

0-781424

*На правах рукописи*

**ХУСАИНОВА ГУЛЬНАРА НАИЛЕВНА**

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ОТДАЛЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛЕЧЕНИЯ  
БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ  
С УЧЕТОМ КЛИНИКО-ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ  
КРИТЕРИЕВ И ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА**

**14.01.12 – Онкология**

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

**Уфа – 2010**

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении дополнительного профессионального образования «Казанская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».

**Научный руководитель –** доктор медицинских наук, профессор  
*Гатауллин Ильгиз Габдуллович*

**Официальные оппоненты:** доктор медицинских наук, профессор  
*Козлов Сергей Владимирович;*  
доктор медицинских наук, профессор  
*Демидов Сергей Михайлович*

**Ведущая организация –** Государственное учреждение  
«Московский научно-исследовательский  
онкологический институт  
им. А.И.Герцена»

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2010 г. в \_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.006.04 при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по адресу: 450014, ул. Ленина, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2010 года.

НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА КГУ



0000590923

Ученый секретарь  
диссертационного совета

*Рахматуллина И.Р.*

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность исследования

Раком молочной железы (РМЖ) ежегодно заболевают около одного миллиона женщин. Эта нозологическая форма является ведущей причиной смерти женщин в возрасте 35–55 лет, достигая 20 %, а после 55 лет – второй по значимости причиной смерти после сердечно-сосудистых заболеваний.

В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями среди женщин рак молочной железы занимает первое место в мире, при этом у 37,3 % впервые заболевших женщин диагностируется третья или четвертая стадия заболевания [Писарева Л.Ф. и др., 2008]. Заболеваемость раком молочной железы в России неуклонно растет: прирост показателя заболеваемости за десять лет составляет 22,2%; среднегодовой темп прироста - 2,3%. [Ганцев Ш.Х., Демидов С.М., 2004; Сметник В.П. и др., 2006]. В структуре смертности населения трудоспособного возраста в России рак молочной железы занимает 1-е место и составляет 24,3 % [Хайлеко В.А. и др., 2008]. Стандартизованный показатель смертности женщин от злокачественных новообразований молочной железы вырос с 1991-го по 2000-й годы на 17,29 % и составил в 2000-м году 17,24 на 100000 населения.

Характеризуя динамику заболеваемости РМЖ женщин в Республике Татарстан, следует отметить прогрессирующий рост числа его случаев на 100000 женского населения с 88,35 в 1997-м году до 141,90 в 2006-м году [Хасанов Р.Ш., Габитова С.Е., 2008].

Первичные опухоли молочной железы, состоящие из биологически различных популяций клеток, различаются по многим параметрам, в частности по скорости роста, кариотипу, наличию или отсутствию гормональных рецепторов, продукции опухоль-ассоциированных белков, иммуногенности, чувствительности к гормоно- и химиотерапии [Tubiana M., 1991].

Состояние эндокринной системы и гормонального статуса опухоли у больных раком молочной железы является важным фактором при выборе методов лечения [Козлов С.В. и др., 2006]. Поэтому поиск надежных критериев, с помощью которых можно было бы предсказать и оценить эффект от применяемого лечения, сохраняет свою актуальность [Гильмутдинова М.Р., Га-тауллин И.Г., 2007].

Благодаря успехам биохимии и молекулярной биологии, в настоящее время в арсенале исследователей и клиницистов имеется огромное количество биологически значимых показателей, которые могут помочь в прогнозе рака молочной железы и выборе адъювантной терапии при распространенном процессе.

Поиски возможностей прогнозирования результатов лечения больных раком молочной железы очень актуальны и являются одной из наиболее сложных задач онкологии. Компьютерная нейросетевая диагностика является оптимальным средством выбора для проведения прогнозирования в условиях неполной информации [Ноздрачев Ю.И., Глазкова Т.Г., 1994; Щетинин В.Г., Соломаха А.А., 1998; Шевченко Ю.Л. и др., 1998]. Именно этот тип компьютерной диагностики и был принят за основу нашего исследования.

Таким образом, несмотря на достаточное количество литературы, обширное исследование гормонального статуса женщин, болеющих раком молочной железы, исследование иммуноморфологического фенотипа опухоли молочной железы, до сих пор остается малоизученным влияние гормонального фона на клинико-иммуноморфологические параметры опухоли. Требуется дальнейшее изучение возможностей применения нейросетевых технологий для прогнозирования отдаленных результатов лечения больных раком молочной железы.

#### **Цель исследования**

Прогнозирование отдаленных результатов лечения больных раком молочной железы в зависимости от состояния гормонального статуса пациентов и тканевых биомаркеров опухоли.

#### **Задачи исследования**

- 1 Изучить параметры гормонального статуса женщин (пролактин, эстрадиол, тестостерон, прогестерон, фолликулостимулирующий гормон, лютеинизирующий гормон) больных раком молочной железы.
- 2 Оценить клинико-морфологические параметры опухолевого роста в зависимости от гормонального статуса женщин.
- 3 Изучить иммуногистохимические особенности рецепторной дифференцировки (рецепторы эстрогенов и прогестерона) молочной железы в зависимости от гормонального статуса женщин и параметров опухолевого роста.
- 4 Оценить экспрессию онкогена Her2/neu в ткани опухоли молочной железы в зависимости от гормональных рецепторов опухоли и параметров опухолевого роста.
- 5 Изучить отдаленные результаты лечения больных раком молочной железы в зависимости от гормонального статуса женщин и клинико-морфологических параметров опухоли.
- 6 Разработать индивидуальную модель прогнозирования у больных раком молочной железы с применением нейросетевых технологий.

### **Научная новизна**

Впервые в зависимости от гормонального статуса женщин оценены клинико-морфологические параметры опухолей молочных желез.

