

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького Національна академія наук України

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького Національна академія наук України

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

НЕБОРЕЦЬ АНАСТАСІЯ ДМИТРІВНА

УДК 618.19-006.6-033.2:616-008.9]-037-085

ДИСЕРТАЦІЯ

**ЦИТОМОРФОЛОГІЧНІ ТА ІМУНОФЕНОТИПОВІ
ОСОБЛИВОСТІ ПЕРВИННО-МЕТАСТАТИЧНОГО РАКУ ГРУДНОЇ
ЗАЛОЗИ**

22 – Охорона здоров'я

222 - Медицина

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ А.Д. Неборець

Науковий керівник Чехун Василь Федорович, академік НАН України, доктор медичних наук, професор

Київ – 2026

АНОТАЦІЯ

Неборець А.Д. Цитоморфологічні та імунофенотипові особливості первинно-метастатичного раку грудної залози. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» зі спеціальності 222 «Медицина» (онкологія) – Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ, 2026.

Рак грудної залози (РГЗ) залишається найпоширенішим злоякісним новоутворенням у світі та однією з провідних причин смертності жінок. Особливу клінічну складність діагностики та лікування становить первинно-метастатичного раку грудної залози (пМРГЗ), яких характеризується високим ризиком подальшої дисемінації злоякісно-трансформованих клітин та зрештою призводить до летальних наслідків. Сучасні дані літератури свідчать про те, що біологічна агресивність гормонзалежних пухлин, зокрема й пМРГЗ, детермінується різними факторами ризику, серед яких провідне місце займає метаболічний синдром (МетС). Враховуючи те, що пік поширеності МетС та найвища частота виявлення метастатичних форм РГЗ припадають саме на жінок постменопаузального віку, вивчення впливу системних метаболічних порушень на перебіг пухлинного процесу набуває найбільшого значення для пацієнток цієї вікової категорії. Тож визначення ролі системних порушень у формуванні агресивного фенотипу пМРГЗ може бути пріоритетним завданням для розробки індивідуалізованих стратегій ведення хворих з МетС.

Класичні морфологічні системи оцінки не враховують структурної гетерогенності пухлини та його стромального оточення, які під впливом метаболічних порушень здатні змінювати свої біохімічні та біомеханічні властивості. У контексті МетС потребують дослідження роль деяких морфологічних патернів: перитуморальних зон ретракції (ПЗР) та гіалінозу строми (ГС). Крім того, великого значення набуває вивчення експресії

рецепторів інсуліноподібного фактора росту 1 (IGF-1R) та матрицелюлярних білків (МЦБ): остеопонтину — OPN та остеонектину — ON, що можуть виступати додатковими індикаторами MetC-асоційованих змін пухлинної тканини. Враховуючи зазначене, пріоритетним напрямком сучасної онкології є комплексне дослідження взаємозв'язків між архітектонікою пухлинної тканини, її рецепторним профілем та метаболічним статусом хворих.

В ході виконання дисертаційної роботи було проведено комплексний аналіз клініко-патоморфологічних, цитоморфологічних та молекулярних особливостей пМРГЗ залежно від наявності у пацієток MetC.

Аналіз клініко-анамнестичних показників дозволив встановити, що частота виникнення MetC у хворих на пМРГЗ становить 48,4%, а середній вік склав $61,7 \pm 1,6$ років. У 60% хворих на первинно-метастатичні форми РГЗ та наявністю MetC діагностовано комбінований (кістково-вісцеральний) варіант метастатичного ураження віддалених органів, що свідчить про більш агресивний варіант перебігу захворювання, порівняно з пацієтками без ознак MetC ($p=0,013$). За результатами багатофакторного аналізу доведено, що наявність MetC у хворих на пМРГЗ виступає незалежним предиктором множинного метастазування (ВШ=3.59; 95% ДІ 1.34–9.61; $p=0.011$).

