

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«ТЮМЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ
Кафедра анатомии и физиологии человека и животных

РЕКОМЕНДОВАНО К ЗАЩИТЕ В ГЭК

Заведующий кафедрой,
к.б.н., доцент

_____ А. В. Елифанов
_____ 2021 г.

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
магистерская диссертация

**ОЦЕНКА ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ ИНДЕКСОВ, ЛЕЙКОГРАММ И УРОВНЯ
ЭКСПРЕССИИ ТКАНЕВЫХ МАРКЁРОВ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ
ЖЕНЩИН, БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

06.04.01 Биология
Магистерская программа «Биотехнология»

Выполнила работу
студентка 2 курса
очной формы обучения

Айдина Мария Павловна

Научный руководитель
к.б.н., доцент

Турбасова Наталья Вячеславовна

Рецензент
д.б.н., профессор кафедры
биологической химии ГБОУ ВПО
«Тюменский государственный
медицинский университет,
Министерства здравоохранения РФ»

Ральченко Ирина Викторовна

Тюмень
2021

АННОТАЦИЯ

С. 80, рис. 14, табл. 13, библи. 87.

Проведено комплексное изучение уровня экспрессии рецепторов эстрогенов, прогестерона и определение уровня эндогенной интоксикации у женщин с различными гормонально-рецепторными фенотипами опухолей молочной железы. У пациенток чаще выявлялись опухоли молочной железы, экспрессирующие рецепторы эстрогена (63,95%) и рецепторы прогестерона (55,45%), чем опухоли, не экспрессирующие этих рецепторов. Опухоли молочной железы, не имеющие экспрессии рецепторов эстрогена, обладают более злокачественным течением. У женщин с такими фенотипами чаще диагностировался метастатический РМЖ. Количество лейкоцитов и параметры лейкограммы у пациенток находились на уровне нормы. Кроме того, у всех женщин с РМЖ, наблюдалось увеличение СОЭ. Анализ лейкоцитарных индексов интоксикации (ЛИИ, ИСЛК, индекс Кребса) выявил у женщин, имеющих гормонально-рецепторные фенотипы опухолей РЭ+РП- и РЭ-РП+ наличие воспаления и легкой степени эндогенной интоксикации. ИРО и ЛИ были повышены у всех пациенток относительно нормативных параметров, что указывает на повышение реактивности организма и наличие эндогенной интоксикации. Также, у женщин, имеющих фенотипы опухолей РЭ+РП- и РЭ-РП- зарегистрированы низкие параметры ЛИ и ИРО по сравнению с женщинами, имеющими положительную экспрессию рецепторов обоих гормонов. У женщин с РМЖ выявлено повышение ИЛГ, относительно нормативных величин, что свидетельствует о аутоинтоксикации, а также о воспалительном процессе. Кроме того, наличие более выраженной интоксикации, связанной с инфекционным процессом, было зарегистрировано у пациенток, имеющих фенотип опухоли РЭ-РП-.

Ключевые слова: рак молочной железы, рецепторы эстрогена, рецепторы прогестерона, лейкоцитарные индексы, эндогенная интоксикация.

ANNOTATION

P. 80, fig. 14, tab. 13, bibl. 87.

A comprehensive study of the expression expression of estrogen receptors, progesterone and determining the level of endogenous intoxication in women with various hormonally receptor phenotypes of breast tumors are carried out. Patients were more often detected by breast tumors expressing estrogen receptors (63.95%) and progesterone receptors (55.45%) than tumors that do not express these receptors. Breast tumors that have no expression of estrogen receptors have a more malignant current. In women with such phenotypes, metastatic RMG was more often diagnosed. The number of leukocytes and the parameters of the leukegram in patients were at the level of the norm. In addition, all women with RMW have been observed an increase in ESP. Analysis of the leukocyte intoxication leukocyte indices (LII, ISLK, the Krebs index) revealed in women with hormonal receptor phenotypes of RE + RP and RP-RP tumors + the presence of inflammation and a light degree of endogenous intoxication. IRO and whether they were increased in all patients relative to the normative parameters, which indicates an increase in the reactivity of the organism and the presence of endogenous intoxication. Also, women having phenotypes of RE tumors RP- and RE-RP- are registered low parameters of Lee and IRO compared to women who have positive expression of both hormone receptors. In women with RMG, an increase in ILG was revealed, relative to the normative values, which indicates autoorexication, as well as the inflammatory process. In addition, the presence of a more pronounced intoxication associated with the infectious process was recorded in patients having a PE-RP-RP-RP.

Keywords: breast cancer, estrogen receptors, progesterone receptors, leukocyte indices, endogenous intoxication.

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	5
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	8
1. 1. ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	8
1.2. РЕЦЕПТОРЫ СТЕРОИДНЫХ ГОМОНОВ И ИХ РОЛЬ В РАЗВИТИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, КЛИНИКО-ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ	15
1.3. ЭНДОГЕННАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ ПРИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ.....	25
2.1 МАТЕРИАЛ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	30
2.2 МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	31
2.2.1 ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНОВ, ПРОГЕСТЕРОНА В КЛЕТКАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ.....	31
2.2.2. МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ.....	35
2.2.3. МЕТОД РАСЧЕТА ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ ИНДЕКСОВ.....	38
2.2.4. МЕТОДЫ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ	42
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	Ошибка! Закладка не определена.
3.1 ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНОВ И ПРОГЕСТЕРОНА В КЛЕТКАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	Ошибка! Закладка не определена.
3.3.РАССЧЕТ ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ ИНДЕКСОВ	Ошибка! Закладка не определена.
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	43
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК	44

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БТШ – белки теплового шока

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ГАУЗ ТО МКМЦ - Государственное автономное учреждение
здравоохранения Тюменской области Многопрофильный
клинический медицинский центр

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДАБ – диаминобензидин

ЗНО – злокачественные новообразования

ИК – индекс Кребса

ИЛГ – Лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс

ИЛСОЭ – Индекс соотношения лейкоцитов и СОЭ

ИРО – индекс резистентности организма

ИСЛК – индекс сдвига лейкоцитарных клеток

ЛИ – лейкоцитарный индекс

ЛИИ – лейкоцитарный индекс интоксикации

ЛИИм – лейкоцитарный индекс интоксикации Островского В. К.

РМЖ – рак молочной железы

РНК – рибонуклеиновая кислота

РП – рецепторы прогестеронов

РЭ – рецепторы эстрогенов

ЭИ – эндогенная интоксикация

СЭИ – синдром эндогенной интоксикации

ABC - Avidin-Biotin Complex

BRCA1 - breast cancer 1

BRCA2 - breast cancer 2

HER2 - Human Epidermal Growth Factor Receptor-2

TSG - Tumor Suppressor Gene

ВВЕДЕНИЕ

Рак молочной железы является серьезной проблемой общественного здравоохранения. Рак молочной железы является наиболее распространенным злокачественным новообразованием среди женщин и второй ведущей причиной смерти во всем мире. (РМЖ) является серьезной медицинской и социальной проблемой для большинства развитых стран мира. Несмотря на значительные достижения в понимании биологии и клинике заболевания, прогресс в области визуализации и скрининга рака молочной железы, высокоэффективные методы лечения РМЖ, проблема продолжает оставаться высоко актуальной.

Тактику лечения РМЖ определяют, основываясь на прогностических факторах. В дополнение к традиционным факторам прогноза, дающим представление о клиническом течении, агрессивности опухоли, определение эстрогенового и прогестеронового рецепторного статуса является подтвержденным и рекомендованным исследованием в диагностике РМЖ. [Поддубная, Каприн, Лядова, с.28-30, Должиков., Пасенов., Котляров, с. 48-51]. Исследование экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона в биоптате опухоли в настоящее время рекомендовано проводить всем больным раком молочной железы для определения гормональной чувствительности опухоли. Роль данных маркеров в генезе гормонзависимых опухолей доказана клиническими исследованиями [Vargo-Gogola, Rosen, pp. 659–672]. Определение гормонально-рецепторного статуса РМЖ является обязательным условием для успешной гормональной терапии РМЖ. По данным литературы положительный эффект гормональной терапии отмечали в 77% случаев РМЖ РЭ+РП+, в 27% — с раком РЭ+РП-, в 46% — с раком РЭ-РП+, в 11% — с раком РЭ-РП-.

Однако получить ответ на проводимое лечение удастся не во всех случаях. Речь идет о резистентности к гормонотерапии, таким пациентам показан отказ от гормональной терапии и начало химиотерапии [Должиков.,

Пасенов., Котляров, с. 48-51]. Экспрессия рецепторов прогестерона и эстрогена связаны с улучшением выживаемости при раке молочной железы, независимо от клинических прогностических факторов.

Показатели эндогенной интоксикации позволяют оценить активность воспаления, выраженность токсикоза, состояние неспецифической реактивности организма, обладая диагностической и прогностической значимостью. Изучение лейкоцитарных формул и лейкоцитарных индексов, отражающих степень интоксикации организма, находят широкое применение в разработке патогенетических основ для ранней диагностики и профилактики токсических проявлений в организме онкологического больного. По изменениям в лейкоцитарной формуле, с учетом других гематологических показателей можно судить о выраженности воспалительного процесса. Диагностические и прогностические возможности расчётных индексов приобретают в настоящее время все большую значимость, поскольку определенные сочетания показателей гемограммы отражают интегральные характеристики гомеостатических систем организма, формирующих неспецифические адаптационные реакции.