Впервые в зависимости от гормонального статуса женщин и параметров опухолевого роста изучена рецепторная дифференцировка (рецепторы эстрогенов, прогестерона) и экспрессия онкогена *Her/2* *neu* опухолей молочных желез.

Впервые применены нейросетевые технологии для изучения отдаленных результатов лечения рака молочной железы в зависимости от гормонального статуса.

Впервые на основе использования нейросетевых технологий разработана индивидуальная модель прогноза у больных раком молочной железы

### **Практическая значимость работы**

Представленные данные о морфологической структуре опухоли, стадиях опухолевого процесса, экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов, онкогена *HER-2/neu*, уровнях пролактина, прогестерона, эстрадиола, фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов в сыворотке крови позволяют определить прогноз заболевания.

Исследование гормонального фона больных раком молочной железы и гормонального статуса опухоли позволяют определить показания к выбору оптимального метода лечения.

Проведение нейросетевого анализа позволит выделить группу пациентов с плохим прогнозом заболевания, что даст возможность проводить дополнительную патогенетическую терапию и более детальное диспансерное наблюдение.

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Результаты исследования внедрены в работу Республиканского клинического онкологического диспансера Министерства здравоохранения Республики Татарстан, используются в учебном процессе на кафедре онкологии и хирургии Государственного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Казанская государственная медицинская академия Росздрава».

### **Основные положения, выносимые на защиту**

- 1 При исследовании уровня гормонов в сыворотке крови женщин, болеющих раком молочной железы, отмечено повышение уровня фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов, прогестерона, эстрадиола, тестостерона и снижение уровня пролактина.
- 2 Размер первичной опухоли, наличие регионарных метастазов, гистологическая форма опухоли молочной железы не зависят от гормонального статуса пациентки.

- 3 При изучении иммуногистохимических особенностей рецепторной дифференцировки молочной железы в зависимости от гормонального статуса женщин отмечается снижение вероятности наличия рецепторов эстрогенов в ткани опухоли молочной железы при увеличении уровня лютеинизирующего гормона в сыворотке крови пациенток, и при увеличении уровня пролактина в сыворотке крови снижается вероятность наличия рецепторов прогестерона в опухоли молочной железы.
- 4 Отдаленные результаты лечения больных раком молочной железы зависят от уровня лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов в сыворотке крови.

**Апробация работы.** Основные положения работы доложены и обсуждены на научно-практической конференции с международным участием «Отечественные противоопухолевые препараты» (Москва, 2008); российской научно-практической конференции «Современные аспекты диагностики и лечения рака молочной железы» (Томск, 2008)

Диссертация доложена и обсуждена на совместном заседании кафедры онкологии и хирургии, кафедры эндоскопии, общей и эндоскопической хирургии, кафедры лучевой диагностики ГОУ ДПО «Казанская государственная медицинская академии Росздрава» и кафедры хирургических болезней № 1 с курсом онкологии, анестезиологии и реаниматологии ГОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет Росздрава» (протокол от «26» октября 2009 г. № 22/09-А).

#### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.01.12 – «Онкология» (медицинские науки). Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования данной специальности, конкретно пунктам 2,3 паспорта научной специальности.

#### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано девять научных работ, в том числе три в журналах, включенных в перечень рецензируемых журналов и изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации основных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

#### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 116 страницах, содержит 13 таблиц и 32 рисунка. Она состоит из введения, обзора литературы (одна глава), собственных исследований (три главы), заключения, выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 186 источников, из них 97 отечественных и 89 зарубежных.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

Работа основана на анализе сведений о 409 больных раком молочной железы стадий T<sub>1-4</sub>N<sub>0-3</sub>M<sub>0-1</sub>, находившихся на лечении в Республиканском клиническом онкологическом диспансере Министерства здравоохранения Республики Татарстан, в возрасте от 23 до 89 лет. Пациентки получали комбинированное и комплексное лечение, основанное на анализе результатов клинических и лабораторных методов диагностики, иммуногистохимического исследования гормональных рецепторов и опухолевого тканевого маркера HER-2/neu.

Распределение больных по стадиям заболевания было следующее: I – 60 (14,5 %), IIА – 109 (27,0 %), IIВ – 61 (15,0 %), IIIА – 30 (7,3 %), IIIВ – 42 (10,2 %), IV – 107 (26,0 %) женщин. Следовательно, в проведенном нами исследовании преобладали больные со стадией IIА.

Преобладали пациентки с опухолями по критерию T<sub>2</sub> – 202 (49 %) женщины. Остальные больные раком молочной железы распределились следующим образом: T<sub>1</sub> – 121 (29,6 %), T<sub>3</sub> – 18 (4,4 %), T<sub>4</sub> – 68 (16,6 %) женщин.

Большинство больных было с регионарным метастазированием – 249 (60,8 %) женщин. Распределение по критерию N было таким: N<sub>0</sub> – 160 (39 %), N<sub>1</sub> – 143 (35 %), N<sub>2</sub> – 91 (22 %), N<sub>3</sub> – 15 (4 %) женщин.

Таким образом, основная масса пациенток приходилась на больных с локо-регионарными формами рака молочной железы.

Больным проводили оперативное лечение в зависимости от локализации первичной опухоли и локо-регионарного распространения. По показаниям проводили лучевую терапию в режимах среднего или классического фракционирования, неоадьювантную и адьювантную химиотерапию. Преобладающим оперативным вмешательством была мастэктомия по Пейти.

Все удаленные препараты были подвергнуты патогистологическому исследованию.

Основным морфологическим вариантом опухоли был инфильтрирующий рак, составивший 384 (93,9 %) наблюдений.

Послеоперационную химио- и гормонотерапию проводили в зависимости от полученных результатов гистологического исследования (размер первичной опухоли, наличие регионарных метастазов), иммуногистохимического исследования гормонального статуса и тканевого маркера (HER-2/neu).