Визначено, що характерною ознакою тканини пМРГЗ за наявності MetC є висока частота гіалінової дегенерації стромального компоненту ($p=0,002$) та формування перитуморальних зон ретракції ($p=0,014$). Виявлено достовірний зв'язок між наявністю множинного метастазування та утворенням зон ретракції ($p=0,015$). У тканині пМРГЗ пацієток з множинним метастазуванням частотіше спостерігались перитуморальні простори великого розміру (69,0% пацієток присвоєно по 2 і 3 бали), тоді як, пухлинна тканина хворих з солітарним метастатичним ураженням демонструвала наявність ПЗР з протилежними характеристиками (57,8% присвоєно 0 або 1 бал).

На наступному етапі роботи проведено дослідження визначення експресії IGF-1R у пухлинній тканині хворих на пМРГЗ. Доведено, що рівень

експресії IGF-1R у тканині пМРГЗ залежить від наявності у хворих MetC та характеризується достовірно вищим його показником ($204,0 \pm 52,4$ бала H-Score, проти $159,6 \pm 60,6$, $p=0,006$). Особливістю експресії IGF-1R у пухлинній тканині пМРГЗ пацієнок групи MetC+ стала відсутність випадків зі слабким рівнем експресії, тоді як частота визначення даної категорії у тканині хворих без MetC становила 16,7%. Натомість, випадки з високим рівнем експресії рецептора фіксувалися достовірно частіше в тканині хворих на пМРГЗ з наявним MetC у порівнянні з пухлинною тканиною пацієнок без ознак метаболічних дисфункцій (48,0% проти 30,0%, $p = 0,046$). Статистичний аналіз підтвердив достовірне зростання експресії IGF-1R в пухлинній тканині хворих на пМРГЗ за наявності множинних метастатичних вогнищ, порівняно з даними пацієнок із солітарним ураженням віддалених органів ($216,4 \pm 36,1$ балів проти $135,9 \pm 55,2$ бала H-Score, $p < 0,001$ відповідно).

В ході дослідження з'ясовано особливості топології віддаленого метастазування пМРГЗ в залежності від рівня експресії IGF-1R: найнижчі показники спостерігались за умови ізольованого ураження кісткової системи ($106,7 \pm 54,4$ балів H-Score), тоді як кістково-вісцеральний варіант ураження асоціювався зі зростанням експресії майже вдвічі ($193,8 \pm 58,5$ бала H-Score, $p_1=0,012$).

На наступному етапі роботи проведено дослідження значення експресії МЦБ у пухлинній тканині хворих на пМРГЗ. Встановлено достовірний зв'язок між рівнем експресії OPN (коефіцієнт- $\gamma = 0,351$, $Z=1,872$, $p=0,05$) та метаболічним профілем пацієнок на пМРГЗ. Аналіз клінічних та молекулярно-біологічних особливостей пМРГЗ продемонстрував статистично значуще зростання експресії OPN зі збільшенням ступеня ураження регіонарних лімфатичних вузлів ($p=0,033$) та зв'язок із розвитком рецептор-негативних новоутворень (коефіцієнт- $\gamma = -0,522$, $Z=-2,06$, $p=0,039$). У пацієнок з гормон-негативним профілем тканини новоутворення зафіксовано тенденцію до вищих рівнів експресії ON ($168,6 \pm 82,3$ балів H-Score) порівняно з хворими на рецептор-позитивний пМРГЗ ($121,3 \pm 79,9$ балів H-

Score, $p=0,086$). Визначено, що достовірно менший рівень експресії ON зафіксовано у тканині хворих на пМРГЗ із ураженням кісткової системи ($116,8\pm 77,2$ балів H-Score), порівняно з пацієнтками, в яких було діагностовано метастази у вісцеральних органах ($212,8\pm 59,3$ балів H-Score, $p_3=0,002$).

