0,001$), тоді як у групі жінок з ДНМЗ та контрольній групі вони знаходяться у відповідності до даного рівняння ($\chi^2=0,08$ та $\chi^2=0,05$, відповідно).

Відповідно до результатів наших досліджень наявність гетерозиготного носія мутації CG поліморфізму C634G гена VEGF збільшує ймовірність виникнення РМЗ в 9,3 рази (ВШ = 9,26; ДІ 95%: 3,78; 22,67). При наявності гомозиготного носія мутації GG поліморфізму C634G даного гена ризик виникнення РМЗ збільшується майже в 38,6 рази (ВШ = 38,56; ДІ 95%: 0,69; 2615,11). Ризик виникнення патологічного стану розраховували за допомогою відношень шансів (ВШ) та довірчого інтервалу (ДІ) 95%. У випадку з гетерозиготними носіями мутації гена VEGF мінімальне значення ДІ 95% було більшим за 1, тобто ризик реалізується і вважається доведеним навіть при невеликій виборці хворих. У випадку з гомозиготними носіями даного гена мінімальне значення ДІ 95% було меншим за 1, але максимальне значення було більшим за 2000, що не можна ігнорувати (оцінка розмаху ДІ 95%).

Зв'язку між збільшенням ймовірності виникнення РМЗ та наявністю гетерозиготного AG чи гомозиготного AA носіїв мутацій поліморфізму G308A гена TNF α нами виявлено не було.

Дані проведених нами досліджень свідчать про те, що зазначений молекулярно-генетичний метод дослідження доцільно застосовувати для діагностичних потреб. Виявлення патологічно обтяжених алелів поліморфізму C634G гена VEGF є прогностично несприятливим чинником як при гомозиготному генотипі, так і при гетерозиготному, що дозволяє застосовувати молекулярно-генетичні технології на етапах планування

лікування хворих з ДНМЗ і динамічного спостереження за групою ризику щодо виникнення РМЗ.

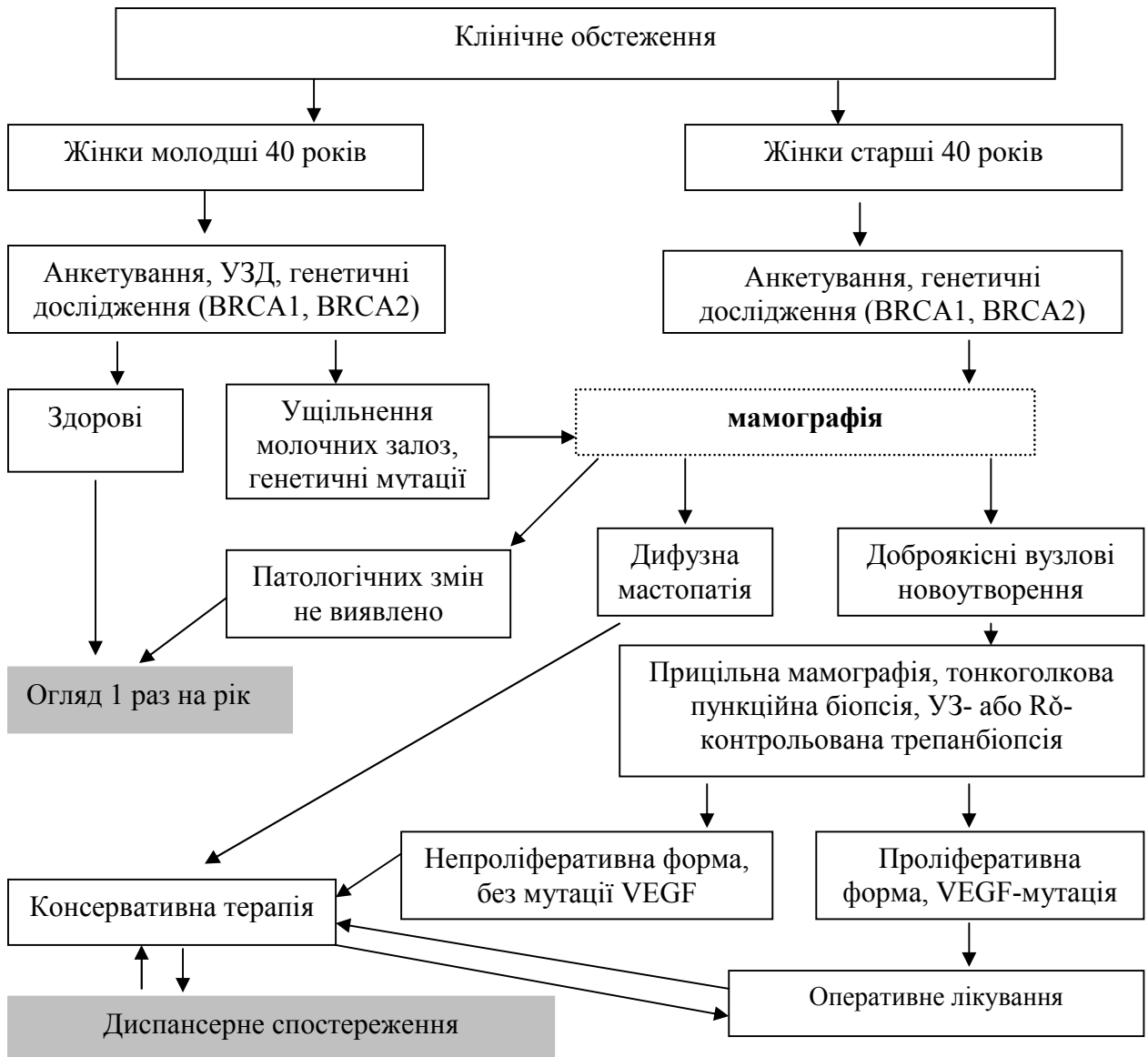


Рис. 4.4 Алгоритм діагностики доброякісних новоутворень молочної залози.

За результатами наших досліджень алгоритм комплексної діагностики доброякісних новоутворень молочної залози повинен включати оцінку

поліморфізму С634G гена VEGF. При відсутності мутації гена VEGF та непроліферативній формі локального фіброаденоматозу чи іншого ДНМЗ прийнятним є консервативне лікування хворої з обов'язковим контрольним обстеженням та оцінкою клінічного перебігу захворювання через 2 - 3 місяці.

В той же час, виявлення гетерозиготного CG або гомозиготного GG носіїв мутацій поліморфізму С634G гена VEGF є додатковим критерієм, що визначає необхідність проведення оперативного лікування хворих з ДНМЗ, так як у даних пацієток підвищується ризик щодо розвитку РМЗ (рис. 4.4).

Представлені у розділі результати досліджень були опубліковані у наступних фахових виданнях:

1. Заволока О.В. Роль маркерів ангиогенезу у діагностиці доброякісних пухлин молочної залози. / О.В. Заволока // Збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції «Способи захисту та збереження здоров'я людини в сучасних умовах» Одеса, 2012. – С. 40-41
2. Заволока О.В. Генетичні маркери ангиогенезу і проліферації в прогнозуванні ризику розвитку раку молочної залози. / О.В. Заволока, О.В. Лук'янчук, С.О. Заволока // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2013. – сп. Випуск – С. 4-6
3. Четвериков С.Г. Функциональные полиморфизмы гена VEGF у женщин с доброкачественными заболеваниями молочных желез. / С.Г. Четвериков, А.В. Заволока, О.Н. Морозюк // Материалы международной заочной научно-практической конференции «Вопросы современной медицины». Новосибирск, 2013. – С. 103-106
4. Дубініна В.Г. Оптимізація діагностики вузлових новоутворень молочних залоз. / В.Г. Дубініна, О.В. Заволока, О.М. Морозюк // Збірник наукових праць Асоціації акушерів-гінекологів України. – К.: «Поліграф плюс», 2013. – С. 135 – 138

5. Пат. №82002 Україна МПК (2013.01): А61В10/00. Спосіб диференційної діагностики доброякісних вузлових новоутворень молочної залози та прогнозування раку молочної залози. / Дубініна В.Г., Четверіков С.Г., Заволока О.В., Лук'янчук О.В., Морозюк О.М.; заявник та патентовласник Одес. націон. мед. універс. - № у2013_04523; заявл. 11.04.2013; опубл. 10.07.2013, Бюл. №13.

6. Дубініна В.Г. Застосування генетичного скринінгу в діагностичному алгоритмі у хворих з пухлинами молочної залози. / В.Г. Дубініна, О.В. Заволока, С.Г. Четверіков, О.В. Лук'янчук, О.М. Морозюк // Матеріали науково-практичної конференції «Найновіші методи діагностики, профілактики та лікування онкологічних захворювань». – Харків, 2013. – С.

РОЗДІЛ 5

ЗАКЛЮЧЕННЯ. ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

В дисертаційній роботі проведено дослідження 592 хірургічних хворих з ДНМЗ, яким було проведено оперативне лікування. Більшості з досліджуваних пацієнток виконували секторальну резекцію молочної залози, в одному випадку у зв'язку з гігантською листоподібною фіброаденомою була виконана проста мастектомія. У 536 з усіх хворих проведено ретроспективне дослідження наявності факторів ризику розвитку даної патології, 56 хворих було включено до проспективного дослідження ризику розвитку РМЗ з використанням молекулярно-генетичного методу.

Супутня гінекологічна патологія у жінок з ДНМЗ на ретроспективному етапі відзначалася в 55,4% випадків, в тому числі в 22,9% – хронічні запальні захворювання геніталій, 17,7% - міома матки, 10,1% – ендометріоз, 4,7% – полікістоз яєчників. На проспективному етапі дослідження гінекологічні захворювання було виявлено у 46,0% жінок основної групи з ДНМЗ та у 28,0% жінок з РМЗ.

За даними наших досліджень, доцільне формування груп ризику щодо виникнення ДНМЗ та РМЗ у жінок з гінекологічними захворюваннями, насамперед із запальними захворюваннями геніталій, генітальним ендометріозом, полікістозом яєчників та міомою матки. Наявність даної гінекологічної патології, збільшуючи ймовірність розвитку диспластичних процесів в молочній залозі майже у 1,5 рази, обумовлює значну кількість випадків ДНМЗ (ВР = 0,85; ДІ 0,56; 1,14).

Розвиток РМЗ обумовлений комплексним впливом екзогенних (медико-демографічні - загальна народжуваність, природний приріст, число розлучень; соціально-гігієнічні - особливості харчування, соціально-економічний статус, сімейний стан; міграційна рухливість, спосіб життя - шкідливі звички, наявність професійної шкідливості) і ендогенних (вік,

національність, наявність РМЗ у кровних родичів, репродуктивний анамнез, особливості статевого життя, наявність супутніх захворювань) чинників.