По возрасту больные раком молочной железы распределились следующим образом: от 20 до 30 лет – 6 (1,46 %), свыше 30 до 40 – 63 (15,4 %),

свыше 40 до 50 – 169 (42,0%), свыше 50 до 60 – 120 (29,3 %), свыше 60 до 70 – 29 (7,0 %), свыше 70 до 80 – 18 (4,4 %), свыше 80 до 90 л – 3 (0,73 %) женщины. Основная масса больных приходилась на возраст свыше 40 до 60 лет – 289 (71,3 %) женщин.

За трехлетний период наблюдения за больными РМЖ летальность составила 17,6 % (72 женщины) и у ряда больных произошло прогрессирование процесса с появлением отдаленных метастазов. Основная доля метастатического процесса приходилась на кости (46 %).

Проведенный анализ по причинам смерти показал, что ведущей патологией, ставшей причиной смерти, была раковая интоксикация, вызванная диссеминацией опухолевого процесса. Раковая интоксикация стала причиной смерти в 41 % случаев, метастазы в печень – в 23 %, метастазы в легкие – в 21 %, метастазы в головной мозг – в 14 %, метастатический плеврит – в 1 % случаев.

Для постановки диагноза при первичном обследовании анализируемых групп больных, мы использовали общепринятые клинические, лабораторные, инструментальные и лучевые методы исследования: общий анализ крови и мочи, биохимический анализ крови, рентгенологическое исследование органов грудной клетки, ультразвуковое исследование (УЗИ) первичной опухоли и регионарных лимфатических узлов, а также органов брюшной полости, маммография; по показаниям проводили радиоизотопное исследование костей скелета. Цитологическому исследованию на дооперационном этапе подвергали первичные опухоли и аксиллярные лимфатические узлы размером более 1 см в диаметре. Материал для цитологического исследования получали с помощью пункционной биопсии.

Использовали следующие методы до- и интраоперационных исследований первичных опухолей и регионарных лимфатических узлов:

- 1) УЗИ первичных опухолей и регионарных лимфатических узлов на дооперационном этапе;
- 2) цитологическое исследование пунктатов первичных опухолей и регионарных лимфатических узлов;
- 3) интраоперационное срочное гистологическое исследование первичных опухолей;
- 4) анатомическая препаровка удаленного препарата;
- 5) плановое гистологическое исследование первичных опухолей и регионарных лимфатических узлов;
- 6) иммуногистохимическое исследование опухоли на гормональные рецепторы и онкомаркер HER-2/неу.



Также определяли гормональный фон у больных перед оперативным вмешательством и в случаях прогрессирования после лечения рака молочной железы при помощи иммуноферментного метода.

Наряду с рутинным определением морфологического варианта удаленной опухоли, проводили иммуногистохимическое исследование с целью определения гормонального статуса и тканевого маркера опухоли HER-2/neu.

Материалом для иммуногистохимического анализа служил свежий операционный материал, а также архивные блоки. Парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм готовили на микротоме Leika (Германия) и использовали для иммуногистохимических реакций. Иммуногистохимические исследования проводили с помощью набора моноклональных антител к эстрогеновым и прогестероновым рецепторам, белку онкогена HER-2/neu.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась методом вариационного анализа с вычислением средней арифметической ( $M$ ), ошибки средней арифметической ( $m$ ), для сравнения двух вложенных моделей использовалось значение критерия Пирсона  $\chi^2$ .

Также для статистической обработки использовалась аддитивная модель (GAM-generalized additive model). Для построения модели использовалась статистическая система R (R Development Core Team, 2008) и пакет программ построения нелинейных моделей mgcv [Wood S.N., 2004]. Анализ на выживаемость проводился при помощи модели Кокса.

Для проведения анализа отдаленных результатов использовалась нейронная сеть с 6 входами, на которые подавались значения гормонов в сыворотке крови 112 пациенток: пролактина, фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов, прогестерона, эстрогена и тестостерона. Поскольку известно, что одного скрытого слоя достаточно для реализации сложных зависимостей [Ripley P, 1996], то использовалась нейронная сеть с одним скрытым слоем из пяти нейронов.

Расчеты, обработку и хранение материалов диссертации проводили с использованием персонального компьютера «Pentium IV».

## **РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Исходя из поставленных задач, нами были проанализированы 409 историй болезни и амбулаторных карт больных раком молочной железы, у которых, помимо стандартного гистологического исследования удаленного препарата, проводилось иммуногистохимическое исследование гормонально-

го статуса и тканевых маркеров. У 112 пациенток исследовали гормональный фон, включающий определение содержания пролактина, фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), прогестерона, эстрадиола, тестостерона в сыворотке крови. Гормональный профиль у 92 женщин был исследован до оперативного вмешательства на молочной железе, а у 20 женщин – при выявлении отдаленных метастазов, то есть при прогрессировании рака.

Среди больных РМЖ были лица с метастазами в надключичные лимфатические узлы, печень, легкие, кости, яичники и головной мозг. Все больные были прооперированы; объем вмешательства определялся, исходя из локализации первичной опухоли и состояния регионарных лимфатических узлов.

В исследовании больные с размером опухоли T<sub>2</sub> составляют большинство – 202 (49,3 %) женщины. Остальные больные распределились следующим образом: T<sub>1</sub> – 121 (29,6 %), T<sub>3</sub> – 18 (4,4 %), T<sub>4</sub> – 68 (16,6 %) женщин. Наибольшая смертность (50 %) отмечена в группе T<sub>3</sub>, в других группах смертность была следующая: T<sub>1</sub> – 5,7 %, T<sub>2</sub> – 14,3 %, T<sub>4</sub> – 38,2 %.