Визначено зв'язок рівня експресії ON у тканині пМРГЗ з особливостями топології віддаленого метастазування: найнижчі показники спостерігались за умови ізольованого ураження кісткової системи ($116,8\pm 77$ балів H-Score), тоді як кістково-вісцеральний варіант ураження асоціювався зі зростанням експресії майже вдвічі ($212,8\pm 59,3$ бала H-Score, $p_3=0,002$).

У результаті попередніх досліджень, було ідентифіковано профіль експресії молекулярних маркерів у хворих з MetC. Встановлено, що 3-річна виживаність хворих на пМРГЗ була достовірно меншою на 9,8% у пухлинній тканині з високим рівнем експресії за IGF1R (>180 балів H-Score), OPN (>200 балів H-Score) та низьким ON (<150 бала H-Score).

У заключення, розроблено алгоритм прогнозування перебігу пМРГЗ (Metabol-Aggressive Score – MAS-шкала), що базується на інтегральній оцінці віку, метаболічного статусу пацієток, показників експресії IGF-1R, OPN та ON, а також визначення наявності перитуморальних зон ретракції в пухлинній тканині. Оптимальним пороговим значенням для визначення пацієток, що належать до групи високого ризику, визначено сумарний показник 4 бали ($p=0,0002$).

Ключові слова: первинно-метастатичний рак грудної залози, пухлинна тканина, рак молочної залози, метаболічний синдром, проліферативна активність, імуногістохімічний метод, гіаліноз, перитуморальні зони ретракції, матрицелюлярні білки, остеопонтин, остеонектин, рецептор до інсуліноподібного фактора росту 1.

SUMMARY

Neborets A.D. Cytomorphological and immunophenotypic features of primary metastatic breast cancer. – Manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 "Health Care" in the specialty 222 "Medicine" (Oncology) – R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2026.

Breast cancer (BC) remains the most common malignant neoplasm worldwide and a leading cause of female mortality. Primary metastatic breast cancer (pmBC) poses a particular clinical challenge for diagnosis and treatment, as it is characterized by a high risk of further dissemination of malignantly transformed cells and ultimately leads to fatal outcomes. Current literature indicates that the biological aggressiveness of hormone-dependent tumors, including pmBC, is determined by various risk factors, among which metabolic syndrome (MetS) plays a leading role. Given that the peak prevalence of MetS and the highest incidence of metastatic BC forms occur precisely in postmenopausal women, studying the impact of systemic metabolic disorders on the tumor process is of paramount importance for patients in this age group. Therefore, determining the role of systemic disorders in the formation of the aggressive pmBC phenotype may be a priority for developing individualized management strategies for patients with MetS.

Classical morphological assessment systems do not account for the structural heterogeneity of the tumor and its stromal environment, which can alter their biochemical and biomechanical properties under the influence of metabolic disorders. In the context of MetS, the role of certain morphological patterns requires investigation: peritumoral retraction clefts (PRCs) and stromal hyalinosis (SH). Furthermore, studying the expression of insulin-like growth factor 1 receptor (IGF-1R) and matricellular proteins (MCPs): osteopontin (OPN) and osteonectin (ON), which may serve as additional indicators of MetS-associated changes in

tumor tissue, is of great importance. Given the above, a priority direction of modern oncology is a comprehensive study of the interrelationships between the architecture of tumor tissue, its receptor profile, and the metabolic status of patients.

During the dissertation work, a comprehensive analysis of clinical-pathomorphological, cytomorphological, and molecular features of pmBC depending on the presence of MetS in patients was conducted.

Analysis of clinical and anamnestic indicators revealed that the incidence of MetS in pmBC patients is 48.4%, with a mean age of 61.7 ± 1.6 years. In 60% of patients with primary metastatic BC and concomitant MetS, a combined (bone-visceral) variant of metastatic involvement of distant organs was diagnosed, indicating a more aggressive course of the disease compared to patients without signs of MetS ($p=0.013$). Multivariate analysis confirmed that the presence of MetS in pmBC patients acts as an independent predictor of multiple metastases (OR=3.59; 95% CI 1.34–9.61; $p=0.011$).