Проспективний етап дослідження було виконано на базі Центру реконструктивної та відновної медицини (Університетська клініка) ОНМедУ на протязі 2010 – 2012 років. Всього у проспективному етапі дослідження приймало участь 143 жінки, серед яких 37 – з морфологічно підтвердженим РМЗ (І група), 56 – з ДНМЗ (ІІ група) та 50 – здорових жінок (ІІІ група - контрольна). За результатами проведеного обстеження з'ясувалося, що середній вік жінок склав $38,4 \pm 1,2$ років, статистично значущих відмінностей між клінічними групами за віком та анамнестичними особливостями (професійна належність, місце проживання) виявлено не було.

Жінки, які прийняли участь у дослідженні, проходили обстеження згідно з наказами МОЗ України від 03.11.2008р. №624 та від 30.07.2010р. №645. Додатково у жінок проводилося визначення поліморфізмів С634G гена VEGF та G308A гена TNF α , оцінка кореляції наявності мутацій із захворюваннями молочної залози. Матеріалом для генетично-молекулярного обстеження у жінок І та ІІ групи були цільна венозна кров та тканина новоутворення молочної залози, у здорових жінок (контрольна група) – цільна венозна кров.

У жінок з ДНМЗ, яким проводилося дослідження, найчастіше встановлювали діагноз локальний фіброаденоматоз (23 випадки або 41,1%) та полікістоз молочної залози (17 випадків або 30,4%). Хвороба Мінца у даних жінок зустрічалася в 13 випадках (23,2%). Також в поодиноких випадках реєструвалися гамартома, гігантська листовидна фіброаденома, запальна киста молочної залози.

Жінкам І та ІІ групи проводилася диференційна діагностика виявленої патології: прицільна мамографія, дуктографія, локалізація непальпованих пухлин спеціальними рентгенопозитивним гарпунами, УЗД органів

черевної порожнини та малого тазу, тонкогілкова пункційна аспіраційна біопсія, трепанбіопсія пухлини молочної залози з проведенням гістологічного та генетичного дослідження, визначення гормонального статусу жінки і наявності мутацій генів BRCA1 та BRCA2, консультація гінеколога-ендокринолога, онкохірурга.

За показаннями хворим з ДНМЗ проводилося оперативне втручання в обсязі секторальної резекції молочної залози з інтраопераційним гістологічним дослідженням видаленого препарату, хворим на РМЗ проводилося радикальне оперативне втручання у складі комплексного лікування згідно із затвердженими МОЗ України стандартами.

Проводячи оцінку відповідності розподілу частот різних генотипів, що визначалися в наших дослідженнях, було встановлено, що в групі жінок з РМЗ поширення гомозиготних і гетерозиготних генотипів не відповідає рівнянню Харді-Вайнберга ($\chi^2 = 26,89$ $p < 0,001$). Водночас, в групі жінок з доброякісними новоутвореннями молочної залози і контрольній групі вони знаходяться у відповідності з даними рівнянням (відповідно $\chi^2 = 0,08$ та $\chi^2 = 0,05$).

У жінок з доброякісними новоутвореннями молочної залози частота мутантного гомозиготного варіанту AA гена TNF α склала 1,8%. Випадків виявлення мутантного гомозиготного варіанту GG гена VEGF у цих жінок не було. Серед здорових жінок частота мутантного гомозиготного варіанту AA гена TNF α склала 2,0%, частота мутантного гомозиготного варіанту GG гена VEGF - 0% ($p > 0,05$).

У жінок, які страждали на РМЗ, частота мутантного гомозиготного варіанту AA гена TNF α склала 2,7%, частота мутантного гомозиготного варіанту GG гена VEGF – 27,0%. Незважаючи на дані відмінності, в усіх клінічних групах переважали нормальні (wild) алелі (рис. 5.1).

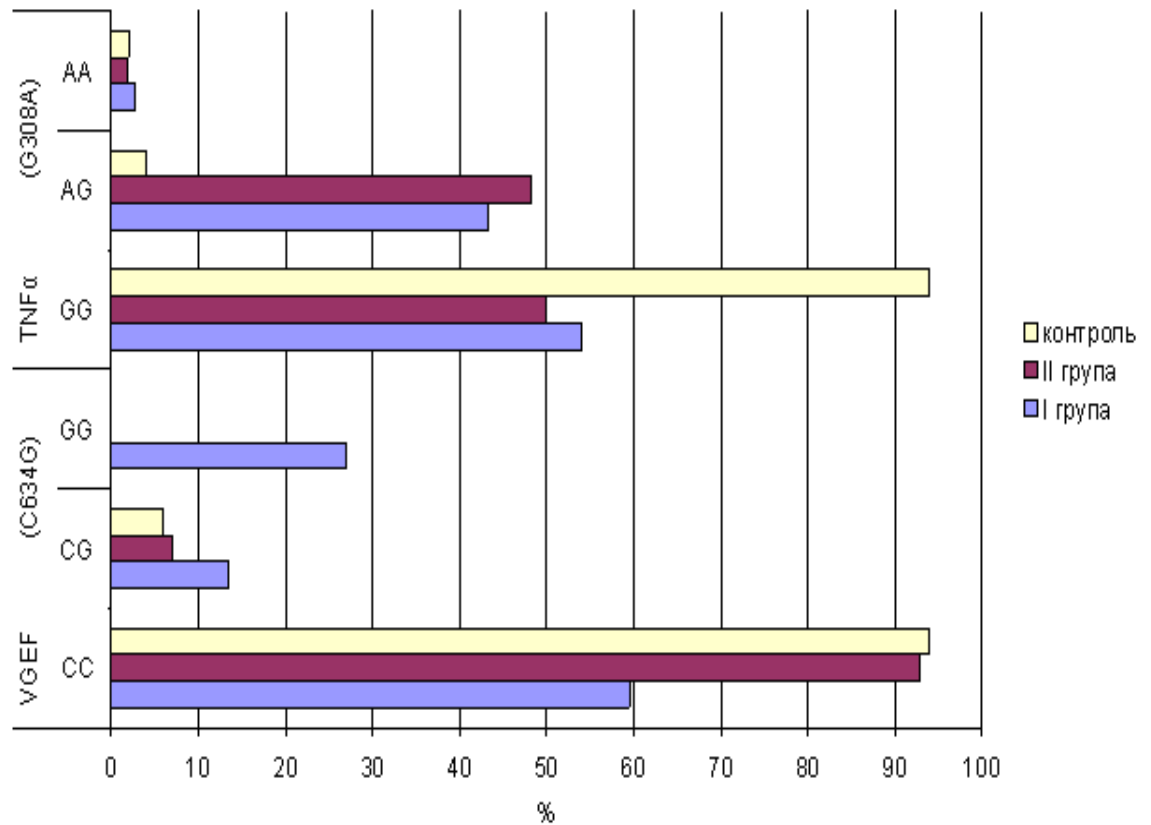


Рис. 5.2 Частота функціональних поліморфізмів генів VEGF та TNFα у обстежених жінок.

Згідно з результатами наших досліджень встановлення гетерозиготного носія мутації CG поліморфізму C634G гена VEGF збільшує ймовірність виникнення РМЗ в 9,3 рази (ВШ = 9,26; ДІ 95%: 3,78; 22,67). Наявність гомозиготного носія мутації GG поліморфізму C634G гена VEGF збільшує ризик виникнення РМЗ майже в 38,6 рази (ВШ = 38,56; ДІ 95%: 0,69; 2615,11). У випадку з гетерозиготними носіями мутації гена VEGF мінімальне значення ДІ 95% було більшим за 1, тобто ризик виникнення патологічного стану реалізується і вважається доведеним навіть при невеликій виборці хворих. У випадку з гомозиготними носіями даного гена мінімальне значення ДІ 95% було меншим за 1, але максимальне значення було більшим за 2000, що не можна ігнорувати (оцінка розмаху ДІ 95%).

В проведеному дослідженні нами не було виявлено зв'язку між наявністю гетерозиготного AG чи гомозиготного AA носіїв мутацій поліморфізму G308A гена TNF α і збільшенням ймовірності виникнення РМЗ.

Таким чином, в залежності від результатів на тому чи іншому етапі дослідження, найбільш інформативним підходом до діагностики захворювань молочних залоз у жінок є наступний. Всім дорослим жінкам наряду з анкетуванням та визначенням спадкової схильності до РМЗ проводиться клінічне обстеження (збирання анамнезу, огляд та пальпація молочних залоз, гінекологічний огляд) з додатковим УЗД молочних залоз жінкам віком молодше 40 років чи оглядовою мамографією у прямій та косій проекціях жінкам віком старше 40 років. При виявленні патологічних змін в молочній залозі подальша тактика визначається виявленою формою захворювання.

При кистозній формі мастопатії та солітарних кистах є доцільним проведення аспірації вмісту кист під ультразвуковим контролем з наступним цитологічним дослідженням аспірату. При наявності ознак проліферації та клітинної атипії, а також при наявності пристінкового компоненту кистозних утворень проводиться хірургічне втручання в обсязі секторальної резекції молочної залози.

У випадку виявлення солідних вузлових новоутворень та мікрокальцинатів виконують трепанбіопсію тканини молочної залози під ультразвуковим чи рентгенологічним контролем з наступним гістологічним та генетичним дослідженням отриманого матеріалу. На сьогодні остаточно не визначені універсальні фактори, за наявності яких слід обов'язково виконувати оперативне лікування хворих на ДНМЗ. Враховуючи той факт, що післяопераційний рубець молочної залози також може нести певну загрозу щодо підвищення ризику виникнення РМЗ, дане питання

вирішується індивідуально з урахуванням багатьох анамнестичних та клініко-морфологічних ознак, а також досвіду лікаря.

За результатами наших досліджень алгоритм комплексної діагностики доброякісних новоутворень молочної залози повинен включати оцінку поліморфізмів гена VEGF. При відсутності мутації гена VEGF та непроліферативній формі локального фіброаденоматозу прийнятним є консервативне лікування хворої з обов'язковим контрольним обстеженням та оцінкою клінічного перебігу захворювання через 2 - 3 місяці. В той же час, виявлення гетерозиготного CG і гомозиготного GG носіїв мутацій поліморфізму C634G гена VEGF є додатковим критерієм, який визначає необхідність проведення оперативного лікування хворих на ДНМЗ, тому що у даних пацієнток підвищується ризик щодо виникнення РМЗ (рис. 4.4).

В обох випадках хворі на ДНМЗ після проведення лікування повинні знаходитися на диспансерному спостереженні і виконувати планове обстеження та консервативне лікування з метою попередження виникнення захворювань молочної залози у майбутньому.