Основную часть больных раком молочной железы составили пациенты с поражением регионарных лимфатических узлов – 249 (60,3 %) женщин, из них: N<sub>1</sub> – у 143 (35 %), N<sub>2</sub> – у 91 (22 %), N<sub>3</sub> – у 15 (4 %) женщин. Наибольшая смертность была в группе N<sub>3</sub> – 46,6 %, в других группах смертность была следующая: N<sub>0</sub> – 9,4 %, N<sub>1</sub> – 11,9 %, N<sub>2</sub> – 36,2 %.

У абсолютного большинства больных был инфильтрирующий вариант опухоли – у 384 (93,8 %) женщин. В данную группу вошли следующие варианты инфильтрирующего рака: инфильтрирующий протоковый рак, инфильтрирующий дольковый рак, инфильтрирующий дольковый и протоковый рак. Среди остальных больных внутрипротоковый рак был диагностирован у 17 (4,1 %) больных, недифференцированный рак – у 3 (0,7 %), тубулярный и медулярный рак – у 2 (0,5 %), рак Педжета соска – у 3 (0,7 %) женщин. Наибольшая смертность выявлена при недифференцированном раке (100 %) и инфильтрирующих опухолях (17,9 %), в остальных группах умерших не было.

Реакция на рецепторы эстрогенов оценивалась как позитивная (++, +++) и негативная (–, +). Распределение больных в зависимости от характера гормональных рецепторов и летального исхода представлено в таблице 1.

**Таблица 1 – Распределение больных раком молочной железы по эстроген- и прогестерон-рецепторному статусу и исходу заболевания**

Рецепторный статус	Число больных		Число умерших	
	абс.	%	абс.	%
ЭР-позитивный	143	47,0	11	7,6
ЭР-негативный	266	53,0	61	22,9
ПР-позитивный	100	24,7	8	11,1
ПР-негативный	309	75,3	64	20,7

Из таблицы 1 видно, что преобладают пациенты с эстроген-рецептор-негативными опухолями – 266 (53,0 %) женщин, прогестерон-рецептор-негативными опухолями – 309 (75,3 %) женщин.

Распределение больных по статусу онкогена HER-2/neu и исходу заболевания представлено в таблице 2.

**Таблица 2 – Распределение больных раком молочной железы по статусу онкогена HER-2/neu и исходу заболевания**

Рецепторный статус	Число больных		Число умерших	
	абс.	%	абс.	%
HER-2/neu – позитивный	65	16,1	19	29,1
HER-2/neu – негативный	344	83,9	53	15,0

Из таблицы 2 видно, что преобладали опухоли, негативные по статусу HER-2/neu – у 344 (83,9 %) женщин.

В исследовании наибольшее число умерших было среди пациенток с эстроген-негативными опухолями – 61 (22,9 %) женщина, с прогестерон-негативными опухолями – 64 (20,7 %) женщины, с опухолями, позитивными по статусу HER-2/neu, – 19 (29,1 %) женщин.

Исходя из поставленных задач, нами была изучена взаимосвязь между рецепторным статусом опухоли, онкогеном Her/2-neu, размером опухоли, локо-регионарным распространением и отдаленными результатами (таблица 3).

Из таблицы 3 и 4 следует, что наиболее часто встречаемый вариант опухоли – в стадии IIa с эстроген-прогестерон-негативным статусом и негативным статусом по онкогену HER-2/neu – 57 (13,94 %) женщин. Смертность возрастает при опухолях с негативным рецепторным статусом и позитивным статусом по онкогену HER-2/neu и с увеличением размера первичной опухоли и локо-регионарной распространенности. Наибольшее число умерших выявлено в группе больных с IV стадией по Эр-Пр-Neu+–рецепторному статусу опухоли – 18 (72 %) женщин.

**Таблица 3 – Распределение больных раком молочной железы в зависимости от рецепторного статуса, стадии и исхода заболевания**

Рецепторный статус опухоли	Стадии рака молочной железы											
	I				IIa				IIb			
	число живых больных		число умерших больных		Число живых больных		Число умерших больных		Число живых больных		Число умерших больных	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Эр+Пр+Neu+	1	0,24	0	0	3	0,73	0	0	0	0	0	0
Эр+Пр-Neu+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Эр+Пр+Neu-	10	2,4	0	0	14	3,4	0	0	7	1,7	1	14,2
Эр+Пр-Neu-	11	2,7	0	0	21	5,1	0	0	7	1,7	0	0
Эр-Пр-Neu-	34	8,3	0	0	56	13,7	1	1,8	9	2,2	0	0
Эр-Пр+Neu-	1	0,24	0	0	4	0,97	0	0	1	0,24	0	0
Эр-Пр-Neu+	3	0,73	0	0	8	1,95	1	12,5	2	0,48	0	0
Эр-Пр+Neu+	0	0	0	0	1	0,24	0	0	35	8,5	0	0

**Таблица 4 – Распределение больных раком молочной железы в зависимости от рецепторного статуса, стадии и исхода заболевания**

Рецепторный статус опухоли	Стадии рака молочной железы											
	IIIa				IIIb				IV			
	Число живых больных		Число умерших больных		Число живых больных		Число умерших больных		Число живых больных		Число умерших больных	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Эр+Пр+Neu+	0	0	0	0	2	0,48	0	0	4	0,97	0	0
Эр+Пр-Neu+	1	0,24	0	0	2	0,48	0	0	3	0,73	1	25
Эр+Пр+Neu-	5	1,2	0	0	14	3,4	1	6,6	9	2,2	4	30,7
Эр+Пр-Neu-	5	1,2	0	0	4	0,97	0	0	5	1,2	3	37,5
Эр-Пр-Neu-	12	2,9	1	7,7	9	2,2	1	10	17	4,1	34	66,6
Эр-Пр+Neu-	1	0,24	0	0	0	0	1	100	1	0,24	1	50
Эр-Пр-Neu+	2	0,48	2	50	5	1,2	2	28,5	7	1,7	18	72
Эр-Пр+Neu+	1	0,24	0	0	1	0,24	0	0	0	0	0	0

Нами исследован гормональный фон у 112 пациенток, включающий содержание пролактина, ФСГ, ЛГ, прогестерона, эстрадиола, тестостерона в сыворотке крови. Гормональный профиль у 92 женщин был исследован до оперативного вмешательства на молочной железе, а у 20 женщин – при выявлении отдаленных метастазов, то есть при прогрессировании рака.