Таким образом, целью настоящего исследования явилась оценка лейкоцитарных индексов, лейкограмм и уровня экспрессии тканевых маркёров в опухолевых клетках женщин, больных раком молочной железы

Для достижения цели исследования были поставлены следующие задачи:

- 1) определить уровень экспрессии рецепторов эстрогенов и рецепторов прогестерона в опухолевых клетках рака молочной железы;

- 2) изучить показатели периферической крови (количество лейкоцитов, лейкоформулу, скорость оседания эритроцитов) у женщин больных раком молочной железы;

- 3) на основании данных лейкограмм рассчитать некоторые лейкоцитарные индексы (ЛИИ, ЛИ, ИРО, ИК, ИСЛК, ИЛСОЭ, ИЛГ) у

пациенток с различными гормонально-рецепторными фенотипами опухолей РМЖ.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1. 1. ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Рак молочной железы является одним из наиболее распространенных видов рака, РМЖ считается второй причиной смерти во всем мире. Заболеваемость РМЖ возросла как в развитых, так и в развивающихся странах в результате увеличения подверженности факторам риска и продолжительности жизни. По данным российской статистики рак молочной железы занимает первое место среди злокачественных новообразований среди женщин (20,9%). При злокачественных новообразованиях молочной железы в 18 регионах России отношение показателей одногодичной летальности и запущенности (IV стадия) больше или равно 0,9. Также отмечается высокий показатель запущенности заболевания (27,7%). [Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году, 2020].

Регионами высокого риска являются преимущественно развитые страны мира: Северная Америка, Австралии, Швейцарии, где коэффициент заболеваемости на 100000 человек составляет 92-101. Риск возникновения РМЖ значительно ниже в менее развитых регионах Африки, Юго-Западной Азии. Япония и демонстрируют самый низкий уровень и медленный рост заболеваемости РМЖ, коэффициент заболеваемости в этих странах составляет 27-28 на 10000 человек. В России каждый 5-й случай заболеваемости онкологическими патологиями приходится на женщин с раком молочной железы, коэффициент заболеваемости составляет 32 [Каприн, Старинский, Петрова, с. 5-9; Федоров с. 138-141.].

Согласно статистическим данным, уровень заболеваемости злокачественными новообразованиями в Тюменской области в 2018 году

составил 427,95 на 100 000 населения, темп прироста показателя в сравнении 2008 г. составил +8,5%, в сравнении с 2017 годом +8%. В 2018 г. на территории Тюменской области (без автономных округов) зарегистрировано 6 412 случаев злокачественных новообразований (в трудоспособном возрасте 1 824 заболеваний), в том числе 3 171 у мужчин и 3 241 у женщин.

Удельный вес морфологически подтвержденных диагнозов злокачественных новообразований в 2018 году составил 91,23%, что выше показателя за 2017 год на 0,8%

Показатель смертности от злокачественных новообразований за 2018 год составил 143,6 на 100 тыс. населения, что ниже «грубого» показателя смертности от ЗНО в сравнении с 2008 годом на 21,9% (в 2008 году -184,0), в сравнении с 2017 годом +4,3%. Смертность от злокачественных образований молочной железы в Тюменской области на 2018 год составила 149 на 100 тыс. населения. В 2018 году в структуре злокачественных заболеваний РМЖ занимает третье место (10,4%).

Этиология РМЖ мультифакторна. Помимо генетической предрасположенности, ведущим фактором развития РМЖ является возраст. Самые высокие показатели заболеваемости приходятся на возраст от 50 до 64 лет. Эпидемиологические данные указывают на связь заболеваемости РМЖ с антропометрическими показателями тела, кроме того риск развития РМЖ выше у женщин высокого роста. Высокий коэффициент заболеваемости наблюдается у женщин с избыточной массой тела и находящихся в постменопаузе. Наличие сопутствующих заболеваний у женщин (ожирение, гипертоническая болезнь, сахарный диабет, заболевания щитовидной железы, дисгормональные гиперплазии молочных желез) статистически достоверно увеличивает риск развития РМЖ. Почти 70% злокачественных новообразований провоцируются экзогенными факторами. В случае развития РМЖ эти показатели достигают 90–95%. Среди внешних факторов развития РМЖ особенно выделяют экологические (ионизирующую радиацию,

курение, химические канцерогены, солнечное излучение) [Французова, с. 70, Выхристюк, Ройтберг, Дорош, с. 52-55].

Гены BRCA1 и BRCA2 являются двумя наиболее распространенными генами при аутосомно-доминантной и высокопроницаемой форме рака молочной железы и рака яичников. Гены BRCA1 и BRCA2 продуцируют белки гена-супрессора опухоли (TSG), так что два гена называются TSGs. Ген BRCA1 расположен на chr17q, и любые изменения или мутации в этом гене могут привести к повышенному риску развития рака молочной железы, яичников и предстательной железы. Ген BRCA2 расположен на chr13q, который является одной из акроцентрических хромосом у мужчин, и любые изменения или мутации в этом гене могут привести к повышенному риску развития рака молочной железы, яичников и предстательной железы.

Эти два гена действуют как супрессоры клеточного роста и продуцируют белки TSG. Белок BRCA1 содержит 1863 аминокислоты, и до сих пор в этом гене было зарегистрировано 300 мутаций. Белок BRCA2 содержит 3418 аминокислот. Эти белки также называются антионкогенами и помогают клетке восстанавливать поврежденную ДНК и обеспечивать сохранение генетического материала. Поэтому, если один из этих двух генов поврежден, поврежденная ДНК не будет восстановлена, что может привести к еще большим изменениям и мутациям в клеточной ДНК и в конечном итоге привести к раку. В этих двух генах TSGS может произойти феномен потери гетерозиготности. Это явление происходит у человека, у которого есть проблема с одним специфическим аллелем TSG; другими словами, этот человек гетерозиготен по этому гену. Феномен потери гетерозиготности у этого человека может возникнуть и привести к мутации другого здорового аллеля. Таким образом, производительность TSG будет нарушена, и клетка будет склонна к развитию опухоли и в конечном итоге приводит к раку. Ген BRCA2 был обнаружен как второй предрасполагающий к раку молочной железы ген. Этот ген играет важную роль в репарации неповрежденных двухцепочечных разрывов ДНК и регуляции транскрипции. Ген BRCA2 в

здоровых клетках обеспечивает стабильность ДНК-клеток и контролируемый рост клеток. Мутация гена BRCA1 вызывает вероятность развития рака молочной железы у женщин на 60-80%, а также повышенную вероятность развития рака яичников у женщин и рака предстательной железы у мужчин. Мутации зародышевой линии BRCA2 наблюдаются примерно в 35% семей с ранним раком молочной железы у женщин, а также вызывают повышенный риск развития рака яичников у женщин и рака молочной железы у мужчин [S. G. Ayub, S. et al. 749–753].

Развитие рака молочной железы включает в себя прогрессирование через промежуточные стадии вплоть до инвазивного рака и, наконец, до метастатического заболевания. Учитывая изменчивость в клиническом прогрессировании, идентификация маркеров, которые могли бы предсказать поведение опухоли, особенно важна при раке молочной железы. Определение опухолевых маркеров является полезным инструментом для клинического ведения больных раком, помогая в диагностике, постановке стадий, оценке терапевтического ответа, выявлении рецидивов и метастазирования и разработке новых методов лечения [Дергунова, Родионов, Кометова, с. 13-16, Черенков, с.235-238].

В настоящее время применяется Международная гистологическая классификация, согласно которой все формы РМЖ подразделяются на гистологические типы: (в скобках указана частота встречаемости данного типа РМЖ в %) [Международная классификация болезней, 2017].

1. Инвазивный протоковый рак (смешанного типа, плеоморфный и проч.) (59%).
2. Инвазивный дольковый рак (4%).
3. Тубулярный рак (4%).
4. Медуллярный рак (8%).
5. Слизистый рак (7%).
6. Воспалительный рак (4%).
7. Другие формы РМЖ (14%).

Опухоли молочной железы классифицируются гистологически в соответствии с местом происхождения. Опухоли протоков развиваются в протоках молочной железы и составляют 80% опухолей. Дольковые опухоли развиваются внутри долей и составляют от 10 до 15% случаев. Другие подтипы составляют менее 10% случаев, диагностируемых в год [Vargo-Gogola, Rosen, p. 672]. Пациенты с инвазивным протоковым раком имеют более высокое поражение лимфатической системы и худший прогноз, чем менее распространенные виды рака молочной железы [Ketterhagen, Quackenbusch, Haushalter, pp. 120–123]. Широко используемой системой стадирования является классификация злокачественных опухолей по опухолевым узлам-метастазам (TNM), как это рекомендовано Союзом по международному противораковому контролю (UICC), которая представляет собой анатомическую систему, которая регистрирует распространение первичной опухоли, отсутствие или наличие метастазов, а также отсутствие или наличие отдаленных метастазов. Оценка этих параметров позволяет определить стадию от 0 до IV [Sobin, Wittekind, pp. 492].