Нами проведено ретроспективний аналіз звітної медичної документації (форма №12, форма №35-здоров) за 2008 – 2010 рр. із визначенням епідеміології доброякісної патології та РМЗ у жінок м. Одеси та її динаміки в 2011 – 2012 рр. після впровадження удосконаленого алгоритму діагностики захворювань молочної залози.

Встановлено, що захворюваність на РМЗ в м. Одесі та в Одеській області перевищує загальноукраїнський рівень. Так, за даними національного канцер-реєстру в 2010 р. грубий показник захворюваності на РМЗ в Україні склав 64,8 випадків на 100 тис. жіночого населення, то в Одеській області цей показник був 76,8 випадків, а в м. Одесі він сягав 87,6 випадків на 100 тис. жіночого населення. Одночасно, в 2010 році частота виявлення ДНМЗ становила 123,5 на 100 тис. жіночого населення, що майже в 1,4 рази нижче,

ніж у більшості інших регіонів України, не зважаючи на тісну кореляцію показників виявлення захворюваності на ДДМЗ, ДНМЗ та РМЗ. Виявлені відхилення зазначених показників вказували на недосконалість системи надання медичної допомоги мамологічним хворим.

З метою удосконалення роботи щодо раннього виявлення і профілактики захворювань молочної залози, покращення якості і доступності надання медичної допомоги жіночому населенню в м. Одесі було розроблено комплекс заходів, який містив створення інфраструктури, спрямованої на зниження захворюваності та смертності від РМЗ. Ключовою складовою даного комплексу було створення триступеневої схеми надання медичної допомоги мамологічним хворим. Наказами управління охорони здоров'я Одеської міської ради за участю дисертанта, як головного позаштатного мамолога, було створено міський мамологічний кабінет, затверджено маршрут пацієнтів, послідовність та обсяг надання медичної допомоги пацієнтам на різних рівнях, визначено категорії населення, які підлягають направленню на консультацію до міського мамологічного кабінету, форми звітності щодо виявленої патології молочної залози.

Прийняття даного управлінського рішення сприяло вирішенню наступних завдань:

1. Масову діагностичну роботу та поглиблене обстеження захворювань молочних залоз проводити на рівні фахівців-мамологів амбулаторно-поліклінічних відділень загальнолікувальної мережі. До спеціалізованих лікувальних закладів 3-го рівня повинні потрапляти лише хворі з вузловими новоутвореннями молочних залоз для проведення диференційної діагностики та лікування.

2. Усунути «фактор страху» перед онкологічним закладом та лікарем-онкологом на етапі первинного контакту пацієнтки і лікаря, що запобігає відтермінованості візиту жінки до фахівця.

Триступенева схема надання медичної допомоги мамологічним хворим передбачає системну роботу та злагодженість дій первинного рівня медичної допомоги (сімейні лікарі, гінекологи жіночих консультацій), міського мамологічного кабінету та спеціалізованої стаціонарної допомоги (третій рівень надання медичної допомоги). На першому рівні завданням лікаря було проведення профілактичних заходів (в тому числі направлення на мамографію з метою скринінгу), своєчасність виявлення патології та направлення хворих на додаткове обстеження. На третьому рівні основним завданням було проведення лікування ДНМЗ та РМЗ згідно із затвердженими МОЗ України стандартами.

Масове обстеження пацієнток та диференційну діагностику ДДМЗ і ДНМЗ проводили лікарі-мамологи міського мамологічного кабінету, що дозволило максимально ефективно використовувати дороговартісне діагностичне та лабораторне обладнання без зайвого обтяження стаціонарних потужностей.

За даними офіційної звітної статистики після впровадження в м. Одесі триступеневої схеми надання медичної допомоги мамологічним хворим в 2011 році на 12,8% підвищилася кількість виявлених хворих з ДДМЗ зі стабілізацією даного показника в 2012 році, а кількість виявлених хворих з ДНМЗ підвищилася на 12% в 2012 році. Одночасно зріс показник виявлення РМЗ в ранніх стадіях та на профілактичних оглядах (табл. 3.4, рис. 3.15). Так, якщо у 2010 році на 1 та 2 стадію раку припадало 84,7% виявлених випадків, то у 2012 – вже 88,0%. Відповідно, частка захворювань, виявлених при профілактичних оглядах, зросла з 56,7% до 63,9%.

Враховуючи результати проведеної організаційної та лікувально-профілактичної роботи, запропонований обсяг заходів виявився ефективним щодо оптимізації програми скринінгу, спрямованого на покращення якості та доступності надання медичної допомоги мамологічним хворим, своєчасне виявлення хворих на передпухлинні захворювання та РМЗ. Результати

проведених нами досліджень дозволяють рекомендувати впровадження в практику відкриття мамологічних кабінетів в консультативно-діагностичних центрах та амбулаторних відділеннях лікувально-профілактичних закладів загальнолікувальної мережі у кількості, яка обумовлена епідеміологічною ситуацією щодо РМЗ в регіоні.

З результатів наших досліджень випливають наступні **практичні рекомендації**:

1. Треступенева схема надання медичної допомоги мамологічним хворим у вигляді системної роботи та злагоджених дій первинного рівня медичної допомоги (сімейні лікарі, гінекологи жіночих консультацій), мамологічного кабінету консультативно-діагностичного відділення та спеціалізованої стаціонарної допомоги мамологічним хворим (третій рівень надання медичної допомоги) довела високу ефективність щодо покращення діагностики ДНМЗ, профілактики та раннього виявлення хворих на РМЗ.

2. На першому рівні надання медичної допомоги завданням лікаря є проведення профілактичних заходів (в тому числі направлення на мамографію з метою скринінгу, формування груп ризику щодо виникнення ДНМЗ та РМЗ у жінок з гінекологічними захворюваннями), своєчасне виявлення патології та направлення хворих на додаткове обстеження. В лікувальних закладах третього рівня основним завданням є проведення лікування вузлових передпухлинних захворювань та РМЗ згідно з існуючими стандартами та урахуванням індивідуальних особливостей хворих.

3. Завдання проведення масового обстеження та диференційної діагностики доброякісних захворювань молочної залози необхідно покласти на консультативно-діагностичні центри та амбулаторні відділення лікувально-профілактичних закладів загальнолікувальної мережі з організацією мамологічних кабінетів, що дозволить максимально ефективно використовувати дороговартісне діагностичне та лабораторне обладнання без зайвого обтяження стаціонарних потужностей.

4. В якості додаткових критеріїв ризику розвитку РМЗ на етапі скринінгу доцільно використовувати молекулярно-генетичні маркери. Наявність гетерозиготного CG і гомозиготного GG носіїв мутацій поліморфізму C634G гена VEGF підвищує ризик щодо виникнення РМЗ у даних пацієток та є додатковим критерієм, що визначає необхідність проведення оперативного лікування хворих на ДНМЗ.

Дискусійними є питання використання в диференційній діагностиці визначення мутації інших генів, крім VEGF, що входять до складу генетичної мережі при РМЗ. Доцільне проведення подальших досліджень ролі генетичної детермінації утворення пухлин з визначенням експресії генів ангиогенезу і проліферації в біологічних зразках тканини молочної залози.

Результати, що представлені в розділі, були опубліковані в наступних роботах:

1. Дубініна В.Г. Оптимізація алгоритму діагностики доброякісних новоутворень молочної залози / В.Г. Дубініна, С.Г. Четверіков, О.В. Заволока, О.В. Лук'янчук, О.М. Морозюк // Хірургія України. - 2013. - №4, Т.48 - С. 89-92
2. Zavoloka A. Benignant breast tumors diagnosis: recent advances. / A. Zavoloka // Journal of Health Sciences. – 2013. - №3, Vol.10. – P. 665–674
3. Дубинина В.Г. Современные алгоритмы диагностики доброкачественных новообразований грудной железы: роль молекулярно-генетических методов / В.Г. Дубинина, С.Г. Четвериков, А.В. Заволока, О.Н. Морозюк // Клиническая хирургия. - 2014. - №1, С. 38-40

ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі отримано нове рішення актуального наукового завдання з оптимізації діагностичного алгоритму в системі клінічного моніторингу у жінок з пухлинами молочної залози, що дозволило дійти наступних висновків.

1. Наявність гінекологічних захворювань та обтяжений гінекологічний анамнез збільшує ризик виникнення доброякісних новоутворень молочної залози у 1,5 рази. Найчастіше у пацієток з доброякісними новоутвореннями молочної залози реєструються хронічні запальні захворювання геніталій, ендометріоз, полікістоз яєчників та міома матки.
2. За даними наших досліджень, поширеність носіїв мутації генів системи VEGF та TNF α у пацієток з доброякісними новоутвореннями молочної залози наступна: гетерозиготні носії мутації CG поліморфізму C634G гена VEGF – 7,1%; гомозиготні носії цієї мутації – 0%; гетерозиготні носії мутації AG поліморфізму G308A гена TNF α – 48,2%, гомозиготні носії цієї мутації – 1,8%.
3. Наявність гетерозиготного носія мутації CG поліморфізму C634G гена VEGF збільшує ймовірність виникнення раку молочної залози в 9,3 рази (ВШ = 9,26; ДІ 95%: 3,78; 22,67). При наявності гомозиготного носія мутації GG поліморфізму C634G гена VEGF ризик виникнення раку молочної залози збільшується майже в 38,6 рази (ВШ = 38,56; ДІ 95%: 0,69; 2615,11). Тому наявність гетерозиготного CG і гомозиготного GG носіїв мутацій поліморфізму C634G гена VEGF є додатковим критерієм, який визначає необхідність проведення оперативного лікування хворих на доброякісні новоутворення

молочної залози. Зв'язку між збільшенням ймовірності виникнення раку молочної залози та наявністю гетерозиготного AG чи гомозиготного AA носіїв мутацій поліморфізму G308A гена TNF α нами виявлено не було.