При исследовании содержания гормонов в сыворотке крови женщин, больных раком молочной железы, отмечено повышение уровня ФСГ у 57 %, ЛГ – у 47 %, прогестерона – у 41 %, эстрадиола – у 47 %, тестостерона – у 26 % и снижение уровня пролактина – у 69 % пациенток.

Исходя из поставленных задач, мы оценили особенности рецепторной дифференцировки (рецепторы эстрогенов, прогестеронов) молочной железы в зависимости от гормонального статуса женщин. Для этого использовалась обобщенная аддитивная модель (GAM-generalized additive model), которая, по сути, обобщает известный прием построения номограмм. Обобщенные аддитивные модели, представляют собой обобщение методов множественной регрессии. А именно, в линейной регрессии, чтобы предсказать значения зависимой переменной  $Y$ , для множества предикторов или независимых переменных  $X$  рассчитывается подгонка наименьшими квадратами. Хорошо известное уравнение линейной регрессии с  $m$  предикторами для прогнозирования значения зависимой переменной  $Y$  выглядит следующим образом:

$$Y = b_0 + b_1 * X_1 + \dots + b_m * X_m$$

где за  $Y$  обозначено предсказанное значение зависимой переменной, переменные  $X_1, \dots, X_m$  представляют  $m$  значений предикторов, а числа  $b_0, \dots, b_m$  называются коэффициентами регрессии и оцениваются с помощью методов множественной регрессии. Обобщение множественной регрессии предполагает аддитивную природу модели, но заменяет простые слагаемые линейного уравнения  $b_i * X_i$  на  $f_i(X_i)$ , где  $f_i$  - непараметрическая функция предиктора  $X_i$ . Другими словами, вместо обычных коэффициентов для каждой переменной, в аддитивных моделях для каждого предиктора оценивается функция неопределенного вида, что позволяет лучше предсказать значения зависимых переменных. (STATISTICA Обобщенные аддитивные модели).

Такая модель соответствует наиболее современному уровню науки, и позволяет выявлять и математически описывать зависимость произвольной нелинейной формы. Для оценки формы зависимости и ее значимости использовался метод обобщенной перекрестной проверки, позволяющий не просто «подогнать» функцию к имеющимся данным, а получать статистически достоверный прогноз на новых данных с использованием полученной модели. Для построения модели использовалась статистическая система R (R Development Core Team., 2008) и пакет программ построения нелинейных моделей mgcv (Wood, S.N., 2004). Этим методом были изучены зависимости гормонального статуса женщин и рецептов опухоли молочной железы.

- 1) рецепторы эстрогенов → пролактин;
- 2) рецепторы эстрогенов → ФСГ;
- 3) рецепторы эстрогенов → ЛГ;
- 4) рецепторы эстрогенов → прогестерон;
- 5) рецепторы эстрогенов → эстроген;
- 6) рецепторы эстрогенов → тестостерон;
- 7) рецепторы прогестерона → пролактин;

- 8) рецепторы прогестерона → ФСГ;
- 9) рецепторы прогестерона → ЛГ;
- 10) рецепторы прогестерона → прогестерон;
- 11) рецепторы прогестерона → эстроген;
- 12) рецепторы прогестерона → тестостерон.

На основании проведенных исследований была получена высокая вероятность присутствия рецепторов эстрогенов в ткани опухоли в зависимости от уровня ЛГ (уровень значимости 10 %) и рецепторов прогестерона в зависимости от уровня пролактина (уровень значимости 5 %), остальные зависимости оказались незначимыми.

Также было изучено опосредованное влияние гормонов, содержащихся в сыворотке крови пациенток, на рецепторы опухоли молочной железы:

- 1) ФСГ → ЛГ → рецепторы эстрогена;
- 2) Эстроген → ЛГ → рецепторы эстрогена;
- 3) ФСГ → ЛГ → рецепторы прогестерона;
- 4) пролактин → эстроген → рецепторы эстрогена;
- 5) пролактин → эстроген → рецепторы прогестерона;
- 6) пролактин → прогестерон → рецепторы эстрогена;
- 7) пролактин → прогестерон → рецепторы прогестерона;
- 8) эстроген → пролактин → рецепторы эстрогена;
- 9) прогестерон → пролактин → рецепторы прогестерона.

При проведении данного анализа было использовано значение критерия Пирсона  $\chi^2$  для сравнения двух вложенных моделей: первая – зависимость наличия признака (рецепторы эстрогена и прогестерона) от первой переменной в «тройке» (например, прогестерона для последнего случая); во вторую добавлен учет влияния второй переменной в «тройке» (например, пролактина для последнего случая) при фиксированном значении первой переменной.

Таким образом, если существует статистически значимая зависимость остатков, полученных после «вычитания» влияния первой переменной, то значение девианса должно быть большим, а вероятность того, что он получился большим случайно ( $P(>|\chi^2|)$ ), – маленькой, менее 0,05.

Статистически значимыми (уровень значимости 5 %) оказались зависимости наличия рецепторов эстрогена от уровня ЛГ в сыворотке крови, за вычетом влияния эстрогена, и зависимость наличия рецепторов прогестерона от пролактина, за вычетом влияния прогестерона. Еще несколько зависимостей оказались слабо значимыми (уровень значимости около 10 %) – зависимости наличия рецепторов эстрогена от уровня ЛГ в крови, за вычетом влияния ФСГ; зависимости наличия рецепторов эстрогена от пролактина, за вычетом влияния эстрогена.