Развитие рака молочной железы включает прогрессирование через ряд промежуточных процессов, начиная с протоковой гиперпролиферации, с последующей последующей эволюцией до карциномы *in situ*, инвазивной карциномы и, наконец, до метастазирования [Большакова, с.173–218]. Учитывая изменчивость в клиническом прогрессировании заболевания, идентификация маркеров, которые могли бы предсказать поведение опухоли, особенно важна при раке молочной железы. Кроме того, определение опухолевых маркеров является полезным инструментом для клинического ведения больных раком, помогая в диагностических процедурах, постановке, оценке терапевтического ответа, обнаружении рецидивов и отдаленных метастаз и прогнозов, помогая в разработке нового лечения модальности [Международная классификация болезней, 2017].

Предсказательные и прогностические факторы являются основополагающими критериями для выбора тактики лечения и

прогнозирования исхода заболевания. К наиболее значимым прогностическим факторам относят возраст, наличие или отсутствие метастазов, стадию, уровень экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона, маркера пролиферативной активности Ki 67, рецепторов факторов роста HER 2/neu в опухолях РМЖ [Пожарисский, Леенман, с. 3–1]. Возраст пациента определяет прогноз течения заболевания. У очень молодых пациентов с раком молочной железы (в возрасте до 35 лет) обычно негативный гормонально-рецепторный статус, у таких женщин более агрессивная опухоль. Это приводит к сокращению безрецидивного интервала и общей выживаемости. Пациенты старше 65 лет имеют также низкую относительную выживаемость, поскольку их заболевание диагностируется на более поздней стадии, и у них чаще возникают сопутствующие заболевания и расхождения в лечении. Женщины в возрасте 45-49 лет имеют наилучший прогноз. Гистологическая форма РМЖ также является основополагающим фактором прогноза заболевания. Так, например, пациенты с инвазивным протоковым РМЖ больше подвержены развитию метастазов в лимфоузлы и внутренние органы по сравнению с пациентами, имеющими дольковый тип РМЖ. [Zaha, Carmen, pp.382-392]. Наряду с вышеперечисленными факторами, к важным критериям прогноза относят размер первичной опухоли. Благоприятнее исход заболевания наблюдается у пациентов, имеющих опухоли размером до 1 см. и менее. [Поддубная, Каприн, Лядова, с. 35; Гуревич, Казанцева, Корсакова, с. 27-34].

Некроз опухоли является признанным неблагоприятным прогностическим фактором. Некроз опухоли часто сочетается с другими прогностическими факторами у пациентов с инвазивным раком молочной железы, такими как более молодой возраст пациента, больший размер опухоли и лимфоваскулярная инвазия. Опухоли с центральным некрозом или комедонекрозом ассоциируется с более ранним рецидивом заболевания и снижением 5-летней выживаемости.

В настоящее время выявлены различные гены, белки и другие соединения, которые рассматриваются в качестве дополнительных прогностических факторов у больных злокачественными опухолями [Леонтьев, с. 18–22]. Согласно данным Рабочей группы Национального института здравоохранения США (НИИ) и Консорциума биомаркеров, молекулярный маркер является характеристикой, которая объективно измеряется как индикатор патогенных или нормальных биологических процессов или фармакологического ответа на терапевтическое вмешательство. Определение молекулярно-биологических маркеров в ткани опухоли может давать дополнительную информацию о биологическом поведении опухоли: о скорости ее роста, способности к инвазии и метастазированию, устойчивости к химиопрепаратам. Биомаркеры определяются непосредственно в опухолевых клетках и характеризуют индивидуальные особенности опухоли, а также специфику ее течения и регуляции [Герштейн, Кушлинский, 2004. с. 43]. Основные практические задачи в диагностике рака молочной железы, которые решаются путем определения молекулярных маркеров это, во-первых, выявление группы риска среди больных с ранними стадиями, не подлежащих адъювантной терапии по клиническим и другим лабораторным показаниям, во-вторых, оценка чувствительности к определенным видам терапии и (или) индивидуализация схем адъювантного лечения больных с распространенным процессом [Ганусевич, Нестерович, Федоркевич, с. 133-134]. Еще одним немаловажным критерием практического использования результатов изучения молекулярно-биологических характеристик РМЖ может быть разработка новых препаратов, направленно воздействующих на исследуемые белки (или гены) и блокирующих регулируемые ими процессы [Герштейн, Кушлинский, 2005. с. 68].

Известно, что рак молочной железы представляет собой сложное и гетерогенное заболевание, которое включает в себя различные патологии, гистологические особенности и клинический исход. Также хорошо

установлено, что эта неоплазия имеет четко определенные молекулярные подгруппы, основанные на профиле экспрессии генов, тесно связанном с поведением этих молекулярных подтипов. Сотириу и Пуштаи [Sotiriou, Pusztai, p. 765] указали, что результаты исследований профилирования экспрессии генов изменили представление о раке молочной железы и предоставили новый инструмент для молекулярной диагностики. Фактически, статус рецептора эстрогена (РЭ), рецептора прогестерона (РП) и рецептора эпидермального фактора роста человека типа 2 (HER2/neu) использовался в качестве прогностических маркеров для идентификации фенотипа высокого риска и для выбора наиболее эффективных методов лечения [Харитоновна, Смирнова, Киселева, с. 55–65].

1.2. РЕЦЕПТОРЫ СТЕРОИДНЫХ ГОМОНОВ И ИХ РОЛЬ В РАЗВИТИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ, КЛИНИКО-ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Члены суперсемейства рецепторов стероидных гормонов, к которым относятся и рецепторы эстрогенов, прогестерона и андрогенов представляют собой факторы транскрипции, которые, взаимодействуя с гормонами, активируют транскрипцию, связываясь с последовательностью ДНК, называемыми гормон-зависимыми элементами промоторов, или гормон-чувствительных генов [Бассалык, с. 187].

Члены суперсемейства стероидных гормонов схематично представлены на рисунке 1, на примере эстрогеновых рецепторов. Первичная структура этих белков очень похожа, что позволяет предположить общий механизм действия.

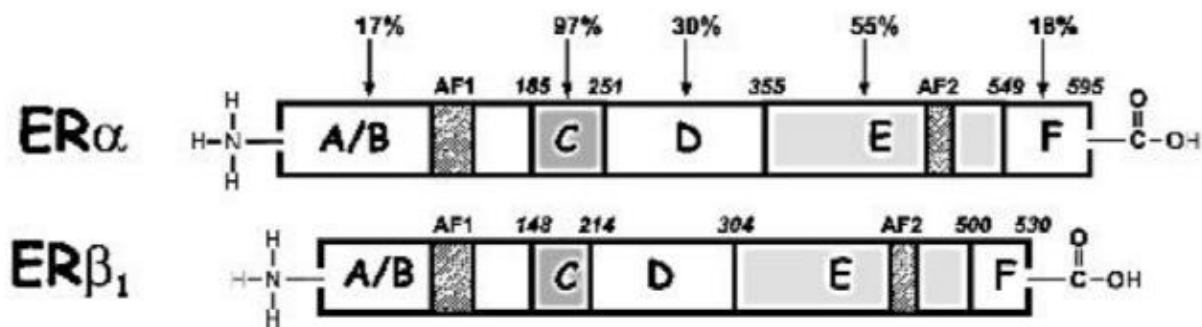


Рис. 1. Структура эстрогеновых рецепторов

Рецепторы стероидных гормонов имеют несколько доменов: аминокислотный терминальный домен (N-терминальный домен, A/B), является самым изменчивым, гипервариабельным доменом, способным активировать транскрипцию; центральный, высококонсервативный ДНК-связывающий домен (C); длинный C-концевой лигандсвязывающий домен (E); карбокситерминальный домен (F); а также две коактиваторные функции: активаторная функция 1 (activationfunction 1, AF1) и активаторная функция 2 (activationfunction 2, AF2), расположенные в области аминокислотного терминального домена и лиганд-связывающего домена, соответственно. Домен D считается скрепляющим между N – терминальным доменом и F-доменом. Домен E является вариабельной областью, содержащей последовательность аминокислот, образующую в пространстве сложный карман, в котором 11 α -спиральных структур (называемых спиралью 1 и 3-12) создают высокоаффинный сайт взаимодействия эстрогенами. Консервативный домен E узнает и связывает гормональный лиганд, а также осуществляет взаимодействие с нерецепторными белками, входящими в состав олигомерного неактивированного комплекса.

Карбокситерминальный домен имеется только у РЭ, и не наблюдается у других членов семейства ядерных рецепторов. Он играет важную роль во внутримолекулярном взаимодействии РЭ, определяет стабильность белков РЭ [Довжикова, Андриевская, с. 121-123]

Значительная часть опухолей молочной железы является гормонально-зависимыми, то есть их рост поддерживается и стимулируется эстрогенами и прогестероном. Опухоли с положительным гормональным рецепторным статусом хорошо отвечают на терапию аналогами гормонов (тамоксифен), которые блокируют соответствующие рецепторы – связываются с ними, но не вызывают активации внутриклеточных процессов и не дают рецептору впоследствии связаться с гормоном.