4. Алгоритм комплексної діагностики доброякісних новоутворень молочної залози повинен включати оцінку поліморфізму C634G гена VEGF. Виявлення патологічно обтяжених алелів гена VEGF є прогностично несприятливим чинником як при гомозиготному, так і при гетерозиготному генотипі, що дозволяє застосовувати молекулярно-генетичні технології на етапах планування лікування хворих з доброякісними новоутвореннями молочної залози і динамічного спостереження за групою ризику щодо виникнення раку молочної залози.
5. Впровадження удосконаленого алгоритму клінічного моніторингу захворювань молочної залози з використанням триступеневої схеми надання медичної допомоги мамологічним хворим довело високу ефективність щодо покращення діагностики доброякісних новоутворень молочної залози, профілактики та раннього виявлення хворих на рак молочної залози. За 2011 - 2012 роки на 12% підвищилася кількість виявлених хворих з доброякісними новоутвореннями молочної залози, збільшилися показники виявлення раку молочної залози на профілактичних оглядах – на 7,2%, на ранніх стадіях – на 3,3%, що дозволяє рекомендувати удосконалену систему моніторингу захворювань молочної залози до практичного використання.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Корженкова Г.П. Совершенствование диагностики рака молочной железы в условиях массового маммографического обследования женского населения: диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Г. П. Корженкова // М., 2013. - 159 с.
2. Летягин В. П. Эволюция хирургического лечения рака молочной железы / В. П. Летягин // Опух. жен. репродукт. сист. - 2012. - №1. – С. 32 - 36.
3. Лекарственная терапия рака молочной железы. Под ред. Переводчиковой Н.И., Стениной М.Б. – М.: Практика. – 2014. – 284 с.
4. Domchek S.M. Preventive surgery is associated with reduced cancer risk and mortality in women with BRCA1 and BRCA2 mutations. / S.M. Domchek, T.R. Rebbeck // LDI Issue Brief. - 2010 – Vol. 16(2) – P. 1- 4.
5. Возможности чрезкожных методов биопсии в верификации микрокальцинатов молочной железы на дооперационном этапе / Н. В. Понедельникова, Г. П. Корженкова, В. П. Летягин и др. // Опух. жен. репродукт. сист. - 2011. - №2. – С. 16 - 21.
6. Коновалова В.Н. Дискуссионные вопросы тактики ведения женщин с доброкачественными заболеваниями молочных желез / В. Н. Коновалова // Эффективная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии. – 2009. - №6. – С. 6 - 12.
7. Клиническая маммология (практическое руководство). Под ред. М.И. Давыдова и В.П. Летягина. М.: АБВ-пресс, 2010. – 110 с.
8. Молочная железа: рак и предраковые заболевания / Тарутинов В.И. и др. // К., «Книга плюс». – 2009. – 478 с.
9. Бондарева В.О. Диагностика та прогноз перебігу раку молочної залози: імуноморфологічні аспекти: дис. ... канд. мед. наук : 14.03.02 / Бондарева Валентина Олександрівна ; Дніпропетр. держ. мед. акад. - Д., 2011. - 156 арк.: рис., табл.

10. Супрун А.Є. Лапароскопічна оваріоектомія в комплексному лікуванні хворих з гормональним раком молочної залози: автореф. дис... канд. мед. наук: 14.01.01 / А.Є. Супрун ; Одес. держ. мед. ун-т. — О., 2009. — 19 с.
11. Поддубная И.В. Клиническая характеристика тройного негативного рака молочной железы / И.В. Поддубная, Д.А. Карселадзе // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. — 2010. — Т. 21. — № 1. — С. 71–76.
12. Войт Н.Ю. Возможности мамосцинтиграфии в первичной диагностике і оцінці ефективності протипухлинного лікування хворих на рак молочної залози: автореф. дис... канд. мед. наук: 14.01.23 / Н.Ю. Войт ; Нац. ін-т раку. — К., 2009. — 20 с.
13. Breast cancer / M. J. Mitchell ed. // Cambridge University Press. — 2010. Vol.112. — P. 304 - 317.
14. Злоякісні новоутворення молочної залози С 50. Канцер-реєстр України, 2011 рок, уточнена інформація. Електронний формат. Режим доступу: http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_14/PDF/15-mol.pdf
15. Диффузные доброкачественные заболевания молочной железы. Диагностика и лечение: руководство для врачей / [Рожкова Н.И. и др.]; под ред. В.А. Солодкого, Н.И. Рожковой. - М.: Спец. изд-во мед. кн., 2012. — 124 с., ил.
16. Bhargava R. Prognostic/Predictive immunohistochemistry assays for estrogen receptor-positive breast cancer: back to the future? / R. Bhargava, A. M. Brufsky, N.E. Davidson // J Clin Oncol. - 2012 – Vol. 30(36) – P. 4451-4453.
17. Национальное руководство по маммологии под ред. В.П. Харченко, Н.И. Рожковой // М., ГЭОТАР-Медиа. — 2009. — 328 с.
18. Современная классификация и особенности клинико-рентгено-сонопатоморфологических проявлений различных форм мастопатий / С.Б. Запирова, А.М. Берщанская, Н.Л.Чазова, Н.И. Рожкова // Опухоли женской репродуктивной системы. — 2009. - №1-2. - С. 10-15.
19. Захарова Н.А. Роль ультразвукового метода исследования молочных желез при реализации скрининга рака молочной железы / Н.А. Захарова, Е.В.

- Котляров, Д. Маккей // Вестник Тюменского государственного университета. - 2011. - № 6. - С. 134-139.
20. The adjunctive digital breast tomosynthesis in diagnosis of breast cancer. / TL Yang, HL Liang, CP Chou [et al.] // Biomed Res Int. – 2013 – Vol. 2013 – P. 597253
21. Lawton T. J. Breast (Cambridge Illustrated Surgical Pathology) / T. J. Lawton Cambridge University Press; 1 Har/Cdr ed. – 2009 – 256 p.
22. Исследование апоптоза при доброкачественных и злокачественных процессах молочной железы / В. К. Боженко, Е. А. Кудинова, Н. Л. Чазова и др. // Вестник Российской ассоциации радиологов. – 2009. - №1. - С. 140 - 147.
23. Ali S. Z. Breast Cytopathology (Essentials in Cytopathology) / Syed Z. Ali, Anil V. Parwani NY., Springer – 2010 – 400 p.
24. Болгова Л. С. Цитоморфологическая диагностика заболеваний грудной железы : учеб. пособие для врачей / Л. С. Болгова, Т. Н. Туганова, И. И. Смоленка. - К. : «Интерсервис», 2010. - 231 с.: рис., табл.
25. Цито-гистологические параллели опухолевых поражений молочной железы при срочных интраоперационных исследованиях: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.08 / Арутюнян Заруи Сергеевна; Нац. ин-т здравоохранения им. С. Х. Авдалбекяна. - Ереван, 2011. - 23 с.: рис., табл.
26. Ошибки в клинической онкологии /Под ред. В.И. Чиссова, А.Х. Трахтенберга. -ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 768 с.
27. Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины. / Под ред. В. С. Баранова. – 2009. - 528 с.
28. Молекулярна епідеміологія / В. М. Запорожан, Ю. І. Бажора, В. Й. Кресюн [та ін.]; за ред. В. М. Запорожана; Одес. держ. мед. ун-т. - О.: ОДМУ, 2010. - 314 с.
29. Анализ мутаций генов BRCA-1 и BRCA-2 у платинорефрактерных больных раком яичников / В. Г. Дубинина, А. И. Рыбин, О. В. Лукьянчук, О. В. Кузнецова // Вісник морської медицини. – 2013. - №.1 – С. 46-52

30. Ho D.N. Bibliometric analysis of theranostics: two years in the making / D.N. Ho, K.Y. Choi, S.J. Lee // *Theranostics*. – 2013. – Vol. 3(7) – P. 527 - 531.
31. Santhosh P.B. Multifunctional superparamagnetic iron oxide nanoparticles: Promising tools in cancer theranostics / P.B. Santhosh, N.P. Ulrich // *Cancer Lett.* – 2013. – Vol. 336(1) – P. 8-17.
32. Han G. Theranostic upconversion nanoparticles (II) / G. Han, G. Chen // *Theranostics*. - 2013 – Vol. 3(5) – P. 354-355
33. Рак молочной железы. Под ред. У.И. Чен, Э. Уордли; ред. серии А.Т. Скарин. М.: Рид Элсивер, 2009.
34. Современные молекулярно-генетические маркеры рака молочной железы / Н. В. Апанович, В. П. Шубин, А. А. Коротаева и др. // *Опух. жен. репродукт. сист.* - 2011. - №1. – С. 19 - 28.
35. A prospective investigation of predictive and modifiable risk factors for breast cancer in unaffected BRCA1 and BRCA2 gene carriers. / E.M. Guinan, J. Hussey, S.A. McGarrigle [et al.] // *BMC Cancer*. - 2013 – Vol. 13 – P. 138
36. Genetic predisposition directs breast cancer phenotype by dictating progenitor cell fate / T.A. Proia, P.J. Keller, B.P. Gupta et al. // *Cell Stem Cell*. - 2011. - № 8. – P. 149 - 163.
37. The Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours // *Nature*. – 2012. – Vol. 490. – P. 61 - 70.
38. Filippini S.E. Breast cancer genes: beyond BRCA1 and BRCA2 / S.E. Filippini, A. Vega // *Front Biosci.* - 2013 – Vol. 18 – P. 1358-1372.
39. Prophylactic mastectomy: an appraisal. / F. Zagouri, D.T. Chrysikos, T.N. Sergentanis [et al.] // *Am Surg*. - 2013 – Vol. 79(2) – P. 205-212
40. Любченко Л.Н. Наследственный рак молочной железы и/или яичников: ДНК-диагностика, индивидуальный прогноз, лечение и профилактика// Автореферат диссертации на соискание научной степени доктора медицинских наук, 2009, - 50 с.
41. Can the Gail model increase the predictive value of a positive mammogram in a European population screening setting? Results from a Spanish cohort / A. Buron, M. Vernet, M. Roman et al. // *Breast*. - 2013 – Vol. 22(1) – P. 83-88.