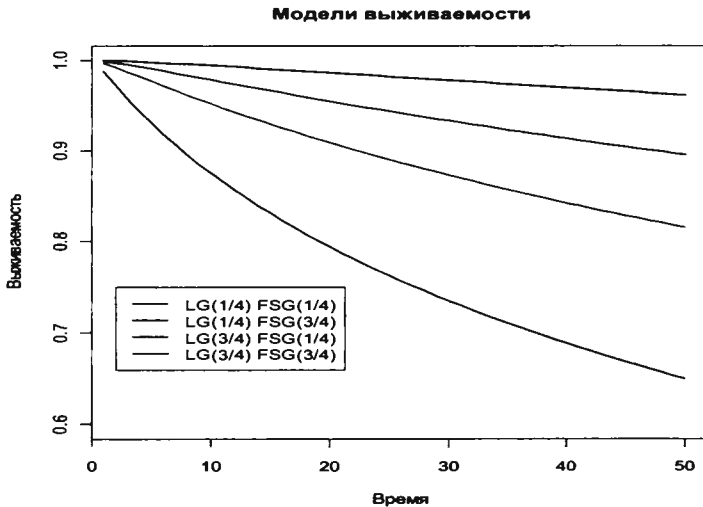
Наши исследования показали, что при высокой концентрации пролактина в сыворотке крови пациенток снижается вероятность наличия рецепторов прогестерона в опухоли молочной железы, а при высокой концентрации ЛГ в сыворотке крови женщин, болеющих раком молочной железы, снижается вероятность наличия рецепторов эстрогена в опухоли молочной железы.

Остальные гормоны не оказывают прямого влияния на рецепторы опухоли молочной железы.

Мы изучили зависимости гормонального статуса женщин, болеющих раком молочной железы, и онкогена HER-2/neu. Из анализа следует, что гормональный статус женщин, болеющих раком молочной железы, не влияет на наличие онкогена HER-2/neu в ткани опухоли молочной железы.

Проведен анализ влияния гормонального статуса пациенток на выживаемость с использованием модели Кокса (рисунок 1). При построении данной модели, мы выявили, что на выживаемость пациенток на пятипроцентном уровне значимости оказывают влияние ЛГ и ФСГ, причем направленность изменений противоположная (с повышением уровня ФСГ выживаемость увеличивается, с повышением уровня ЛГ – уменьшается).

**Рисунок – 1 Влияние гормонального статуса пациенток на выживаемость (срок 36 месяцев). Модель Кокса**



Условные обозначения:  $\frac{1}{4}$  - значение взято на уровне 25% квантиля (25% значений меньше данного);  
 $\frac{3}{4}$  - значение взято на уровне 75% квантиля (75% значений меньше данного).

Исходя из поставленных задач, мы провели нейросетевой анализ выживаемости больных раком молочной железы за 36 месяцев после операции. Нами использовалась нейронная сеть с 6 входами, на которые подавались значения гормонов в сыворотке крови 112 пациенток: пролактина, ФСГ, ЛГ, прогестерона, эстрогена, тестостерона. Поскольку известно, что одного скрытого слоя достаточно для реализации сложных зависимостей [Ripley P, 1996], то использовалась нейронная сеть с одним скрытым слоем из 5 нейронов.

На обучающей выборке были получены следующие результаты (таблица 5).

**Таблица 5 – Результаты нейросетевого анализа**

Прогнозируемое состояние \ Истинное состояние	Живые	79	a	3	b
	Умершие	10	c	20	d

Условные обозначения: a – число истинно положительных результатов;  
 b – число ложно положительных результатов;  
 c – число ложно отрицательных результатов;  
 d – число истинно отрицательных результатов.

Из таблицы 5 видно, что в результате прогнозирования 79 наблюдений из 82, относящихся к группе живых правильно отнесены в данную группу, и 20 из 30 правильно отнесены в группу умерших.

Мы рассчитали соотношение вероятности по формулам:

$$NLR = \beta \div Sp = (c \cdot (b + d)) \div ((a + c) \cdot a) = 0,14,$$

где NLR – отрицательное соотношение вероятностей,

Sp – специфичность,

$\beta$  – ошибка чувствительности;

$$PLR = Sn \div \alpha = (a \cdot (b+d)) \div ((a+c) \cdot b) = 6,3,$$

где PLR – положительное соотношение вероятностей,

Sn – чувствительность,

$\alpha$  – ошибка специфичности.

При проведении нейросетевого анализа за 36 месяцев после операции выявлена высокая вероятность прогнозирования исходов лечения (качество распознавания равно 88,4%).



Таким образом, изучив на большом клиническом материале трехлетнюю выживаемость больных раком молочной железы в зависимости от размера опухоли и рецепторного статуса, и, используя нейросетевой анализ выживаемости в зависимости от гормонального статуса пациенток, мы имеем возможность применить Байесовский метод статистической обработки материала для более точного прогнозирования исходов лечения больных раком молочной железы.

Согласно формуле Байеса  $P_2 = P_1 \cdot LR$ ,

где  $P_1$  – шансы благоприятного прогноза без учета нейросетевого анализа;

$P_2$  – шансы благоприятного прогноза с учетом нейросетевого анализа;

$LR$  – соотношение вероятностей (положительным считается результат больше 20 %; отрицательным считается результат меньше 20 %).

Для примера рассмотрим два клинических случая.

Первый клинический случай. Больная К. история болезни № 07/01439, 57 лет, поступила в онкологическое (маммологическое) отделение РКОД МЗ РТ с диагнозом: рак правой молочной железы pT1N1M0 Эр(-)ПР(-)HER-2/neu(+), Па стадия, 2-я клиническая группа.