Приблизительно у более чем одного миллиона женщин ежегодно диагностируется рак молочной железы, и примерно 700 000 из них имеют положительные (+) гормональные рецепторы [Piccart-Gebhart, p.49].

Наиболее изученные маркеры - это рецепторы эстрогена (РЭ) и прогестерона (РП). Они представляют собой белковые молекулы в злокачественных клетках. РЭ (рецептор эстрогена) - это биомаркер, который является прогностическим фактором в диагностике рака молочной железы и предсказывает реакцию на гормональную терапию. Рецептор эстрогена представляет собой рецептор ядерного гормона с ядерным окрашиванием в клетках злокачественного рака молочной железы и обычно имеет более высокие уровни экспрессии в люминальном типе А по сравнению с другими. В большинстве случаев РМЖ наблюдается положительная экспрессия РЭ, главным образом в люминальных тканях, где люминальный подтип А имеет высокий уровень экспрессии. РП (рецептор прогестерона) является биомаркером, который является прогностическим для рака молочной железы и предсказывает ответ на гормональную терапию [Завьялова, с. 38–41]. Рецептор прогестерона - это ядерный гормон с ядерным окрашиванием в злокачественных клетках рака молочной железы. Было установлено, что РП модулирует поведение белка рецептора эстрогена и препятствует росту РЭ-позитивных опухолей, что совпадает с обычно лучшим прогнозом РЭ +, РП + рака молочной железы по сравнению с другими подтипами [Mohammed, Nisham, pp. 315-317].

Возникновение экспрессии РЭ и РП связано с гистологическим типом рака молочной железы. Дольковый и протоковый рак характеризуются высокой экспрессией рецепторов эстрогена и прогестерона. При этих типах рака рецепторы присутствуют в большем проценте случаев, чем при других карциномах.

Определение уровня экспрессии РЭ и РП является стандартным исследованием, которое позволяет оценить роль гормонотерапии в каждом конкретном случае, а также определить риск рецидива. Рак молочной железы, классифицированный по положительной иммуногистохимической экспрессии ЭР и РП, имеет различные клинические, патологические и молекулярные характеристики [Долгова, Меньшикова, с. 658-660]. Постулируется, что факторы риска тесно связаны с опухолями молочной железы РЭ + и РП + и могут включать механизмы, связанные с воздействием эстрогена и прогестерона, тогда как этиология рака молочной железы РЭ- и РП- должна быть независимой от воздействия гормонов. Определение РЭ и РП является ключевым параметром в определении гормончувствительности опухоли. Опухоли, содержащие высокий уровень экспрессии РЭ и РП в 50-60% случаев положительно реагируют на гормональную терапию, имеют благоприятный прогноз. Чем выше содержание РЭ и РП при раке молочной железы, тем больше вероятность ответа на гормональную терапию. Примечательно, что при отсутствии экспрессии одного из стероидных гормонов в опухоли, чувствительность к гормональной терапии значительно снижается [Колядина, Поддубная, Франк, с. 49]. Большое прогностическое значение имеет и отсутствие рецепторов на опухолевых клетках, особенно когда это касается всех рецепторов. В настоящее время 10% рецептор-позитивных раковых клеток считается достаточным для оценки опухоли как потенциально чувствительной к эндокринной терапии. По этому критерию выделяют три группы: высокочувствительные к эндокринной терапии (экспрессия обоих типов рецепторов), недостаточно чувствительные (низкий уровень экспрессии рецепторов или отсутствие

одного из них), нечувствительные (отсутствие рецепторов эстрогенов или прогестерона). Эффективность гормонотерапии в случае отсутствия РЭ и РП не превышает 10%, таким пациентам целесообразно применение более агрессивной химиотерапии цитостатиками. Важно отметить, что экспрессия РЭ и РП при раке молочной железы является динамичной и обратимой. Около 50% пациентов с эстроген-позитивными первичными опухолями молочной железы, рецидивирующими после адъювантной эндокринной терапии, имеют рецидивирующие опухоли, в которых экспрессия РП теряется. И наоборот, некоторые РЭ-негативные опухоли молочной железы, которые лечат ингибиторами рецепторов фактора роста, могут реэкспрессировать РЭ и реагировать на эндокринную терапию [Wilcken, Hornbuckle, Ghersip. 411-417]. РЭ и РП тесно связаны с возрастом пациента на момент постановки диагноза и постоянно возрастают с возрастом.

Рецепторы стероидных гормонов, не связанные с лигандом, находятся в неактивном состоянии. Они представляют собой крупные комплексы с белками теплового шока (БТШ) и вспомогательными белками AP1, SP1. При связывании гормонов с рецепторами происходят активные внутриклеточные процессы. Активация рецептора происходит путем связывания БТШ с лигандом. После активации рецептор становится способным к связыванию с ДНК и димеризации, также активация рецептора приводит к усилению транскрипции. Существует предположение, что именно БТШ являются ингибиторами реакции активации рецепторов в связи с тем, что активация рецепторов происходит после отсоединения БТШ из комплекса с рецептором. У стероидных гормонов передача сигнала состоит из нескольких этапов. На первом этапе гормон проникает в клетку. На втором этапе гормон контактирует с соответствующим ядерным рецептором. Далее осуществляется транслокация комплекса «гормон–рецептор» в ядро, где происходит его связывание со специфическим участком ДНК. Данные

события приводят к синтезу специфических гормонзависимых белков и соответствующим эффектам [Yaşar, Ayaz., User, pp. 8-9].

Существуют различные гормонально-опосредованные сигнальные механизмы: прямая и непрямая геномная сигнализация.

Прямая геномная передача сигналов известна как классический механизм передачи сигналов стероидных гормонов. В этом процессе ядерные рецепторы гормонов действуют как активируемые лигандом факторы транскрипции. При связывании гормонов с рецепторами в цитоплазме происходит конформационное изменение, вызывающее димеризацию рецептора. Этот комплекс затем перемещается в ядро, где он связывается с хроматином в последовательностях рецепторов, энхансерных областях внутри промоторов или рядом с ними.

Непрямая геномная сигнализация. Транскрипция нескольких генов, не содержащих рецепторов гормонов в своих промоторных областях, также может регулироваться этим гормоном без прямого связывания рецепторов эстрогенов с ДНК. Например, по последним данным, около 35% генов, нацеленных на эстроген, не имеют подобных РЭ - последовательностей. В них механизмы, посредством которых эстроген влияет на экспрессию генов, в совокупности известны как непрямая геномная сигнализация и основаны на активации экспрессии генов рецепторами эстрогена, не связывающими ДНК напрямую. Скорее, рецепторные комплексы эстрогена действуют через белок-белковые взаимодействия с другими факторами транскрипции и элементами ответа. Таким образом, непрямая сигнализация гормонов влияет на активацию или подавление экспрессии генов-мишеней. Таким образом, перечисленные выше процессы стимулируют ответ клетки-мишени на действие гормонов и как следствие приводят к биосинтезу рецепторов и специфичных белков.

Общепринятым физиологическим путем контроля экспрессии рецепторов стероидных гормонов - это концентрация гормона. Основные рецепторы стероидных гормонов саморегулируют свой синтез в клетке.

Также известно, что способностью к регуляции синтеза гормонов обладают не только одноименные гормоны из одного суперсемейства. Например, в опухолях рака молочной железы прогестерон замедляет синтез рецепторов эстрогенов, а эстрогены наоборот, способствуют ускоренному синтезу рецепторов прогестерона. [Довжикова, Андриевская, с. 121-123]. Регуляция синтеза рецепторов стероидных гормонов в клетке тканеспецифична, сложна и пока полностью не изучена.

Рецептор прогестерона состоит из 3 функциональных и структурных доменов: N-концевого (модулирующего) домена; ДНК-связывающего домена, который опосредует специфическое связывание с целевыми последовательностями ДНК (лиганд-чувствительными элементами); и гормонально-связывающего домена. N-концевой домен уникален для рецепторов прогестерона и охватывает приблизительно первые 500 остатков; высококонсервативный ДНК-связывающий домен меньше (около 65 остатков) и занимает центральную часть белка; а гормон-связывающий домен лежит на конце рецептора С.

Рецептор прогестерона, также известный как NR3C3 или ядерный рецептор подсемейства 3, группа С, член 3, является белком, находящимся внутри клеток. Активируется стероидным гормоном прогестероном. Прогестероновый рецептор существует в двух формах, А и В, которые различаются по своей молекулярной массе и возникают из одного и того же гена при использовании двух промоторов. Эти два рецептора идентичны в С-концевом лигандсвязывающем домене и ДНК-связывающем домене, а также в большей части аминоконцевого домена.

Ряд исследователей считает, что две субъединицы рецептора прогестерона обладают различными функциями, например, известно, что решающее значение в развитии молочной железы имеет изоформа В. Напротив, изоформа А имеет решающее значение в матке и яичниках. Обе субъединицы могут действовать как гомодимеры, так и гетеродимеры и коэкспрессируются на эквивалентных уровнях в одной и той же клетке в

нормальных эпителиальных клетках человека. При раке молочной железы эквивалентная экспрессия прогестеронового рецептора часто нарушается, что приводит к преобладанию одной формы, обычно А.