42. Recalibration of the Gail model for predicting invasive breast cancer risk in Spanish women: a population-based cohort study / R.Pastor-Barriuso, N.Ascunce, M.Ederra et al. // *Breast Cancer Res Treat.* - 2013 – Vol. 138(1) – P. 249-259
43. Breast cancer molecular profiling with single sample predictors: a retrospective analysis / B. Weigelt, A. Mackay, R. A'Hern et al. // *Lancet Oncol* - 2010. - №11. – P. 339 - 349.
44. Рак молочной железы и/или яичников в составе наследственного онкологического синдрома / Л.Н.Любченко, Н.И.Поспехова, А.А. Пароконная и др. // *Опух. жен. репродукт. сист.* – 2009. - №1-2. – С. 59 - 63.
45. Evaluating the performance of the breast cancer genetic risk models BOADICEA, IBIS, BRCAPRO and Claus for predicting BRCA1/2 mutation carrier probabilities: a study based on 7352 families from the German Hereditary Breast and Ovarian Cancer Consortium / C. Fischer, K. Kuchenbäcker, C. Engel et al. // *J Med Genet.* - 2013 – Vol. 50(6) – P. 360-367
46. Пак Д. Д. Рак молочной железы / Д. Д. Пак, Е. А. Рассказова М. В. Ермощенко. М., 2010.
47. Филатов А.В. Гистологическая и цитологическая диагностика степени злокачественности различных вариантов рака молочной железы / Дис... к.мед.н. 14.00.15 - Патологическая анатомия М., 2008 – 109 с.
48. Роль онкомаркеров в диагностике первично-множественных злокачественных новообразований органов женской репродуктивной системы / Ю. Г. Паяниди, В. М. Шелепова, Н.В. Чхиквадзе и др. // *Опух. жен. репродукт. сист.* – 2012. - №1. - С.92 - 96.
49. Breast cancer risk factors in a defined population: weighted logistic regression approach for rare events / N. Zare, E. Haem, K. Lankarani et al. // *J Breast Cancer.* - 2013 – Vol. 16(2) – P. 214-219.
50. Slomiany B.A. The surgical management of breast cancer / B.A. Slomiany A.B. Chagpar // *J Ky Med Assoc.* - 2009 – Vol. 107(10) – P. 391-395
51. Международная классификация болезней. Электронный ресурс. Режим доступа: <http://www.mkb10.ru/>

52. Коган И. Ю. Фиброзно-кистозные изменения молочных желез (мастопатия) и гормональная контрацепция / И. Ю. Коган // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2009. - №3. – С. 35 - 40.
53. Асриян Я. Б. Особенности состояния молочных желез при эндокринных формах бесплодия у женщин / Я.Б. Асриян, О.Е. Озерова // Проблемы репродукции. – 2009 – Т. 15, №1. – С. 100–103.
54. Мустафин Ч. К. Дисгормональные болезни молочной железы. Клиническое руководство / Ч. К. Мустафин, С. В. Кузнецова. Под ред. Пинхосевича Е.Г. М.: 2009. - 126 с.
55. Таиц И. П. Генетические и иммунологические аспекты доброкачественных дисплазий молочных желёз. Дис... к.мед.н. 14.00.01 акушерство и гинекология. – 2010 – 113 с.
56. Сметник В. П. Основные направления патогенетической терапии мастопатии / В. П. Сметник, Е. В. Меских, Н.И.Рожкова // Лечащий врач. – 2011. - №3.
57. Кулагина Н. В. Терапия фиброзно-кистозной болезни молочных желез у пациенток с миомой матки / Н. В. Кулагина // Опух. жен. репродукт. сист. - 2010. - №1. – С. 40 - 43.
58. Гинекология – национальное руководство. Под ред. В.И. Кулакова, Г.М. Савельевой, И.Б. Манухина. М.: Гэотар-Медиа, 2009.
59. Breast cancer risk in relation to the interval between menopause and starting hormone therapy / V. Beral, G. Reeves, D. Bull et al. // J Natl Cancer Inst – 2011. – Vol.103. – P. 296 - 305.
60. Возможные причины возникновения серозных выделений из сосков молочных желез / Г. Х. Ханафиев, С. А. Березин, У. Ю. Мальцева, А.Е.Мазур // Опух. жен. репродукт. сист. – 2012. - №1. – С. 17 – 19.
61. Мнихович М. В. Экстрацеллюлярный матрикс молочной железы и клеточных взаимодействий в молочной железе при введении половых гормонов / М.В. Мнихович / Морфология. - 2009. - Т. 136. № 4. - С. 100b.
62. Заболевания молочных желез. Практическое руководство. Под ред. Б.И. Долгушина. М.: МЕДпресс-информ, 2009.

63. Mutual exclusivity analysis identifies oncogenic network modules / G. Ciriello et al. // *Genome Res.* – 2012. – Vol.22. – P. 398 - 406.
64. A patient-centred instrument for assessment of quality of breast cancer care: results of a pilot questionnaire. / M. de Kok, H.J. Sixma, T. van der Weijden [et al.] // *Qual Saf Health Care.* - 2010 – Vol. 19(6) - e40
65. Hofstatter E.W. Breast cancer / E.W. Hofstatter, G.G. Chang, L.N. Harris // In: DeVita V.T., Lawrence T.S., Rosenberg S.A. (eds). *Cancer: Principles and Practice of Oncology: Primer of the Molecular Biology of Cancer.* – Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins and Wolters Kluwer. – 2011. – P. 307 - 318.
66. Сухарева Е.А. Анализ эффективности диспансерного наблюдения за пациентками с дисгормональной дисплазией молочной железы / Е. А. Сухарева, Л. А. Пономарева // *Опух. жен. репродукт. сист.* – 2011. - №2. – С. 10 - 15.
67. Curtis C. The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups / C. Curtis, C. Carlos // *Nature.* – 2012. – Vol. 486. – P. 346 - 352.
68. Современный высокотехнологичный метод скрининга дифференциального метилирования геномов на основе амплификации интерметилированных сайтов / В. В. Стрельников, А. С. Танас, В. В. Шкарупо [и др.] // *Молекулярная медицина.* - 2009. - № 4. - С. 18-27.
69. Bourbouli D. Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): Positive and negative regulators in tumor cell adhesion / D. Bourbouli, W. G. Stetler-Stevenson // *Semin Cancer Biol.* – 2010. - Vol. 20, No 3. - P. 161-168.
70. Becker S. Exogenous and endogenous hormones, mammographic density and breast cancer risk: can mammographic density be considered an intermediate marker of risk? / S.Becker, R.Kaaks // *Recent Results Cancer Res* – 2009. – Vol.181. – P. 135 - 157.
71. Динамика аномалий метилирования функциональных групп генов при развитии рака молочной железы / Н. А. Скрыбин, Е. Н. Толмачёва, И. Н. Лебедев [и др.] // *Молекулярная биология.* - 2013. - Т. 47, № 2.- С. 302.

72. Опухоли репродуктивной системы: клинические рекомендации по диагностике и лечению рака молочной железы / В.Ф.Семиглазов, Р.М.Палтуев, Т.Ю. Семиглазова и др.. – СПб, 2012.
73. Семиглазов В.Ф. Профилактика рака молочной железы / В.Ф. Семиглазов, Г.А. Дашян, В.В. Семиглазов // Практическая онкология. – 2012 – Т. 12, №2 – С. 66-69
74. Ашурбекова Т.Н. Проблема онкозаболеваемости населения в Чеченской республике и экологические аспекты возникновения / Т.Н. Ашурбекова // Проблемы развития АПК региона. - 2011 - Т.5. № 1. - С. 27-30.
75. Опыт применения герцептина в лечении больных с запущенными формами HER2-позитивного рака молочной железы / В.Н. Запорожан, С.Г. Бугайцов, В.В. Степула, С.А. Стороженко // Онкология. — 2010. — 12, N 2. — С. 147-149.
76. Петров А.В. Многофакторный анализ результатов комплексного лучевого исследования при раке молочной железы / А. В. Петров, Н. Н. Белосельский // Вестн РАР. - 2009. - №1. – С. 105 - 108.
77. Васильев Д.А. Маммографическая плотность молочных желез и определяющие ее факторы в свете повышенного онкологического риска / Д.А.Васильев, А.Н.Зайцев, Л.М. Берштейн // Опух. жен. репродукт. сист. - 2011. - №3. – С. 15 - 21.
78. Predictive biomarkers in breast cancer: their value in neoadjuvant chemotherapy. / L. Fuksa, S. Micuda, J. Grim [et al.] // Cancer Invest. - 2012 – Vol. 30(9) – P. 663-78
79. Biomarkers of response to Akt inhibitor MK-2206 in breast cancer. / T. Sangai, A. Akcakanat, H. Chen [et al.] // Clin Cancer Res. - 2012 – Vol. 18(20) – P. 5816-5828.
80. Peng Y. Potential prognostic tumor biomarkers in triple-negative breast carcinoma. / Peng Y. // Beijing Da Xue Xue Bao. - 2012 – Vol. 44(5) – P. 666-672.

81. Weigel M.T. Current and emerging biomarkers in breast cancer: prognosis and prediction. / M.T. Weigel, M. Dowsett // *Endocr Relat Cancer*. - 2010 – Vol. 17(4) - R245-262.
82. Сутурина Л.В. Влияние бромкриптина и циклодинона на клинические симптомы и уровень пролактина у женщин с гиперпролактинемией репродуктивного возраста / Л.В.Сутурина, П.Н.Попова // *Вопр. гинекол акуш перинатол.* - 2010. - №9. Т.2. – С. 41 - 49.
83. Can the status of the Breast and Ovarian Cancer Susceptibility Gene 1 product (BRCA 1) predict response to taxane-based cancer therapy? / J. T. De Ligio, A. Velkova, D. A. Zorio et al. // *Anticancer Agents Med Chem*. - 2009. – P. 543 – 549.
84. Resemann H.K. Stat3 paradox: A killer and an oncogene / H.K. Resemann, C.J. Watson, B. Lloyd-Lewis // *Mol Cell Endocrinol.* - 2013 – Vol. 3 (33) – P. 36-38.
85. Cheung V. THrP Overexpression Increases Sensitivity of Breast Cancer Cells to Apo2L/TRAIL / V. Cheung, S. Bouralexis, M.T. Gillespie // *PLoS One*. - 2013 – Vol. 8(6) - e66343.
86. Evaluation of changes in biologic markers ER, PR, HER 2 and Ki-67 index in breast cancer with administration of neoadjuvant dose dense doxorubicin, cyclophosphamide followed by paclitaxel chemotherapy / D.S. Dede, B. Gumuskaya, G. Guler [et al.] // *J BUON*. – 2013. – Vol. 18(2) – P. 366-371.
87. Estimation of maspin's subcellular localization in invasive ductal breast cancer via light microscopy and computerized image analysis: a comparative study / M. Panou, N. Kavantzias, T. Sergentanis [et al.] // *J BUON*. – 2013. – Vol. 18(2) – P. 342-351.
88. Change of influence of prognostic markers on metastasis free interval during and after adjuvant tamoxifen therapy in breast cancer patients / Z. Abu Rabi, N. Todorovic-Rakovic, M. Markicevic [et al.] // *J BUON*. – 2013. – Vol. 18(2) – P. 321-327.