It was determined that a characteristic feature of pmBC tissue in the presence of MetS is a high frequency of hyaline degeneration of the stromal component ($p=0.002$) and the formation of peritumoral retraction clefts ($p=0.014$). A significant relationship was found between the presence of multiple metastases and the formation of retraction clefts ($p=0.015$). In pmBC tissue of patients with multiple metastases, large peritumoral spaces were observed more frequently (69.0% of patients scored 2 and 3 points), whereas tumor tissue from patients with solitary metastatic involvement demonstrated PRZs with opposite characteristics (57.8% scored 0 or 1 point).

At the next stage of the work, the expression of IGF-1R in the tumor tissue of pmBC patients was studied. It was proven that the level of IGF-1R expression in pmBC tissue depends on the presence of MetS in patients and is characterized by a significantly higher value (204.0 ± 52.4 H-Score points, vs. 159.6 ± 60.6 , $p=0.006$). A peculiarity of IGF-1R expression in the tumor tissue of pmBC patients in the MetS+ group was the absence of cases with weak expression levels, whereas the

frequency of this category in the tissue of patients without MetS was 16.7%. In contrast, cases with high receptor expression levels were recorded significantly more often in the tissue of pmBC patients with MetS compared to tumor tissue of patients without signs of metabolic dysfunctions (48.0% vs. 30.0%, $p = 0.046$). Statistical analysis confirmed a significant increase in IGF-1R expression in the tumor tissue of pmBC patients with multiple metastatic foci compared to data from patients with solitary involvement of distant organs (216.4 ± 36.1 points vs. 135.9 ± 55.2 H-Score points, $p < 0.001$, respectively).

The study elucidated the features of distant metastasis topology in pmBC depending on the level of IGF-1R expression: the lowest values were observed in cases of isolated bone system involvement (106.7 ± 54.4 H-Score points), whereas bone-visceral involvement was associated with an almost twofold increase in expression (193.8 ± 58.5 H-Score points, $p = 0.012$).

At the next stage, the significance of MCP expression in the tumor tissue of pmBC patients was investigated. A significant relationship was established between the level of OPN expression (coefficient- $\gamma = 0.351$, $Z = 1.872$, $p = 0.05$) and the metabolic profile of pmBC patients. Analysis of clinical and molecular-biological features of pmBC demonstrated a statistically significant increase in OPN expression with an increasing degree of regional lymph node involvement ($p = 0.033$) and an association with the development of receptor-negative neoplasms (coefficient- $\gamma = -0.522$, $Z = -2.06$, $p = 0.039$). In patients with a hormone-negative tumor tissue profile, a tendency towards higher ON expression levels (168.6 ± 82.3 H-Score points) was recorded compared to patients with receptor-positive pmBC (121.3 ± 79.9 H-Score points, $p = 0.086$). It was determined that a significantly lower level of ON expression was recorded in the tissue of pmBC patients with bone system involvement (116.8 ± 77.2 H-Score points) compared to patients diagnosed with metastases in visceral organs (212.8 ± 59.3 H-Score points, $p = 0.002$).

A relationship was determined between the level of ON expression in pmBC tissue and the features of distant metastasis topology: the lowest values were observed in cases of isolated bone system involvement (116.8 ± 77 H-Score points),

whereas bone-visceral involvement was associated with an almost twofold increase in expression (212.8 ± 59.3 H-Score points, $p=0.002$).

As a result of preliminary studies, a profile of molecular marker expression in patients with MetS was identified. It was established that the 3-year survival rate of pmBC patients was significantly lower by 9.8% in tumor tissue with high expression levels of IGF1R (>180 H-Score points), OPN (>200 H-Score points), and low ON (<150 H-Score points).