При определении содержания РЭ и РП в доброкачественном эпителии молочных желез, неинвазивном и инвазивном РМЖ была выявлена обратная связь между уменьшением частоты встречаемости РЭ+РП+ фенотипа и вероятностью малигнизацией. Другими словами, в доброкачественном эпителии молочной железы РЭ+РП+ и РЭ-РП+ могут служить маркером низкого риска озлокачествления, в то время как РЭ+РП- и РЭ-РП- могут быть оценены как фенотип высокого риска последующей дедифференцировки ткани и возможной ее малигнизации [Гордеева, Жукова, Колядина, с. 78-81].

Тканевые маркеры рака молочной железы определяются в самой опухолевой ткани и отражают характер ее поведения, агрессивность течения заболевания. Клеточные опухолевые маркеры являются полезными инструментами в оценке прогрессирования состояния заболевания после первичной химиотерапии и лучевой терапии для мониторинга последующих стратегий лечения.

В настоящее время ученые ищут более точные маркеры в опухолях пациентов, которые могут помочь предсказать, как они будут реагировать на конкретное лечение, определить группу риска заболевания у пациентов. Исследователи рака обращаются к протеомике (изучению структуры, функции и паттернов экспрессии белков) и протеогеномике (интеграции протеомики с геномикой и анализом экспрессии генов или транскриптомикой) в надежде разработать новые биомаркеры, которые могут быть использованы для выявления рака на ранних стадиях, прогнозирования эффективности лечения и прогнозирования вероятности рецидива рака [Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году, 2020].

Оценка уровня экспрессии РЭ и РП является неотъемлемым методом повышения точности отбора пациентов для гормональной терапии, либо ее

отмены. Опухоли с высоким количественным содержанием рецепторов эстрогена и прогестерона демонстрируют самые высокие объективные показатели ответа [Бассалык, с. 87].

РЭ является одним из успешных онкомаркеров при раке молочной железы. РЭ играет роль в клеточном росте, пролиферации и дифференцировке. Помимо прогностической ценности, ЭР является важнейшим биологическим маркером ответа на лечение при раке молочной железы. Определение уровня экспрессии РЭ в ткани опухоли молочной железы полезно в качестве прогностического показателя и при определении вероятности гормональной резистентности рака молочной железы. Чем больше содержание РЭ в опухоли, тем выше частота ответа на эндокринную терапию, направленную на снижение стимуляции рецепторов, таких как тамоксифен или ралоксифен, но даже низкая позитивность может быть расценена как положительный ответ. РП является также успешным онкомаркером в диагностике рака молочной железы, который эффективно предсказывает гормональную реакцию. При злокачественных новообразованиях молочной железы и репродуктивных путей экспрессия РП является клиническим прогностическим маркером действия эстрогена, так как синтез рецепторов прогестерона индуцируется эстрогеном. Таким образом, наличие РП может свидетельствовать о функциональной активности РЭ. [Седаков, Зинкович, Шатова, С. 160-163]. Необходимо отметить, что во время терапии тамоксифеном уровни экспрессии как РЭ и РП снижаются, но уровень экспрессии РП снижаются более резко, чем РЭ, причем около 50% всех опухолей полностью теряют экспрессию РП по мере развития резистентности к тамоксифену. У пациентов с такими опухолями потеря РП приводит к более агрессивному заболеванию и ухудшению общей выживаемости, предполагая, что другие изменения в молекулярном механизме, управляющем ростом опухоли, сопровождают потерю экспрессии рецептора РП. Потеря РП в эстроген-положительных опухолях может быть маркером aberrантной передачи сигналов фактора роста,

который может способствовать резистентности к тамоксифену, приводящей к более низкой выживаемости у женщин.

Уровень экспрессии РЭ и РП оказывает прямое влияние на реакцию опухоли к гормональной терапии при метастатическом поражении лимфоузлов и внутренних органов. Так, у женщин с метастазированием и гормонально-положительными опухолями эффективность гормональной терапией составляет около 75%, при отсутствии РП эффективность составляет 50%. При метастазировании и эстроген-негативных опухолях ее эффективность снижается до 10%. Однако, положительный гормональный статус не дает гарантии к успешной гормональной терапии, известно множество случаев резистентности к гормонотерапии у пациентов с РЭ и РП-положительными опухолями, поэтому гормонально-рецепторный статус опухоли оказывается не всегда достаточным показателем гормональной чувствительности РМЖ [Демидов С.М., Демидов Д.А, Сазонов, с. 10-12].

Таким образом, женщины с системно нелеченными РЭ-положительными/РП-положительными опухолями имеют лучшие клинические исходы по сравнению с женщинами с РЭ-отрицательными/РП-отрицательными опухолями, что подтверждает прогностическую значимость рецептор-положительного фенотипа [Семиглазов, Палтуев, 43-60, Конышев, Бриллиант, Сазонов, с. 48-50].

Bardou V-J. и соавт. (2003) [Bardou, 1973-1979] пришли к заключению, что экспрессия РП напрямую связано с общей безрецидивной выживаемостью, с размером очага, возрастом, а также метастазированием. У женщин, имеющих гормонально-позитивные опухоли риск рецидива оказался на 53% ниже, нежели у пациенток с фенотипом РЭ-РП-. Риск рецидива у пациентов с фенотипом РЭ+РП- оказался на 25% ниже, чем у женщин с негативным гормонально-рецепторным статусом. Также было выявлено, что риск смерти у пациентов, имеющих только один положительный рецептор гормона на 58% выше, чем у пациентов с положительной экспрессией обоих гормонов, это свидетельствует о том, что

пациенты с гормонально-положительными опухолями РМЖ больше реагируют на гормональную терапию, чем пациенты с опухолями, положительными по одному из рецепторов. Таким образом, РП способны независимо предсказать эффективность адъювантной гормонотерапии.

Таким образом, несмотря на успехи в раннем выявлении и понимании молекулярных основ биологии рака молочной железы, проблема РМЖ еще далека от разрешения. Много еще предстоит сделать для улучшения исходов для всех пациентов с раком молочной железы, и особенно для тех, у кого рак молочной железы прогрессирует, что является сложной областью для медицинских онкологов. Текущие международные клинические испытания в настоящее время оценивают новые терапевтические подходы и выявляют конкретные биологические подгруппы, которые могут определить способность пациента реагировать на определенные химиотерапевтические препараты и гормональную терапию.

Биологическое поведение опухолей остается непредсказуемым. К проблемам РМЖ относятся неспособность прогнозировать эффективность лечения и ответ пациента, потребность в дополнительных биомаркерах, развитие резистентности к препаратам от рака, отсутствие клинических исследований, оптимизированных для определения эффективности лечения. Ожидается, что будущие достижения в области разработки новых маркеров для диагностики рака позволят преодолеть и решить многие из этих проблем. Ожидаемые инновации включают в себя более целенаправленное лечение; разработку персонализированных профилей биомаркеров; комбинированную терапию лекарственных препаратов, которая повысит эффективность и снизит токсичность; и иммунопревентивные стратегии, которые уменьшат заболеваемость раком и рецидивы [Деньгина, с. 128].

1.3. ЭНДОГЕННАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ ПРИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Эндогенная интоксикация (эндотоксикоз) – это патофизиологический процесс, который характеризуется образованием и накоплением в тканях и жидкостях организма различных соединений и метаболитов в избыточных концентрациях или формах, не свойственных нормальному метаболизму [Узбеков М.Г., С. 56–65].

В развитии рака существенную роль играет системное действие опухоли на организм. При онкологических заболеваниях важное патогенетическое значение имеет эндогенная интоксикация. Термин «интоксикационный синдром» был введен К.С. Симоняном в 1971 г. [Синовец, с. 18]. С тех пор под этим состоянием подразумевается избыточное содержание в крови токсичных продуктов и биологически активных веществ. [Медведева, с.144].

Эндогенная интоксикация при злокачественных новообразованиях является примером воздействия местного процесса на все жизненно важные системы и органы. Опухолевая интоксикация характеризуется накоплением в тканях и биологических жидкостях организма эндогенных токсических субстанций (продуктов нормального или извращенного обмена веществ или клеточного реагирования), снижением скорости анаболических реакций, усилением катаболизма белка и продукцией свободных радикалов, увеличением активности протеолитических ферментов. В результате нарушаются физиологические механизмы адаптации и компенсации, обменные процессы в клетках и тканях [Зорькина, с 56-59, Шмойлов. 65-70].

Согласно современным представлениям, одна из основных причин эндогенной интоксикации онкологических больных – тяжелые, подчас необратимые изменения в метаболических процессах, возникающие при окислительном стрессе [Горошинская, Нескубина, Сурикова, с.128-130]. Выраженность синдрома эндогенной интоксикации у онкологических

больных определяется нарушениями в нервной, эндокринной и иммунной системах, широким диапазоном биохимических изменений в организме и расстройством естественных механизмов детоксикации.

Тяжесть проявлений эндогенной интоксикации у больных раком молочной железы обусловлена течением основного заболевания (в зависимости от стадии заболевания) и применяемым методом специального лечения: хирургическим, химиотерапией, лучевой терапией [Павлова, с. 36-38].