89. Classical and novel prognostic markers for breast cancer and their clinical significance / T.Pankaj, M.Dejan, K.Fumitake et al. // Clin Med Insights Oncol. – 2010. – P. 15-34.
90. Hsu K.S. Alpha-actinin 4 and tumorigenesis of breast cancer / K.S. Hsu, H.Y. Kao // Vitam Horm. – 2013. – Vol. 93 – P. 323-351.
91. Выбор способа верификации непальпируемых объемных образований молочной железы на дооперационном этапе / Н.В.Понедельникова, Г.П.Корженкова, В.П.Летягин, Я.В. Вишневская // Опух. жен. репродукт. сист. - 2011. - №1 – С.41-45.
92. Giulianelli S. Targeting progesterone receptors in breast cancer / S. Giulianelli, A. Molinolo, C.Lanari // Vitam Horm. – 2013. – Vol.93. – P. 161 - 184.
93. Радзинский В.Е. Молочные железы и гинекологические болезни / В.Е.Радзинский. М.: Status Praesens. - 2010. – 304 с.
94. Radowicki S. Prostate specific antigen in women with menstrual disturbances and fibrocystic mastopathy / S. Radowicki, M. Kunicki // J Endocrinol Invest. - 2009 – Vol. 32(10) – P. 821-824.
95. Кузнецова И.В. Восстановление фертильности у женщин с генитальным эндометриозом / И.В.Кузнецова, Е.А.Ховрина, А.С.Кирпиков // Акушерство и гинекология. - 2012. - №2. – С. 10-15.
96. Диагностика и тактика хирургического лечения инфильтративного эндометриоза у пациенток репродуктивного возраста / М.В.Мельников, В.Д.Чупрынин, С.В. Аскольская и др. // Акушерство и гинекология. - 2012. - №7. – С. 42-49.
97. Кузнецова И.В. Роль ангиогенеза в патогенезе эндометриоза / И.В.Кузнецова // Акушерство и гинекология. – 2011. - №5. – С. 16 - 22.
98. Возможности терапии сочетания миомы матки и доброкачественных дисплазий молочных желез / В.Е.Радзинский, И.М.Ордянец, М.Н.Масленникова и др. // Акушерство и гинекология. – 2013. - №4. – С. 44 - 47.

99. Морфофункциональное состояние эндометрия у больных миомой матки репродуктивного возраста / Е.А.Коган, С. И. Аскольская, Бурыкина П.Н. и др. // *Акушерство и гинекология.* – 2013. - №8. – С. 46 - 51.
100. Клинико-морфологические аспекты субмукозной миомы матки у женщин репродуктивного возраста / Л.А.Щербакова, Т.А.Густоварова, А.Н.Иванян и др. // *Российский вестник акушера-гинеколога.* – 2012. - №1. – С. 24 – 28.
101. Cell proliferation effect of GnRH agonist on pathological lesions of women with endometriosis, adenomyosis and uterine myoma / K.N.Khan, M.Kitajama, K.Hiraki et al. // *Hum. Reprod.* – 2010. – Vol. 25, N 11. – P. 2878 – 2890.
102. Рецептивность эндометрия у женщин с миомой матки / Е.А.Коган, С.И.Аскольская, Б. П.Н.урыкина, Н.М.Файзулина // *Акушерство и гинекология.* - 2012. - №8, Т.2. – С. 42 – 48.
103. Сидорова И.С. Клинико-морфологические параллели и молекулярные механизмы стромально-паренхиматозных взаимоотношений при миоме матки / И.С.Сидорова, Е.А.Коган, А.Л.Унанян // *Молекулярная медицина.* - 2009. - №1. – С. 9 – 15.
104. Рецептивность эндометрия у женщин с миомой матки / Е. А. Коган, С. И. Аскольская, П. Н. Бурыкина, Н. М. Файзулина // *Акушерство и гинекология.* - 2012. - №8, Т.2. – С. 42 - 48.
105. Клинико-патогенетические особенности фиброзно-кистозной болезни молочной железы у пациенток с лейомиомой матки и аденомиозом / Е. А. Коган, Идрисова Э.А., Гуриев Т.Д., Унанян А.Л., Бабгоева О.Х.. *Акушерство и гинекология* 2010;(6):85-90.
106. Кузнецова И.В. Гиперпластические процессы эндометрия. – М., 2009. – С. 48.
107. Шешукова Н.А. Гиперпластические процессы эндометрия: этиопатогенез, клиника, диагностика, лечение / Н.А. Шешукова, И.О. Макаров, Ф.М.Н.омина // *Акушерство и гинекология.* – 2011. - №4. – С. 16-21.

108. Молекулярно-биологические особенности гиперпластических процессов эндометрия / Н.А.Шешукова, Т.В.Овсянникова, И.О.Макаров, А.С.Федотова // *Акушерство и гинекология*. - 2013. - №8. – С. 52-55.
109. Oxidant/antioxidant status in premenstrual syndrome / C.I.Duvan, A.Cumaoglu, N.O.Turhan et al. // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2011. – Vol.283, №2. – P. 299–304.
110. Высоцкий, М. М. Лечение фиброзно-кистозной мастопатии у пациенток после гистерэктомии / М. М. Высоцкий, Е. О. Сазонова, Л.Р. Гараева // *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. - 2011. - Т. 10, № 4. - С. 31-34.
111. Тумилович Л.Г. Справочник гинеколога-эндокринолога / Л.Г.Тумилович, М.А.Геворкян. М.: Практическая Медицина. - 2009. - 202 с.
112. Occult leydig cell tumour and androgen-receptor positive breast cancer in a woman with severe hyperandrogenism. / G. Saraceno, V. Barresi, F. Trimarchi, S.Cannavo // *J Ovarian Res.* - 2013 – Vol. 6(1) – P. 43.
113. Роль гена андрогенного рецептора в генезе преждевременной недостаточности яичников / Т.Г.И.абеева, Л.А.Марченко, А.И. Карселадзе и др. // *Акушерство и гинекология*. – 2011. - №6. – С. 36-41.
114. Premature ovarian failure and androgen receptor gene CAG repeat lengths weighted by X chromosome inactivation patterns / F.Sugawa, Y.Wada, S.Maruyama et al. // *Fertil. and Steril.* – 2009. – Vol. 92. – P. 649–652.
115. Чайка В.К. Лечение дисгормональных заболеваний молочных желез с позиции эндокринной гинекологии / В.К. Чайка // *Рос. вестн. акуш.-гин.* – 2009. – № 1. – С. 57–60.
116. Textbook of gynaecological oncology / A.Ayhan, M.Gultekin, P. Dursun et al. // *Ancara.* – 2012. – Vol. 29. – P. 191 - 194.
117. Садвакасова Г.С. Особенности иммуно-эндокринного профиля при доброкачественных и злокачественных новообразованиях молочной железы: Автореф. дис.на соискание учен.степени канд.мед.наук: 14.00.36 — аллергия и иммунология / Г.С. Садвакасова.- Алматы, 2010.- 26с.

118. Сухарева Е.А. Современные аспекты проблемы лечения дисгормональной гиперплазии молочной железы / Е.А.Сухарева, С.В.Козлов, А.В.Гайлис // Опух. жен. репродукт. сист. – 2010. - №3 – С. 11-15.
119. Высоцкая И.В. Современные возможности терапии фиброзно-кистозной болезни / И.В.Высоцкая // Опух. жен. репродукт. сист. – 2009. - №1-2 – С.44-46.
120. Рожкова Н.И. Возможности фитотерапии при различных формах мастопатии (обзорная статья) / Н.И.Рожкова, Е.В.Меских // Проблемы репродукции. – 2011. - №2 – С. 18-24.
121. Differential regulation of VEGF after final oocyte maturation with GnRH agonist versus hCG: a rationale for OHSS reduction / M.Cerrillo, S.Rodrigues, M.Mayoral et al. // Fertil. and Steril. – 2009. – Vol. 91, № 4. – P. 1526–1528.
122. Premenopausal mammographic density in relation to cyclic variations in endogenous sex hormone levels, prolactin, and insulin-like growth factors / K.Walker, O.Fletcher, N.Johnson et al. // Cancer Res. – 2009. – Vol.69, №16. – P.6490-6499.
123. Хомасуридзе А.Г. Клинико-гормональные особенности гиперпролактинемии в периоде становления репродуктивной системы у девушек / А.Г.Хомасуридзе, Н.А.Чопикашвили, Д.И.Кристесашвили // Акушерство и гинекология. – 2010. -№4. – С.87-89.
124. Подольский В.В. Клинико-эпидемиологическая характеристика женщин фертильного возраста с хроническими воспалительными заболеваниями половых органов / В.В.Подольский // Акушерство и гинекология. – 2013. - №4. – С.61-66.
125. Индолкарбинол (Индинол Форто) – метод мультитаргетной терапии при циклической мастодинии / В.И.Киселев, В.П.Сметник, Л.В.Сутурина и др. // Акушерство и гинекология. – 2013. - №7. – С.56-62.
126. Сухих Г.Т. Хронический эндометрит / Г.Т.Сухих, А.В.Шуршалина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.

127. Рожкова Н.И. Основные направления патогенетической терапии мастопатии / Н.И.Рожкова, В.П.Сметник, Е.В. Меских // Леч врач. – 2011. - №3.
128. Мастопатия: новый взгляд на старую проблему глазами гинеколога / О.Г.Пекарев, А.Н.Васильев, С.П.Попова, Е.О.Пекарева // Акушерство и гинекология. – 2010. - №5 – С.73-78.
129. Schindler A.E. Dydrogesterone and other progestins in benign breast disease: an overview / A.E.Schindler // Arch Gynecol. Obstet. – 2010. - №11.
130. Yoshino O. Decreased pregnancy rate is linked to abnormal uterine peristalsis caused by intramural fibroids / O.Yoshino, T.Hayashi // Hum. Reprod. - 2010. – Vol. 25, №10. – P. 2475–2479.
131. Comparison of estrogens and estrogen metabolites in human breast tissue and urine / E.Taioli, A.Im, X.Xu et al. // Reprod. Biol. Endocrinol. – 2010. - №8. P.93.
132. Пароконная А.А. Рак молочной железы и беременность (особенности клиники, диагностики и лечения, прогноз): Дис. ... д-ра мед. наук. М.; 2009.
133. Клинико-морфологические характеристики и прогноз BRCA-ассоциированного рака молочной железы у женщин репродуктивного возраста / Д.Е.Автономов, А.А.Параконная, Л.Н.Любченко // Опух. жен. репродукт. сист. – 2012. - №1. – С.20-23.
134. Ульрих Е.А. Онкологические аспекты заместительной менопаузальной гормональной терапии / У Е.А.льрих, А.Ф.Урманчеева // Практ. онкол. – 2009. - №2, Т.10. – С. 76 - 83.
135. Breast cancer in pregnancy: Recommendations of an international consensus meeting / M., Vrepeels L. et al. // Eur. J. Cancer. – 2010. - №18, Vol.46. – P. 3158–3168.
136. Targeting of aryl hydrocarbon receptor-mediated activation of cyclooxygenase-2 expression by the indole-3-carbinol metabolite 3,3-diindolylmethane in breast cancer cells / S.C.Degner, A.J.Papoutsis, O.Selmin et al. // J.Nutr. – 2009. – Vol. 139, №1. – P.26-32.