In conclusion, an algorithm for predicting the course of pmBC (Metabol-Aggressive Score – MAS scale) was developed, based on an integral assessment of age, metabolic status of patients, expression levels of IGF-1R, OPN, and ON, as well as the determination of the presence of peritumoral retraction clefts in the tumor tissue. A total score of 4 points ($p=0.0002$) was determined as the optimal threshold for identifying patients belonging to the high-risk group.

Keywords: primary metastatic breast cancer, tumor tissue, breast cancer, metabolic syndrome, proliferative activity, immunohistochemical method, hyalinosis, peritumoral retraction clefts, extracellular matrix proteins, osteopontin, osteonectin, insulin-like growth factor 1 receptor.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Неборець АД, Налєскіна ЛА. Цитоархітектоніка різних за молекулярним підтипом пухлин хворих на рак молочної залози, обтяжених метаболічним синдромом. Онкологія. 2024;26(3):172-179. <https://doi.org/10.15407/oncology.2024.03.172> (*Особистий внесок здобувача: проведення відбору та мікроскопії препаратів, підготовка статті до публікації*)

2. Неборець АД, Чехун ВФ. Клініко-патологічні особливості метастатичного раку грудної залози в пацієнток із метаболічним синдромом. Український журнал Здоров'я жінки. 2024;6(175):9-15. doi: 10.15574/HW.2024.6(175).915 (*Особистий внесок здобувача: проведення збору та статистичної обробки даних, підготовка статті до публікації*)

3. Неборець АД. Біоінформатичний аналіз особливостей експресії генів інсулінового сигнального шляху у пацієнток з раком молочної залози. Онкологія. 2025;27(4):217–222. <https://doi.org/10.15407/oncology.2025.04.217> (*Особистий внесок здобувача: підготовка концепції та дизайну роботи, збору та статистичної обробки даних, виконання аналізу отриманих результатів, підготовка статті до публікації*).

4. Neborets AD, Nikolayenko SI, Smolanka II, Krotevych MS, Med VV, Gichka SG, Chekhun VF. Expression Patterns of Matricellular Proteins in Metastatic Breast Cancer at the Background of Metabolic Syndrome. Exp Oncol. 2025 Feb 20;46(4):333-340. doi: 10.15407/exp-oncology.2024.04.333. (*Особистий внесок здобувача: проведення збору та статистичної обробки даних, підготовка статті до публікації*)

5. Неборець АД, Мед ВВ, Чехун В. Цитоморфологічні особливості перебігу раку грудної залози на тлі метаболічного синдрому у жінок в постменопаузальному періоді. В: Можливості морфологічних методів у верифікації пухлинних і непухлинних захворювань на сучасному рівні : II

З'їзд ГО «Українська асоціація цитопатологів», м. Київ 6-7 листопада 2023. Київ: Національний інститут раку; 2023, с. 261-262.

6. Неборець АД. Роль матрицелюлярних білків асоційованих з впливом метаболічного синдрому у пацієток з метастатичним раком грудної залози. В: Сучасні погляди на лікування гінекологічної та онкогінекологічної патології: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, 22-23 березня 2025. Київ; 2025, с.18-19.

7. Неборець АД, Чехун ВФ. Особливості експресії остеопонтину у пацієток з метастатичним раком грудної залози, обтяжених метаболічним синдромом. В: Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю до Всесвітнього дня здоров'я 2025 р. Клінічна та профілактична медицина. 2025; 4:174. Доступно з: <https://cp-medical.com/index.php/journal/issue/view/41/4-2025-pdf>