Накануне операции были взяты анализы крови на гормоны пролактин (160,24 мМЕ/л), эстрадиол (160,93 пг/мл), прогестерон (80 нмоль/л), ФСГ (98,6 МЕ/л), ЛГ (31,14 МЕ/л), тестостерон (2,6 моль/л). После операции мастэктомии по Пейти были получены результаты стандартного гистологического исследования и иммуногистохимического анализа. Макроскопическая картина – размер опухоли 1 см, в одном подмышечном лимфатическом узле обнаружен метастаз. Опухолевая ткань имела следующий иммуногистохимический фенотип: негативный статус по рецепторам эстрогенов и прогестерона и позитивный статус по онкогену HER-2/neu.

Полученные данные в виде кодированных значений вносились в электронную таблицу значений, далее запускалась модель нейросетевого анализа. Полученный результат показал, что с вероятностью 77 % мы можем отнести данную больную в группу с благоприятным прогнозом.

Для более точного прогноза используем формулу Байеса. У данной пациентки шансы на благоприятный прогноз составляют 8:1 (исходя из таблицы № 3).

$P_2 = P_1 \cdot PLR = 8 \cdot 6,3 = 51$ , т.е. шанс (S) благоприятного прогноза равен 51,

или  $P = (100 \cdot S) \div (S + 1) = (51 \cdot 100) \div (51 + 1) = 98 \%$ .

Таким образом, полученный результат после применения двух методов показал, что с вероятностью 98 % мы можем отнести данную больную в группу с благоприятным прогнозом.

Второй клинический случай. Пациентка Б., история болезни № 06/01274, 57 лет, госпитализирована в онкологическое (маммологическое) отделение РКОД МЗ РТ с диагнозом: рак правой молочной железы pT<sub>2</sub>N<sub>2</sub>M<sub>1</sub> Эр(-)ПР(-)HER-2/peu (+), IV стадия, метастаз в шейный лимфатический узел.

Накануне операции были взяты анализы крови на гормоны пролактин (325,09 мМЕ/л), эстрадиол (128,5 пг/мл), прогестерон (6,25 нмоль/л), ФСГ (100 МЕ/л), ЛГ (30,17 МЕ/л), тестостерон (1,0 моль/л). После операции мастэктомии по Пейти были получены результаты стандартного гистологического исследования и иммуногистохимического анализа. Макроскопическая картина – размер опухоли 3 см, в пяти подмышечных лимфатических и одном шейном лимфатических узлах обнаружены метастазы. Опухолевая ткань имела следующий иммуногистохимический фенотип: негативный статус по рецепторам эстрогенов и прогестерона и позитивный статус по онкогену HER-2/peu.

Полученные данные в виде кодированных значений вносились в электронную таблицу значений, далее запускалась модель нейросетевого анализа. Полученный результат показал, что с вероятностью 90 % мы можем отнести данную больную в группу с неблагоприятным прогнозом

Используем формулу Байеса. У данной пациентки шансы на благоприятный прогноз составляют 7:18 (исходя из таблицы № 4).

$P_2 = P_1 \cdot NLR = 0,38 \cdot 0,14 = 0,05$ , т.е. шанс (S) благоприятного прогноза равен 0,05,

или  $P = (100 \cdot S) \div (S + 1) = (0,05 \cdot 100) \div (0,05 + 1) = 4,76 \%$ .

Таким образом, полученный результат после применения двух методов показал, что вероятность того, что пациентка проживет более 36 месяцев после операции составляет 4,76 процента.

На данных примерах продемонстрирована простота и эффективность метода нейросетевого анализа и формулы Байеса для создания статистической модели индивидуального прогноза рака молочной железы.

Работоспособность метода проверена на экзаменационной выборке в количестве 112 больных, достоверность результата прогнозирования составила 88,4 процента.

Нейросетевой анализ позволяет определить принадлежность пациентки к определенной группе (благоприятного или неблагоприятного прогноза). Если результатом прогнозирования является отнесение больного к группе с неблагоприятным прогнозом, то это позволит своевременно, не дожидаясь возникновения рецидива заболевания, скорректировать лечебную тактику (предложить проведение адъювантной химиотерапии, гормонотерапии), а также планировать и вести адекватную диспансеризацию больных раком молочной железы.

Реакция опухоли на изменение гормональной среды – одно из ярких проявлений зависимости злокачественного роста от организма. Гормональный статус организма оказывает влияние не только на частоту, латентный период возникновения опухолей, но и на их биологические свойства.

В практике лечения больных раком молочной железы значительное место занимают мероприятия, направленные на коррекцию эндокринного репродуктивного статуса пациенток. Отсюда очевидно, что местный стероидный рецепторный статус клеток рака и гормональный статус на уровне организма являются двумя неотъемлемыми сторонами одной проблемы. Можно констатировать, что современные схемы лечения больных раком молочной железы во многом базируются на истинном состоянии гормонального статуса женщины на этапах диагностики и лечения заболевания. Соответственно, данный статус должен оцениваться, исходя из объективных анализов концентрационных параметров уровня гормонов.

На отдаленный результат, как показало наше исследование, большое влияние оказывают клиничко-морфологические, иммуногистохимические параметры, гормональный статус женщин, болеющих раком молочной железы, которые характеризуют как степень распространенности опухолевого процесса, так и клиническое течение заболевания. Комплексный подход к изучению прогностических факторов на основе современного статистического анализа позволяет выстроить эффективную математическую модель прогноза, а использование данной модели в клинической практике поможет правильно выстроить лечебную тактику и выбрать оптимальный режим диспансеризации индивидуально для каждого больного.