137. The relation of leptin and adiponectin with breast density among premenopausal women / G.Maskarinec, C.Woolcott, J.S. Steude et al. // *Eur J Cancer Prev.* – 2010. - №1, Vol.19. – P.55-60.
138. Успехи клинической онкологии 2009: наиболее значимые достижения в лечении, профилактике и скрининге онкологических заболеваний. Сообщение Американского общества клинической онкологии // *J Clin Oncol (русское издание).* – 2009. - №1, Т.4. – С.76-97.
139. Subic K. The expression patterns of ER, PR, HER2, CK 5/6,EGFR, Ki-67 and AR by immunohistochemical analysis in breast cancer cell lines / K.Subic, J.Lee, L.Baxter // *Breast Cancer Basic Clin. Res.* – 2010. - №4 – P.35-41.
140. Басова О.Н. Лечение предменструального синдрома у подростков и женщин репродуктивного возраста / О.Н.Басова, В.Г.Волков // *Акушерство и гинекология.* – 2012. - №2. – С.76-81.
141. Altered antisense-to-sense transcript ratios in breast cancer / R.Maruyama et al. // *PNAS.* – 2012. – Vol.109. – P. 2820-2824.
142. Radiation exposure and breast cancer: lessons from Chernobyl / A. Ogrodnik, T.W. Hudon, P.M. Nadkarni, R.Y. Chandawarkar // *Conn Med.* -2013. - №4, Vol.77. – P. 227-234.
143. Association between estrogen receptor gene polymorphisms and breast density in postmenopausal women / E.H.de Moura Ramos, S.Martinelli, I.Silva et al. // *Climacteric.* – 2009. – Vol.12, №6. – P. 490-501.
144. Vascular-endothelial-growth-factor (VEGF) targeting therapies for endocrine refractory or resistant metastatic breast cancer / A.D. Wagner, C. Thomssen, J. Haerting, S. Unverzagt // *Cochrane Database Syst Rev.* - 2012 – Vol. 7 - CD008941
145. HIF-1 α , VEGF and WT-1 are protagonists in bilateral primary angiosarcoma of breast: a case report and review of literature / S. Al-Salam, N. Balalaa, I. Faour [et al.] // *Int J Clin Exp Pathol.* – 2012. – Vol. 5(3) – P. 247-253.
146. PI3K/Akt and MAPK/ERK1/2 signaling pathways are involved in IGF-1-induced VEGF-C upregulation in breast cancer / C. Zhu, X. Qi, Y. Chen [et al.] // *J Cancer Res Clin Oncol.* – 2011. – Vol. 137(11) – P. 1587-1594.

147. EGCG, a major green tea catechin suppresses breast tumor angiogenesis and growth via inhibiting the activation of HIF-1 α and NF κ B, and VEGF expression / J.W. Gu, K.L. Makey, K.B. Tucker [et al.] // *Vasc Cell.* - 2013. – Vol.5, №2. – P. 9
148. miR-20b modulates VEGF expression by targeting HIF-1 alpha and STAT3 in MCF-7 breast cancer cells / S. Cascio, A. D'Andrea, R. Ferla [et al.] // *J Cell Physiol.* - 2010 – Vol. 224(1) – P. 242-249.
149. A gene expression profile indicative of early stage HER2 targeted therapy response / F. Neill, S.F. Madden, M. Clynes et al. // *Mol Cancer.* - 2013 – Vol. 12(1) – P. 69.
150. Завалишина Л.Э. Морфологическое исследование HER2-статуса рака молочной железы / Л.Э.Завалишина, Г.А.Франк // *Методические рекомендации и атлас.* 2-е изд. – М.: Медиа Медика, 2010.
151. HER-2/neu статус и его взаимосвязь с прогностическими клинико-морфологическими показателями при раке молочной железы: автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.08 / Алексанян Сусанна Геворковна; Ереван. гос. мед. ун-т им. М. Гераци. - Ереван, 2013. - 26 с.: рис., табл.
152. Circulating sex hormones and mammographic breast density among postmenopausal women / B.L.Sprague, A.Trentham-Dietz, R.E.Gangnon et al. // *Horm Cancer.* – 2011. - №1, Vol.2. – P.62-72.
153. Thyroid function in breast cancer patients / N. Ditsch, S. Liebhardt, F. Von Koch [et al.] // *Anticancer Res.* - 2010 – Vol. 30(5) – P. 1713-1717
155. Association between endogenous sex hormone levels and mammographic and bone densities in premenopausal women / M.Yong, C.Atkinson, K.M. Newton et al. // *Cancer Causes Control.* – 2009. - №7, Vol.20. – P. 1039 - 1053.
156. Мусина Е.В. Механизмы влияния и эффективность препаратов прогестерона при фиброзно-кистозной болезни молочных желез в репродуктивном возрасте: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2011.
157. Variable specimen handling affects hormone receptor test results in women with breast cancer: a large multihospital retrospective study / F.L. Nkoy, M.E. Hammond, W. Rees et al. // *Arch Pathol Lab Med.* - 2010 – Vol. 134(4) – P. 606-612.

158. Whelan A.M. Herbs, vitamins and minerals in treatment of premenstrual syndrome: a systematic review / A.M.Whelan, J T.M.ergens, H.Naylor // *Can. J. Clin. Pharmacol.* – 2009. - №1, Vol.16. – P. 407–429.
159. Invasive neuroendocrine carcinoma of the breast: a prognostic research of 107 Chinese patients / Y. Zhang, Z. Chen, Y. Bao et al. // *Neoplasma.* – 2013. - №2, Vol.60. – P. 215-222.
160. Радзинский В.Е. Частота и структура доброкачественных заболеваний молочных желез после хирургического лечения гинекологических заболеваний / В.Е.Радзинский, Л.Х.Хасханова, И.М.Ордянец // *Фарматека.* - 2010. - № 1. - С. 58-61.
161. Dvingo H. The shaping and functional consequences of microRNA landscape in breast cancer / H. Dvingo, C.Caldas // *Nature.* – 2013. – Vol.497. – P. 378-382.
162. Landscape phages and their fusion proteins targeted to breast cancer cells / O.A. Fagbohun, D. Bedi, N.I. Grabchenko et al. // *Protein Eng Des Sel.* – 2012. - №6, Vol.25. – P. 271-283.
163. Anders C.K. Biology, metastatic patterns, and treatment of patients with triple-negative breast cancer / C.K.Anders, L.A.Carey // *Clin Breast Cancer* -2009. - №2. – P. 73–81.
164. Perrot-Appianat M. Autocrine functions of VEGF in breast tumor cells: adhesion, survival, migration and invasion / M. Perrot-Appianat, M.Di Benedetto // *Cell Adh Migr.* - 2012 – Vol. 6(6) – P. 547-553.
165. Двухсторонний рак молочной железы в Российской популяции: молекулярно-генетические, семейные и клинические характеристики / Н.И.Поспехова, В.П.Логинова, В.П.Шубин и др. // *Мол. мед.* – 2010. - №3. 0 С. 38-42.
166. Cotruță A. Particularitățile clinico-biologice ale cancerului glandei mamare la bolnavele în menopauză / A. Cotruță Teza de doctor și autoreferatul 14.00.14 – *Oncologie și radioterapie.* Chișinău, 2013 – 30 p.

167. Clinical picture of infiltrating lobular carcinoma of the breast: an analysis of 96 patients / P. Skotnicki, P. Blecharz, J. Jakubowicz et al. // *Eur J Gynaecol Oncol.* – 2013. - №3, Vol.34. – P. 222-226.
168. Selective oestrogen receptor modulators in prevention of breast cancer: an updated meta-analysis of individual participant data / J. Cuzick, I. Sestak, B. Bonanni [et al.] // *Lancet.* - 2013 – Vol. 381(9880) – P. 1827-1834.
169. Bourboulia D. Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): Positive and negative regulators in tumor cell adhesion / D. Bourboulia, W . G. Stetler-Stevenson // *Semin Cancer Biol.* - 2010. Vol. 20, No 3.- P. 161-168.
170. Rahman M.Z. Diagnosis of breast lump by fine needle aspiration cytology and mammography / M.Z. Rahman, A.M. Sikder, S.R. Nabi // *Mymensingh Med J.* - 2011 – Vol. 20(4) – P. 658-664
171. Sangma M.B. A clinico-pathological study on benign breast diseases / M.B.Sangma, K. Panda, S. Dasiah // *J Clin Diagn Res.* - 2013 – Vol. 7(3) – P. 503-506
172. D'Abreo N. Sex hormone receptors in breast cancer / N. D'Abreo, A.A. Hindenburg // *Vitam Horm.* – 2013 – Vol. 93 – P. 99-133.
173. Immunotherapy with HER-2 and VEGF peptide mimics plus metronomic paclitaxel auses superior antineoplastic effects in transplantable and transgenic mouse odels of human breast cancer / K.C. Foy, M.J. Miller, N. Moldovan [et al.] // *Oncoimmunology.* - 2012 – Vol. 1(7) – P. 1004-1016.
174. Belugali Nataraj N. Crosstalk between VEGF and novel angiogenic protein regulates tumor angiogenesis and contributes to aggressiveness of breast carcinoma / N. Belugali Nataraj, B.P. Salimath // *Cell Signal.* - 2013 – Vol. 25(1) – P. 277-294.
175. Guo S. Notch, IL-1 and leptin crosstalk outcome (NILCO) is critical for leptin-induced proliferation, migration and VEGF/VEGFR-2 expression in breast cancer / S Guo, R.R. Gonzalez-Perez // *PLoS One.* – 2011 – Vol. 6(6) - e21467.

176. SIX1 induces lymphangiogenesis and metastasis via upregulation of VEGF-C in mouse models of breast cancer / C.A. Wang, P. Jedlicka, A.N. Patrick [et al.] // *J Clin Invest.* - 2012 – Vol. 122(5) – P. 1895-1906
177. p16INK4A represses breast stromal fibroblasts migration/invasion and their VEGF-A-dependent promotion of angiogenesis through Akt inhibition / M.M. Al-Ansari, S.F. Hendrayani, A. Tulbah [et al.] // *Neoplasia.* - 2012 - Vol. 14(12) – P. 1269-1277
178. Metformin inhibits advanced glycation end products (AGEs)-induced growth and VEGF expression in MCF-7 breast cancer cells by suppressing AGEs receptor expression via AMP-activated protein kinase / Y. Ishibashi, T. Matsui, M. Takeuchi, S. Yamagishi // *Horm Metab Res.* - 2013 – Vol. 45(5) – P. 387-390
179. Effects of anti-VEGF on pharmacokinetics, biodistribution, and tumor penetration of trastuzumab in a reclinical breast cancer model / C.V. Pastuskovas, E.E. Mundo, S.P. Williams [et al.] // *Mol Cancer Ther.* – 2012. - Vol. 11(3) – P. 752-762.
180. FOXO3a represses VEGF expression through FOXM1-dependent and -independent mechanisms in breast cancer / C.T. Karadedou, A.R. Gomes, J. Chen [et al.] // *Oncogene.* – 2012. – Vol. 31(14) – P. 1845-1858.
181. Prognostic markers for invasive micropapillary carcinoma of the breast: a population-based analysis / A.C. Chen, A.C. Paulino, M.R. Schwartz et al. // *Clin Breast Cancer.* – 2013. - №2, Vol.13. – P. 133-139.
182. The single-nucleotide polymorphisms +936 C/T VEGF and -710 C/T VEGFR1 are associated with breast cancer protection in a Spanish population / P. Rodrigues, J. Furriol, E. Tormo [et al.] // *Breast Cancer Res Treat.* – 2012. – Vol. 133(2) – P. 769-778.
183. Evaluation of single nucleotide polymorphisms in microRNAs (hsa-miR-196a2 rs11614913 C/T) from Brazilian women with breast cancer / J.J. Linhares, M. J. Azevedo, A.A. Siufi et al. // *BMC Med Genet.* – 2012. - №10, Vol.13. – P.119.