8. Neborets AD. The role of matricellular proteins in the prediction of breast cancer aggressiveness in patients with metabolic syndrome. The International Conference on Cancer Science and Breast Cancer Therapy, Dubai, UAE, 12-13 May 2025, pp. 36.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	15
ВСТУП	16
Розділ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	24
1.1. Епідеміологічні аспекти та сучасні тенденції поширеності пМРГЗ	24
1.2. Патогенетичний взаємозв'язок MetC з метастатичним фенотипом РГЗ	27
1.3. Шляхи впливу компонентів MetC на агресивність перебігу РГЗ	29
1.4. Гістологічні особливості, асоційовані з агресивним фенотипом пМРГЗ	33
1.5. Матрицелюлярні білки як потенційні індикатори MetC-асоційованої агресивності РГ	36
1.5.1. Остеопонтин - багатогранний промоутер агресивності, чутливий до метаболічних сигналів	37
1.5.2. Остеонектин - потенційний модулятор впливу MetC	38
Розділ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	41
2.1. Загальна характеристика клінічного матеріалу	41
2.2. Ретроспективний аналіз анамнестичних та клініко-лабораторних показників хворих з пМРГЗ	43
2.2.1. Критерії верифікації MetC у хворих на пМРГЗ	43
2.3. Гістологічний метод дослідження тканини пМРГЗ	43
2.4. Оцінка специфічних змін стромального мікрооточення пМ	47
2.5. Імуногістохімічне дослідження експресії молекулярних маркерів у тканині пМРГЗ	48
2.6. Метод оцінки результатів ІГХ-дослідження тканини пМРГ	50
2.6.1. Критерії визначення рецепторного статусу пМРГЗ та рівня її проліферативної активності	50
2.6.2. Особливості візуалізації IGF-1R та матрицелюлярних білків	51

2.7	Методи статистичної обробки одержаних результатів	51
Розділ 3. КЛІНІКО-ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРВИННО-МЕТАСТАТИЧНОГО РГЗ ТА ОСОБЛИВОСТІ ЙОГО ПЕРЕБІГУ У ПАЦІЄНТОК З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ		54
3.1	Загальна характеристика хворих на пМРГЗ	54
3.2	Оцінка ризиків множинного метастазування пМРГЗ	61
3.3	Аналіз показників загальної виживаності пацієнток з пМРГЗ за умови наявності MetC	65
Розділ 4. МОРФОЛОГІЧНІ ІНДИКАТОРИ АГРЕСИВОСТІ ПЕРВИННО-МЕТАСТАТИЧНОГО РАКУ ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ, АСОЦІЙОВАНІ З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ		70
4.1	Зв'язок морфологічних маркерів несприятливого перебігу пМРГЗ з наявністю MetC	71
4.2	Роль морфологічних маркерів у розвитку агресивного варіанту пМРГЗ	73
4.3	Клінічні випадки	75
Розділ 5. ЗНАЧЕННЯ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ IGF-1R, ORN ТА ON В ІНДИВІДУАЛІЗАЦІЇ ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ ПЕРВИННО-МЕТАСТАТИЧНОГО РАКУ ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ		82
5.1	Аналіз експресії молекулярних маркерів та їх зв'язок з клініко-патоморфологічними характеристиками пМРГЗ	83
5.2	Аналіз експресії досліджуваних маркерів у пацієнток з різними клініко-патологічними характеристиками	90
5.3	Аналіз експресії молекулярних маркерів залежно від характеру метастазування у віддалені органи	93
Розділ 6. РОЗРОБКА АЛГОРИТМУ ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ пМРГЗ У ПАЦІЄНТОК З МЕТАБОЛІЧНИМ		99

СИНДРОМОМ

6.1	Багатофакторне моделювання виживаності пацієток на пМРГЗ	99
6.2	Алгоритм оптимізованого моніторингу пацієток на пМРГЗ з формуванням груп високого ризику	103
6.2.1	Методологічне обґрунтування моделі та система присвоєння балів	103
6.2.2	Статистичне обґрунтування прогностичної ефективності алгоритму	104
Розділ 7. УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ		108
ВИСНОВКИ		116
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ		118
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ		119
ДОДАТОК А		145