## ВЫВОДЫ

- 1 При исследовании содержания гормонов в сыворотке крови женщин, больных раком молочной железы, отмечено повышение уровня: фолликулостимулирующего гормона – у 57 %, лютеинизирующего гормона – у 47 %, прогестерона – у 41 %, эстрадиола – у 47 %, тестосте-

- рона – у 26 % и снижение уровня пролактина – у 69 % обследованных женщин.
- 2 Изучение гормонального фона показало, что размер первичной опухоли, наличие регионарного метастазирования и гистологическая форма рака молочной железы не зависят от концентрации пролактина, фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов, прогестерона, эстрадиола, тестостерона в сыворотке крови больного.
  - 3 Отмечено снижение вероятности наличия рецепторов эстрогенов в ткани опухоли молочной железы при увеличении уровня лютеинизирующего гормона в сыворотке крови пациенток; при увеличении уровня пролактина в сыворотке крови снижается вероятность наличия рецепторов прогестерона в опухоли молочной железы.
  - 4 Экспрессия онкогена Her2/neu в ткани опухоли молочной железы не зависит от гормонального статуса женщин и в 72,6 % наблюдений сочеталась с отсутствием рецепторов эстрогена и прогестерона в ткани опухоли молочной железы.
  - 5 При изучении отдаленных результатов лечения больных раком молочной железы выявлено, что:
    - летальность больных коррелирует с негативным статусом по рецепторам эстрогенов и прогестерона и позитивным статусом по онкогену HER-2/neu. Наибольшая летальность отмечена в группе с Эр-Пр-Neu+опухольями и составила 40,74 процента;
    - летальность больных зависит от уровня лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов (с повышением уровня фолликулостимулирующего гормона выживаемость увеличивалась, с повышением уровня лютеинизирующего гормона – уменьшалась);
  - 6 На основе нейросетевого анализа гормонального статуса пациентов и оценки клинико-иммуноморфологического фенотипа опухоли разработана модель индивидуального прогноза результатов лечения у больных раком молочной железы.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

- 1 С целью оценки клинического течения рака молочной железы необходимо изучение комплекса факторов, влияющих на биологическое поведение опухолей, который должен включать исследование клинических, морфологических, иммуногистохимических параметров злокачественного процесса и гормонального фона пациентов.

- 2 Целесообразно определение содержания концентрации пролактина, эстрадиола и прогестерона, лютеинизирующего и фолликулстимулирующего гормонов в сыворотке крови и планирование адекватной гормональной терапии.
- 3 Прогнозирование исходов заболевания с использованием нейросетевого анализа и статистического метода Байеса позволит группе пациенток с плохим прогнозом проводить дополнительную патогенетическую терапию и выбрать оптимальный режим диспансерного наблюдения.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

- 1 Гатауллин И.Г., Петров С.В., Хусаинова Г.Н., Шамсутдинова Я.Ф. Иммуноморфологические критерии прогнозирования и лечения больных раком молочной железы // Медицинский альманах. – 2008, май. – С. 225–226 (лично автора – 0,07 п.л.).
- 2 Гатауллин И.Г., Хусаинова Г.Н., Петров С.В., Гильмутдинова М.Р. Патогенетическая значимость коррекции пролактина у больных раком молочной железы // Материалы IV конференции «Дни онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина в Самарской области». – Самара, 2008. – С. 24–25 (лично автора – 0,06 п.л.).
- 3 Гатауллин И.Г., Хусаинова Г.Н., Гильмутдинова М.Р., Петров С.В. Гормональный статус больных раком молочной железы при генерализации заболевания // Материалы V съезда онкологов и радиологов стран СНГ. – Ташкент, 2008. – С. 232 (лично автора – 0,04 п.л.).
- 4 Гатауллин И.Г., Хусаинова Г.Н., Петров С.В. Гормональный статус опухолей молочных желез // Сибирский онкологический журнал (перечень ВАК Минобрнауки РФ). – 2008. – № 2. – Приложение. – С. 35 (лично автора – 0,04 п.л.).
- 5 Гатауллин И.Г., Хусаинова Г.Н., Гильмутдинова М.Р., Петров С.В. Гормональный статус у больных раком молочной железы // Российский биотерапевтический журнал (перечень ВАК Минобрнауки РФ). – 2008. – № 1. – С. 57 (лично автора – 0,02 п.л.).
- 6 Хусаинова Г.Н., Гатауллин И.Г., Дружков О.Б., Мухитова М.Р. Клинико-иммуноморфологические критерии и гормональный статус больных раком молочной железы для оценки отдаленных результатов лечения // Практическая медицина. – 2009. – № 4 (36). – С. 60–63 (лично автора – 0,1 п.л.).
- 7 Хусаинова Г.Н., Гатауллин И.Г., Дружков О.Б., Мухитова М.Р. Значение клинико-иммуноморфологических критериев и гормонального статуса для оценки отдаленных результатов лечения больных раком молочной желе-

зы // **Казанский медицинский журнал** (перечень ВАК Минобрнауки РФ). – 2009. – Т. 90, № 6. – С. 842–845 (лично автора – 0,12 п.л.).

8 Гатауллин И.Г., Петров С.В., Хусайнова Г.Н., Шамсутдинова Я.Ф. Значение иммуноморфологических критериев для прогнозирования отдаленных результатов лечения больных раком молочной железы // **Материалы VII съезда онкологов России «Совершенствование медицинской помощи при онкологических заболеваниях, включая актуальные проблемы детской гематологии и онкологии. Национальная онкологическая программа».** – Москва, 2009. – Т. 1. – С. 221–222 (лично автора – 0,04 п.л.).

9 Хусайнова Г.Н., Гатауллин И.Г. Значение гормонального статуса и клинико-иммуноморфологических критериев для оценки отдаленных результатов лечения больных раком молочной железы // **Креативная хирургия.** – 2010. – №1 – С.57–59 (лично автора – 0,2 п.л.).



Подписано в печать 10.02.2010. Тираж 110 экз. Заказ 10-21

Отдел оперативной полиграфии ГУ «РМБИЦ»  
420059 Казань, ул. Хади Такташа, 125