Характерным для недоброкачественного новообразования является стремительный инфильтрационный рост опухоли, который нуждается в высоком количестве жиров, протеинов, сахаридов. В большинстве случаев рост объема опухоли и нехватка кровеносных сосудов становятся причиной развития гипоксии мутированных тканей.

Недостаток кислорода приводит к местному отмиранию раковых клеток. Данные вещества, проникая в кровеносную систему, проявляют токсическое воздействие на организм в целом. Как правило, процесс интоксикации может запускаться после проведения химиотерапии. Раковая интоксикация выступает основным фактором летального исхода на поздних стадиях заболевания. Вследствие распада опухоли нуклеотиды метаболизируются в печени с образованием мочевой кислоты. В крови резко возрастает уровень мочевой кислоты, фосфора, калия и некоторых других веществ. Наряду с перечисленными расстройствами при синдроме распада опухоли развивается лактацидоз, обусловленный нарушением функций печени вследствие поражения отдаленными метастазами и/или токсического воздействия продуктов распада неоплазии на клетки органа [Семенова А. И., С. 101-106].

По мнению М. М. Дмитриенко, использование расчетных гематологических индексов интоксикации является важным пунктом при объективной оценке состояния пациента и степени выраженности эндогенной интоксикации [Дмитриенко, с. 145-149].

Среди признаков эндотоксикоза высокой информативностью и диагностической значимостью обладает увеличение лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ), который определяют по формуле Я.Я.Кальф-Калифа. Лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ), позволяет дать адекватную оценку по степени и выраженности интоксикационного процесса внутри организма [Мустафина, с. 47- 49, Кальф-Калиф, с. 31-35].

Однако ЛИИ не учитывает общее количество лейкоцитов, так же индекс не учитывает гемоглобин и эритроциты, которые позволяют судить об ответной реакции организма на тяжесть от эндогенной интоксикации. В связи с этим в настоящее время получил большее значение модифицированный лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИм), предложенный В.К.Островским (1983). Данный индекс более приемлем и достоверен, так как использует соотношение уровня всех клеток крови, повышающегося и снижающегося при воспалительных заболеваниях без каких либо дополнительных коэффициентов, что объективно отражает суть происходящих процессов [Ходус, Пустовит, Аникинн, с.82-85].

ЛИИ выражается через разные степени эндогенной интоксикации. Так в пределах высокой степени, лейкоцитарный индекс указывает на уже критический уровень эндогенной интоксикации, который сопровождается необратимым некрозом и клеточным апоптозом. При легкой же степени интоксикации, характерны ограниченные одиночные и при этом кратковременные сигналы об инфекционном процессе, а также наличие мелких очагов некроза. Следует указать на прогностическое значение данного индекса: при правильной лечебной тактике ЛИИ снижается, и наоборот — увеличение ЛИИ, даже при положительной динамике общего состояния больного говорит о недостаточной эффективности лечения [Островский, с.50-53].

Индекс Кребса является одним из наиболее изученных параметров при раке молочной железы. В частности, Ozyalvacli et al наблюдали, что отношение нейтрофилов к лимфоцитам было увеличено у пациентов с раком

молочной железы по сравнению с пациентами с доброкачественным пролиферативным заболеванием молочной железы. Кроме того, Dirican et al сообщили, что пациенты с раком молочной железы с низким отношением нейтрофилов к лимфоцитам имеют более длительную безрецидивную и общую выживаемость, чем те, кто имеет высокое отношение нейтрофилов к лимфоцитам. Пациенты с высоким отношением нейтрофилов к лимфоцитам до лечения имеют более высокие 5-летние показатели смертности, чем пациенты с низким отношением нейтрофилов к лимфоцитам до лечения [A. Dirican et al.70-81].

Изучение показателей, отражающих степень интоксикации организма, находят широкое применение в разработке патогенетических основ для ранней диагностики и профилактики токсических проявлений в организме онкологического больного. Показатели эндотоксикоза позволяют оценить активность воспаления, выраженность токсикоза, состояние неспецифической реактивности организма, обладая диагностической и прогностической значимостью [Кузнецов П.Л., Борзунов В.М., С. 44-50]. Анализ лейкоцитарных элементов крови, с помощью неспецифической адаптационной реакции организма, позволяют более быстро и точно определять изменение адаптационной реакции по периферической крови, с учетом того, что получение лейкограммы происходит с помощью высокоточных гематологических анализаторов [Гаркави, с. 11-26].

В настоящее время в литературе нет однозначных выводов о том, что какие показатели или система показателей являются общедоступными и эффективными для оценки тяжести состояния, прогноза и оценки эндогенной интоксикации у онкологических больных, в частности у больных РМЖ поэтому выбор параметров, имеющих диагностическую значимость для распознавания выраженности ЭИ и оценки состояния больного в различных клинических ситуациях продолжает оставаться одной из актуальных задач клинической онкологии [Гаркави, с. 341-348].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 МАТЕРИАЛ ИССЛЕДОВАНИЯ

При выполнении настоящего исследования в обследуемую группу были включены 236 пациенток ГАУЗ ТО МКМЦ «Медицинский город», которым в период с января 2019 г. по февраль 2021 г. был поставлен диагноз РМЖ. Все женщины были разделены на группы по возрасту – 36-55 лет – 119 человек и 56-74 года – 117 человек.

Всем пациенткам проводилось комплексное обследование: осмотр врача-онколога, выполнение рентгенографического и ультразвукового исследования молочных желез. Для выяснения характера новообразования молочной железы выполнялось цитологическое исследование (тонкоигольная аспирационная биопсия) и гистологическое исследование (трепан-биопсия или операционный материал). При необходимости выполнялась остеосцинтиграфия.

Приготовление парафиновых блоков, срезов, окрашивание препаратов гематоксилином-эозином по стандартной методике и последующая

верификация диагноза проводилась специалистами патолого-анатомических лабораторий этого лечебного заведения с последующим пересмотром гистологических препаратов и подтверждением диагноза РМЖ в лаборатории ГАУЗ ТО МКМЦ «Медицинский город».

Иммуногистохимическое определение РЭ, РП проводилось в лаборатории морфологических исследований ГАУЗ ТО МКМЦ «Медицинский город».

2.2 МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.2.1 ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНОВ, ПРОГЕСТЕРОНА В КЛЕТКАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Стандартным методом определения уровня экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона, является иммуногистохимический.

Иммуногистохимия - это метод обнаружения антигенов или гаптен в клетках среза ткани путем использования принципа специфического связывания антител с антигенами в биологических тканях. Связывание антитела-антиген можно визуализировать по-разному. Ферменты, такие как пероксидаза хрена или Щелочная фосфатаза, обычно используются для катализа реакции получения цвета. Иммуногистохимическое исследование широко используется во многих исследовательских и клинических лабораториях, поскольку этот метод позволяет визуализировать распределение и локализацию определенных клеточных компонентов внутри клеток и в определенной тканевой локализации.

В исследовании использовался авидин-биотин пероксидазный метод (АВС). Метод АВС включает в себя большой гликопротеин, называемый авидином, который обладает очень высоким сродством к низкомолекулярному витамину, называемому биотином. Авидин может быть помечен пероксидазой или флуоресцеином. Биотин может быть конъюгирован с антителами. Методика методики заключается в использовании немеченого первичного антитела, биотинилированного вторичного антитела и комплекса авидин-биотиновая пероксидаза. Авидин является четырехвалентным, поэтому каждая молекула авидина может связывать до четырех биотинилированных конъюгатов. В АВС-методе авидин и биотинилированный фермент объединяют в крупные макромолекулярные комплексы, содержащие несколько молекул фермента. Эти добавленные комплексы связываются с любой биотинилированной мишенью, такой как первичные или вторичные антитела, нуклеиновые кислоты, лектины и макромолекулы. При нанесении хромогенного ферментного субстрата в месте реакции образуется окрашенный осадок. Пероксидаза хрена с перекисью водорода катализирует окисление 3,3-диаминобензидина (ДАБ) с образованием коричневого продукта. Большие мультиферментные комплексы АВС-метода усиливают сигнал, обеспечивая большую чувствительность.

Первая стадия ИГХ - это введение первичного антитела, которое специфически связывается с антигеном-мишенью. Далее добавляют меченные биотином вторичные антитела и они связываются с первичными антителами, которые теперь выступают в качестве антигена. Затем вносятся раствор авидина меченный пероксидазой хрена, которая конъюгируется с антителом. Наконец, субстрат образует нерастворимый цветной осадок, который можно визуализировать под микроскопом. Основным широко используемым хромогеном является DAB (коричневый).

При выполнении настоящего исследования использовался авидин-биотиновый метод визуализации антител. Использовались первичные

антитела фирмы «ДАКО» (Дания). В качестве системы визуализации использовались ABC-Kit (universal) фирмы «Novocastra». Для выявления цветового окрашивания результата реакции использовался DAB фирмы «Pharmingen».

Проведение иммуногистохимической реакции требовало приготовления тонких срезов из парафиновых блоков. Этот этап проводился с помощью ротационного микротомы HM 355S производства Thermo Fisher Scientific (Рисунок 2).