184. Brewster A.M. Chemoprevention for Breast Cancer: Overcoming Barriers to Treatment / A.M. Brewster, N.E. Davidson, W.McCaskill-Stevens // In: 2012 Educational Book. – ASCO, 2012. – P. 85-90.
185. North central cancer treatment group (NCCTG) N0537: phase II trial of VEGF-trap in patients with metastatic breast cancer previously treated with an anthracycline and/or a taxane / K. Sideras, A.C. Dueck, T.J. Hobday [et al.] // Clin Breast Cancer. – 2012. – Vol. 12(6) – P. 387-391.
186. Zhou L.P. Lack of association between LIG4 gene polymorphisms and the risk of breast cancer: a HuGE review and Meta-analysis. / L.P. Zhou, H. Luan, X.H. Dong et al. // Asian Pac J Cancer Prev. – 2012 – Vol. 13(7) – P. 3417-3422.
187. Метилирование генов RASSF1A, RARb2, SEMA3B в эпителиальных опухолях молочной железы, яичников и при полинеоплазии / К Т.Пазубская, В.И.Логинов, Д.С. Ходырев и др. // Опух. жен. репродукт. сист. – 2012. - №1. – С.61-68.
188. Роль метилирования генов ингибиторов циклин-зависимых киназ в эпигенетической инактивации ретинобластомного пути регуляции клеточного цикла при раке молочной железы / Н.А.Скрябин, И.Н.Лебедев, Т.Е.Н.олмачева, Н.В. Чердынцева // Якутский медицинский журнал. - 2009. - № 2. - С. 89-91.
189. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes / J.S. Parker et al. // J Clin Oncol. – 2009. – Vol. 27. – P. 1180-1187.
190. Ras/Raf-1/MAPK pathway mediates response to tamoxifen but not chemotherapy in breast cancer patients / L.M.McGlynn, T.Kirkegaard, J.Edwards et al. // Clin Cancer Res. – 2009. - №4, Vol.15. – P. 1487–1495.
191. Detection of promoter methylation of tumor suppressor genes in serum DNA of breast cancer cases and benign breast disease controls / S.R. Sturgeon, R. Balasubramanian, C. Schairer [et al.] // Epigenetics. – 2012. – Vol. 7(11) – P. 1258-1267.
192. Targeting the IKK β /mTOR/VEGF signaling pathway as a potential therapeutic strategy for obesity-related breast cancer / C.T. Chen, Y. Du, H. Yamaguchi [et al.] // Mol Cancer Ther. – 2012. – Vol. 11(10) – P. 2212-2221.

193. Speiser J.J. The functional role of notch signaling in triple-negative breast cancer / J.J.Speiser, C.Erşahin, C.Osipo // *Vitam Horm.* – 2013. – Vol.93. – P. 277-306.
194. Tumour dormancy and clinical implications in breast cancer / L. Gelao, C. Criscitiello, L. Fumagalli [et al.] // *Cancer medical science.* – 2013. – Vol. 7 – P. 320
195. Duffy S.W. Overdiagnosis in breast cancer screening: the importance of length of observation period and lead time / S.W. Duffy, D.Parmar // *Breast Cancer Res.* – 2013. – Vol. 15(3) - R41.
196. Breast cancer risk after exposure to fertility drugs / G. Lo Russo, G.P. Spinelli, S. Tomao [et al.] // *Expert Rev Anticancer Ther.* – 2013. - Vol. 13(2) – P. 149-157.
197. Высоцкая И.В. Базовая терапия в лечении диффузной фиброзно-кистозной мастопатии / И.В. Высоцкая // *Опух. жен. репродукт. сист.* – 2012. - №1. – С.52-56.
198. Оценка противоопухолевой активности криоконсервированных клеток фетальной печени в экспериментальной модели рака молочной железы: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.19 / Бондарович Николай Александрович; НАН Украины, Ин-т проблем криобиологии и криомедицины. - Х., 2010. - 164 л.: фот. - Бібліогр.: арк. 140-164.
199. Корженкова Г.П. Опыт использования цифровой маммографии / Г.П.Корженкова, Б.И.Долгушин // *Опух. жен. репродукт. сист.* – 2011. - №1. – С.37-40.
200. Мустафин Ч. К. Лечение мастопатии у женщин репродуктивного возраста с симптомами выраженной масталгии / Ч. К. Мустафин // *Лечащий врач.* - 2013. - № 3. - С. 97-99
201. Соноэластография в диагностике злокачественных и доброкачественных заболеваний молочных желез / Н.И.Рожкова, А.В.Зубарев, С.Б.Запирова, Е.А.Хохлова // *Вестник Российской ассоциации радиологов.* – 2009. - №1. - С. 19-23.

202. Магнитно-резонансная семиотика фиброаденом молочной железы / С.В.Серебрякова, Г.Е.Труфанов, В.А.Фокин, Е.А.Юхно // Опух. жен. репродукт. сист. – 2010. - №2. – С.4-9.
203. Swain SM. Amenorrhea from breast cancer therapy – not a matter of dose / S.M. Swain, J.H. Jeong, N. Wolmark // N Engl J Med. - 2010 – Vol. 363(23) – P. 2268-2270.
204. Ультрасонография и рентгеновская маммография в диагностике рака молочной железы, развивающегося на фоне мастопатии / Д. Г. Бухарин [и др.] // Сибирский медицинский журнал (Томск). - 2012. - Т. 27, № 1. - С. 99-102.
205. Sauer T. The role of preoperative axillary lymph node fine needle aspiration in locoregional staging of breast cancer / T. Sauer, V. Suciú // Ann Pathol. – 2012. – Vol. 32, №6. – P. 410-414.
206. Implementation and evaluation of an expectation maximization reconstruction algorithm for gamma emission breast tomosynthesis / Z.Gong, K.Klanian, T.Patel et al. // Med Phys. – 2012. – Vol.39, №12. – P. 7580-7592.
207. Clinical outcomes of ductal carcinoma in situ of the breast treated with partial mastectomy without adjuvant radiotherapy / S.H. Hwang, J. Jeong, S.G. Ahn et al. // Yonsei Med J. – 2012. – Vol.53, №3. – P.537-542.
208. Внутрипротоковые папилломы молочных желез. Вопросы патогенеза, лечения и профилактики внутрипротокового рака / Г.Х.Ханафиев, С.А.Берзин, У.Ю.Мальцев, А.Е.Мазур // Опух. жен. репродукт. сист. - 2011. - №4. – С.42-45.
209. Высоцкая И.В. Возможности улучшения скрининга рака молочной железы / И.В.Высоцкая // Опух. жен. репродукт. сист. – 2010. - №4. – С.28-32.
210. Longitudinal association of anthropometry with mammographic breast density in the Study of Women’s Health Across the Nation / K.W.Reeves, R.A.Stone, F.Modugno et al. // Int J Cancer – 2009. – Vol.124, №5. – P.1169-1177.
211. Особенности листовидных опухолей / Д.А.Денчик, И.К.Воротников, Л.Н.Любченко и др. // Опух. жен. репродукт. сист. – 2010. - №3. – С.21-23.

212. The lateral inframammary fold incision for nipple-sparing mastectomy: outcomes from over 50 immediate implant-based breast reconstructions / K.M. Blechman, N.S. Karp, C. Levovitz et al. // *Breast J.* – 2013. – Vol.19, №1. – P. 31-40.
213. Tissue harmonic imaging, frequency compound imaging, and conventional imaging: use and benefit in breast sonography / B. Mesurole, T. Helou, M. El-Khoury [et al.] // *J Ultrasound Med.* – 2007. – Vol.26, №8. – P. 1041-1051.
214. Гидранович А.В. Показатели липидного и углеводного обменов в оценке риска опухолевой прогрессии у пациенток, страдающих раком молочной железы: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / А.В.Гидранович // Минск, 2013. - 22 с.
215. Apelt D. Bestimmung der Kontrastempfindlichkeit im Mammogramm und ihre Bedeutung für bildschirmbasierte Befundung: Diss. / D. Apelt; Fakultät für Informatik der Otto-von-Guericke-Univ. Magdeburg. - Aachen: Shaker Verlag, 2009. - viii, 145 S.: Abb. - (Berichte aus der Medizinischen Informatik und Bioinformatik).
216. Семиглазов В.Ф. Стратегические и практические подходы к решению проблемы рака молочной железы. / В.Ф. Семиглазов // *Вопросы онкологии.* – 2012 – Vol. 36(5) – P. 461-469.
217. Наказ від 30 липня 2010 року N 645 Про внесення змін до наказу МОЗ України від 17.09.2007 N 554 "Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю "онкологія" <http://document.ua/pro-vnesennja-zmin-do-nakazu-moz-ukrayini-vid-17.09.2007-n-5-doc69851.html>
218. Руководство по клинической лабораторной диагностике: Учеб. пособие. Ч 1-2. / М.А. Базарнова, А.И. Воробьев, З.С. Баркаган и др.: под. ред. М.А. Базарновой, А.И. Воробьева. – Киев: Вища шк., 1991. – 615 с.
219. Голубева К. М. Непараметричні критерії класифікації з двохсторонніми довірчими інтервалами та їх застосування: дис. ... канд. техн. наук : 01.05.02 / Голубева Катерина Миколаївна ; Київ. нац. ун-т ім. Тараса Шевченка. - К., 2011. - 138 арк. : рис., табл.

220. Минцер, О. П. Методы обработки медицинской информации / О.П. Минцер, Б.Н. Угаров, В.В. Власов. - К. : Вища шк., 1982. - 159 с.

221. Антомонов М.Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных / М.Ю. Антомонов. – Киев, – 2006. – 558 с.