Приготовление парафиновых блоков с тканью опухолей является первым этапом иммуногистохимического исследования. Поскольку парафин не смешивается с водой, ткань должна быть обезвожена перед добавлением расплавленного парафина. Обезвоживание ткани и приготовление парафиновых блоков проводили в следующем порядке:

1. Погрузили ткань в 70% этиловый спирт три раза по 30 минут при комнатной температуре.
2. Погрузили ткань в 90% этанол два раза по 30 минут при комнатной температуре.
3. Погрузили ткань в 100% этиловый спирт три раза по 30 минут при комнатной температуре.
4. Погрузили ткань в ксилол (смешанные изомеры) три раза по 20 минут каждый при комнатной температуре.
5. Затем ткань погрузили в парафин при температуре 58 °С.
6. Затем парафиновые блоки высушивались в термостате при температуре 37 °С в течение 24 часов.

С помощью вращающегося микротомы вырезали тонкие, ровные срезы тканей толщиной, не превышающей 5 мкм, срезы расправляли в теплой дистиллированной воде.

Выявление рецепторов эстрогена и прогестерона проводилось с помощью авидин-биотинового метода с высокотемпературной демаскировкой срезов.

1. На предметное стекло размещали срезы и последовательно опускали в растворы: 1 – ксилол (5-10 мин); 2 – ксилол (5-10 мин); 3 - спирт 95% (5 мин); 4 - спирт 95% (5 мин); вода (2 мин).

2. Демаскировка антигена проводилась в скороварке с кипящим 0,01 М цитратным буфером с рН 6 в течение 2 минут.

3. Затем стекла извлекались из скороварки и промывались дистиллированной водой в течение 1 минуты, а для остывания срезов стекла помещали в промывочный трис-NaCl-буфер на 10 минут.

4. Для блокирования эндогенной пероксидазы (во избежание появления нежелательного фонового окрашивания) контейнер со стеклами помещали в свежеприготовленный 3%-й раствор перекиси водорода на 10 минут, после чего промывали в трех-четыре сменах дистиллированной воды по 5 минут в каждой и в двух сменах трис-NaCl-буфера по 5 минут в каждой.

5. Далее предметные стекла вынимали из буфера и наносили нормальную неиммунную сыворотку с последующей инкубацией при комнатной температуре в течение 30 минут.

6. После этого излишки сыворотки стряхивали и нанесли первичные антитела так, чтобы полностью покрыть участок ткани. Для исследования мы использовали антитела к РЭ - RTU-ER- 6F11 («Novocastra»); к РП - RTU-PGR-312 («Novocastra»). Для рабочего разведения первичного антитела использовали раствор для разведения антител - S0809 («ДАКО»). Время инкубации антител к рецепторам эстрогенов и рецепторам прогестерона — 30 минут. Инкубировали антитела к РЭ и РП во влажной камере при температуре 37°C. в течение 30 минут.

7. По окончании инкубации с первичными антителами срезы промывали трис-NaCl-буфером. Затем на срезы наносили АВС-комплекс: Primary Antibody Amplifer Quanto (10 мин.), HRP Polymer Quanto (10 мин.), DAB Chromogen Quanto (5 мин.). Стекла со срезами промывали в трис-NaCl-буфере.

8. Затем промыли дистиллированной водой в течение 5 минут 3 раза и докрашивали гематоксилином эозином: гематоксилин (30 сек); вода (30 сек); спирт этиловый 95% (30 сек); спирт этиловый 95% (30 сек); ксилол (30 сек); ксилол (30 сек).

Анализ результатов проводили при помощи микроскопа. Использовали объектив с увеличением 10 или 20 и окуляр с увеличением 10.

Экспрессию рецепторов эстрогенов и прогестерона оценивали в процентах окрашенных ядер.

Все рутинные операции по проводке и окраске препаратов проводились на полностью автоматизированных лабораторных комплексах:

1. Станция для заливки парафином ЕС 350 комбинированная, производитель Thermo Fisher Scientific (Рисунок 3)

2. Автостейнер 360 производства Thermo Fisher Scientific (Рисунок 4). Процесс окраски заключается в последовательных циклах инкубации реагентов и промывки на предметных стеклах, находящихся в горизонтальном положении в штативах. Автостейнер 360 также предназначен для депарафинизации срезов.

3. Устройство для демаскировки срезов Модуль Lab Vision PT Module производства Thermo Fisher Scientific (Рисунок 5).

4. Устройство для окрашивания предметных стекол MicromHMS 740 производства Thermo Fisher Scientific (Рисунок 6).

2.2.2. МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ.

Клиническое исследование цельной крови проводилось с использованием анализатора Mindray BC-6800, Китай (Рисунок 7). Анализатор является полностью автоматическим прибором для проведения флуоресцентной проточной цитометрии с использованием тестируемого образца – цельной капиллярной или венозной крови.

Mindray BC-6800 является уникальной системой, которая позволяет лаборантам не только проводить общий анализ крови, но и определить лейкоцитарную формулу. Это же устройство способно дифференцировать лейкоциты на 5 популяций достаточно быстро. Инженеры внедрили возможность использования ряда дополнительных функций, которые значительно повышают рентабельность проводимых работ. Так, оператор может узнать результат подсчета ретикулоцитов и эритроцитов, используя различные методы. Производительность — 125 проб в час, автозагрузчик рассчитан на 100 пробирок с пробами.

Параметры, определяемые гематологическим анализатором:

- WBC – лейкоциты
- LYM – абсолютное содержание лимфоцитов
- LYM% – относительное содержание лимфоцитов
- RBC – эритроциты
- HGB – гемоглобин
- HCT – гематокрит
- MCV – средний объем эритроцитов
- MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроците
- MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроците
- RDW-SD – стандартное отклонение эритроцитов в абсолютных числах
- RDW-CV – коэффициент вариации отклонения эритроцитов в процентах
- PLT – тромбоциты

- MPV – средний объем тромбоцитов
- PDW – ширина распределения тромбоцитов
- PCT – тромбокрит
- P-LCR (LPCR) – доля крупных тромбоцитов
- P-LCC - количество крупных тромбоцитов
- MON – абсолютное содержание моноцитов
- MON% – относительное содержание моноцитов
- EOS – абсолютное содержание эозинофилов
- EOS% – относительное содержание эозинофилов
- NEU – абсолютное содержание нейтрофилов
- NEU% – относительное содержание нейтрофилов
- BAS – абсолютное содержание базофилов
- BAS% – относительное содержание базофилов
- RETIC – абсолютное содержание ретикулоцитов
- RETIC% – относительное содержание ретикулоцитов
- IRF – незрелая фракция ретикулоцитов

СОЭ определяли с помощью автоматического анализатора CUBE 30 TOUCH (Италия) (Рисунок 8). Это компактный анализатор для определения СОЭ в первичных пробирках различных брендов с антикоагулянтом. Данный анализатор имеет высокую производительность: 30 результатов за 25 минут. Метод измерения – по Вестергрону.

Подсчет лейкоцитарной формулы проводился нами в мазках крови, окрашенных по Романовскому – Гимзе, в следующем порядке:

1. Приготовление мазка крови. Чистое предметное стекло необходимо положить на ровную горизонтальную поверхность и на один его край стеклянной трубочкой или пипеткой нанести небольшую каплю цельной крови или крови с антикоагулянтом. Стекло удерживают на поверхности одной рукой, а второе предметное стекло (распределительное,

шлифованное), держа его большим и указательным пальцами другой руки, ставят на первое под углом примерно 45° слева от капли крови. Затем, не отрывая второе стекло от поверхности первого, приводят его соприкосновение с каплей крови и дают ей растечься по его шлифованной поверхности, как только капля расплывется по всему ребру, быстро продвигают распределительное стекло справа на лево, пока капля не будет исчерпана.

2. Фиксация мазка. После приготовления мазка его сразу же нужно высушить на воздухе, затем зафиксировать мазок опусканием его пинцетом в метиловый спирт на 5 минут. Фиксация необходима для стойкости форменных элементов крови.

3. Окрашивание мазка по Романовскому-Гимзе. В используемой краске Романовского – Гимзе метиловый азур является основным красителем, а желтый эозин – кислым. Фиксированные мазки заливают рабочим раствором красителя и выдерживают 15-30 мин., затем мазки промывают под проточной водой и высушивают на воздухе. Далее гематологические мазки смотрят под микроскопом и дифференцируют лейкоциты на популяции [Камышников, С.345-348].

2.2.3. МЕТОД РАСЧЕТА ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ ИНДЕКСОВ.

Эндогенные интоксикации классифицируются в зависимости от заболевания, послужившего источником их возникновения. Причины развития эндогенной интоксикации можно подразделить на несколько групп. Во-первых, это деструктивные процессы. Во-вторых, нарушение и повреждение функционального состояния систем организма, которые предназначены для связывания, инактивации и выведения продуктов обмена веществ. Третье, важной причиной интоксикации является повреждение барьерных систем, которые в нормальных условиях регулируют обмен

различными веществами и соединениями между клеткой и кровью, клеткой межклеточным пространством, препятствуют проникновению токсических продуктов в клетку. Далее, развитию эндотоксикоза способствуют нарушения эндокринной, иммунной и других систем организма. [Гаврилов, с. 13-17].

Индекс Кребса (ИК) — это отношение всей суммы процентного содержания нейтрофилов к такому же количеству лимфоцитов. Норма = $1,8 \pm 0,46$. При воспалительном процессе с легкой ЭИ равен $2,8 \pm 0,4$, при средней тяжести ЭИ — $4,86 \pm 0,97$, при тяжелой степени ЭИ — более $5,76 \pm 1,19$. При неэффективности проводимой терапии ИК оставался на высоких цифрах на протяжении 5–7 дней [Сипливый В. А., с. 22].

Лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) определяют по формуле Я.Я. Кальф-Калифа, он позволяет дать адекватную оценку по степени и выраженности интоксикационного процесса внутри организма.

ЛИИ представляет собой соотношение уровня клеток, повышающихся при воспалительных и гнойных процессах (нейтрофильные лейкоциты — миелоциты, метамиелоциты — юные, палочкоядерные, сегментоядерные) к клеткам, количество которых при этих процессах может снижаться (лимфоциты, моноциты, эозинофилы) [Ткаченко Е.А., Дерхо М.А., С. 81-83].
Формула расчета ЛИИ (2.1):

$$\text{ЛИИ} = \frac{(4\text{Мл} + 3\text{Ю} + 2\text{П} + \text{С}) * (\text{Пл} + 1)}{(\text{мон} + \text{лф}) * (\text{эоз} + 1)} \quad (2.1)$$

где МЦ — миелоциты, Ю — Юные, ПЯ — палочкоядерные, С — сегментоядерные, Пл — плазматические клетки, Мон — моноциты, Лим — лимфоциты, Эоз — эозинофилы.

В настоящее время получил большее значение модифицированный лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИм) (2.2.), предложенный В.К.Островским (1983). Данный индекс является более достоверным, так как использует соотношение уровня всех клеток крови, повышающегося и

снижающегося при воспалительных заболеваниях без каких либо дополнительных коэффициентов, что объективно отражает суть происходящих процессов.

Норма равна от $1,0 \pm 0,5$ до $1,6 \pm 0,5$.

$$\text{ЛИИМ} = \frac{\text{МЦ.} + \text{ПЛ.КЛ.} + \text{Ю.} + \text{П.} + \text{С.}}$$

$$\text{лимф.} + \text{мон.} + \text{э.} + \text{б.}$$

(2.2)

При легкой степени эндогенной интоксикации ЛИИМ равен $1,7-2,8 \pm 0,64$, при средней степени — $4,3 \pm 1,5$, при тяжелой — более $8,1 \pm 0,34$. Данный индекс достовернее ЛИИ и позволяет следить за степенью ЭИ, эффективностью проводимой терапии.

Лейкоцитарный индекс (ЛИ) (2.3) - отношение лимфоцитов к нейтрофилам, отражает взаимоотношение гуморального и клеточного звена иммунной системы. Норма = $0,41 \pm 0,03$.

$$\text{ЛИ} = \frac{\text{Лимф.}}{\text{Н}}$$

(2.3)

где Лимф – лимфоциты, Н – нейтрофилы

Индекс резистентности организма (ИРО), был предложен как модификация, так как один из ключевых его компонентов ЛИИ.

Формула представляет собой отношение лейкоцитов в тыс./л к произведению возраста больного на ЛИИ по Я.Я. Кальф-Калифу(2.4):

$$\text{ИРО} = \frac{\text{лей. , тыс./л}}{\text{возрастбольного} * \text{ЛИИ}}$$

(2.4)

где Лей – лейкоциты.

Норма ИРО равна от 100 у.е. ИРО снижается при воспалительных и гнойных осложнениях. Известно, что при снижении этого индекса ниже 50 у большинства пациентов развиваются осложнения. Кроме этого, снижение индекса резистентности организма указывает на необходимость проведения детоксикационной терапии, включающей гемосорбцию, энтеросорбцию. При низком показателе ИРО развиваются различные осложнения, синдром полиорганной недостаточности и может наблюдаться высокая летальность [Островский В.К., Алимов Р.Р., Мащенко А.В., С. 102–105].

На низких уровнях ИРО изменения в организме менее благоприятны. По мере снижения уровня реактивности процентное содержание форменных элементов крови (эозинофилов, палочкоядерных нейтрофилов, моноцитов, базофилов) все больше отклоняется от нормы. Состояние организма при развитии реакций на высоких уровнях реактивности характеризуется высокой чувствительностью и реактивностью [Гаркави, Л.Х. С.341-348].

Индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК) - это отношение суммы гранулоцитов к сумме моноцитов и лимфоцитов, расчет по формуле (2.5):

$$\text{ИСЛК} = \frac{\text{Э} + \text{Б} + \text{Н}}{\text{М} + \text{Лимф}} \quad (2.5)$$

где Н – нейтрофилы, Лимф – лимфоциты, М – моноциты, Э – эозинофилы, Б – базофилы.

Норма ИСЛК равна $1,96 \pm 0,56$. Повышение ИСЛК говорит об активности воспалительного процесса.

Индекс соотношения лейкоцитов и СОЭ (ИЛСОЭ). По изменению ИЛСОЭ можно судить о наличии у больного интоксикации, возможно связанной с инфекционным или воспалительным процессом. Нормальные значения ИЛСОЭ $1,87 \pm 0,76$. Рассчитывается по формуле (2.6):

$$\text{ИЛСОЭ} = \frac{\text{л.* СОЭ}}{100} \quad (2.6)$$

Лимфоцитарно – гранулоцитарный индекс (ИЛГ) позволяет дифференцировать аутоинтоксикацию и инфекционную интоксикацию и рассчитывается по соотношению лимфоцитов в десятикратном увеличении к сумме миелоцитов, метамиелоцитов, сегментоядерных, палочкоядерных, нейтрофилов, эозинофилов, базофилов. Норма = $4,56 \pm 0,37$. Рассчитывается по формуле (2.7):

$$\text{ИЛГ} = \frac{\text{лимф.} * 10}{\text{мц.} + \text{ю.} + \text{п.} + \text{с.} + \text{э.} + \text{б}} \quad (2.7)$$

где, мц – миелоциты, ю – метамиелоциты, п- палочкоядерные нейтрофилы, с – сегментоядерные нейтрофилы, лф – лимфоциты, б – базофилы, э – эозинофилы

2.2.4. МЕТОДЫ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ РЕЗУЛЬТАТОВ

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 12.0 for Windows 2010 с использованием электронных таблиц Microsoft Excel 2010. В ходе нашего исследования определяли следующие параметры: а) среднюю арифметическую – М; б) ошибку средней арифметической – m; в) среднюю процента – S; г) ошибку процента – s. О достоверности различий судили по t – критерию Стьюдента, которые рассчитывались по программе «Biostatistica» с определением уровня значимости Р по таблицам. Достоверными считали различия при уровне значимости * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$ [Лакин, 352 с.] .

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. У пациенток чаще выявлялись опухоли молочной железы, экспрессирующие рецепторы эстрогена (63,95% случаев) и рецепторы прогестерона (55,45% случаев), чем опухоли, не экспрессирующие этих рецепторов.

2. Опухоли молочной железы, не имеющие экспрессии рецепторов эстрогена, обладают более злокачественным течением. У женщин с такими фенотипами чаще диагностировался метастатический РМЖ.

3. Количество лейкоцитов в периферической крови и относительное число их различных серий у пациенток находились на уровне физиологической нормы или верхней ее границы. Кроме того, в гемограмме у всех женщин, имеющих рак молочной железы, наблюдалось ускорение скорости оседания эритроцитов по сравнению с нормой. Это связано с наличием воспалительного процесса и интоксикации организма продуктами распада опухоли.

4. Анализ лейкоцитарных индексов интоксикации (лейкоцитарный индекс интоксикации, индекс сдвига лейкоцитов крови, индекс Кребса)

выявил у женщин, имеющих гормонально-рецепторные фенотипы опухолей РЭ+РП- и РЭ-РП+ наличие воспаления и наличие легкой степени эндогенной интоксикации.

5. Гематологические индексы, оценивающие уровень неспецифической реактивности организма (индекс резистентности организма и лейкоцитарный индекс) были повышены у всех пациенток относительно нормативных параметров, что указывает на повышение реактивности организма и наличие эндогенной интоксикации. Кроме того, у женщин, имеющих фенотипы опухолей РЭ+РП- и РЭ-РП- зарегистрированы достоверно низкие параметры лейкоцитарного индекса и индекса резистентности организма по сравнению с женщинами, имеющими положительную экспрессию рецепторов обоих гомонов.

6. У женщин с раком молочной железы параметры лимфоцитарно-гранулоцитарного индекса указывают на наличие аутоинтоксикации, а также на наличие воспалительного процесса и об активации второй линии защиты - лимфоцитов, реализующих специфический иммунный ответ. Кроме того, наличие более выраженной интоксикации, связанной с инфекционным процессом, было зарегистрировано у пациенток, имеющих фенотипы опухолей РЭ-РП-: у них индекс соотношения скорости оседания эритроцитов и лейкоцитов был достоверно ниже, нежели у женщин с гормонально-положительными опухолями.