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ГС – гіаліноз строми

ДАТ – діастолічний артеріальний тиск

ЕМП – епітеліально-мезенхімальний перехід

ЗХ – загальний холестерин

ІДК – інвазивна долькова карцинома

ІК НТ – інвазивна карцинома неспецифічного типу

ІМТ – індекс маси тіла

ЛПВЩ – ліпопротеїди високої щільності

ЛПДНЩ – ліпопротеїди дуже низької щільності

ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності

МетС – метаболічний синдром

ММП – матриксні металопротеїнази

МЦБ – матрицелюлярні білки

пМРГЗ – первинно-метастатичний рак грудної залози

РГЗ – рак грудної залози

ПЗР – перитуморальні зони ретракції

ПКМ – позаклітинний матрикс

САТ – систолічний артеріальний тиск

ТГ – тригліцериди

ER - receptor estrogene (рецептор естрогену)

IGF-1R – insulin growth factor 1 receptor (рецептор до інсуліноподібного фактора росту 1)

IL-6 – interleukin 6 (інтерлейкін 6)

MAS - metabolic-aggressive score (показник метаболічної-агресивності)

ON – osteonectin (остеонектин)

OPN – osteopontin (остеопонтин)

PR – receptor progesterone (рецептор прогестерону)

TNF- α - tumor necrosis factor- α (фактор некрозу пухлини- α)

ВСТУП

Актуальність теми

На сьогоднішній день рак грудної залози (РГЗ) продовжує утримувати статус найбільш розповсюдженого злоякісного новоутворення у світі, випереджаючи за показниками захворюваності злоякісні новоутворення легень [168, 191]. Згідно з даними звіту GLOBOCAN 2022 у світі зафіксовано близько 2,3 мільйона нових випадків, що становить 11,6% у загальній структурі онкопатології. При цьому РГЗ залишається однією з провідних причин смертності осіб жіночої статі у більшості країн світу: понад 600 тис. летальних випадків. Прогнозується, що до 2050 року поширеність РГЗ зросте на 40% і сягне понад 3,2 мільйона випадків на рік [36]. Окрім того, найбільший соціально-економічний тягар для системи охорони здоров'я припадає на метастатичні форми РГЗ [20, 47, 71]. За даними літератури, на момент встановлення діагнозу наявність віддалених метастазів діагностуються у пацієток понад 11%, найбільшу частку випадків яких становлять люди старшого віку та нижчого соціально-економічного статусу [30]. У той же час, майже третина пацієток має ризик поширення процесу на ранніх стадіях захворювання: з I стадією цей показник до 25%, тоді як при II стадії сягає 30–35% [160], а первинно - метастатичний рак грудної залози (пМРГЗ) стає однією з головних причин смертності жінок з прогресуючими формами захворювання [68, 120].

Накопичені дані численних фундаментальних та клінічних досліджень переконливо свідчать про наявність тісного зв'язку між гормонзалежними пухлинами та метаболічними порушеннями, зокрема компонентами метаболічного синдрому (MetS) [56, 130, 142]. Поширеність MetS продовжує невпинно зростати, особливо серед жінок постменопаузального віку, що створює серйозні виклики для сучасної медицини [45]. Проте, ступінь впливу MetS на перебіг пМРГЗ та механізми модуляції агресивного потенціалу захворювання потребують детального вивчення [32, 88].

Наявність метаболічної дисфункції суттєво обмежує можливості стандартних діагностичних підходів у прогнозуванні перебігу онкологічного процесу та виборі оптимальної тактики ведення пацієнток із пМРГЗ [135].

Важливим етапом та «золотим стандартом» діагностики РГЗ залишається гістологічне дослідження біоптату тканини грудної залози або операційного матеріалу [104, 165]. Незважаючи на те, що морфологія пухлин грудної залози ретельно висвітлена у численних публікаціях, оновленій Класифікації пухлин грудної залози ВООЗ (5-те видання, 2019р.) [176, 189] та Ноттінгемської комбінованої гістологічної класифікації [59], у ряді випадків можуть визначатись додаткові морфологічні ознаки зміни архітекtonіки новоутворення [126]. Природа виникнення таких особливостей залишається недостатньо з'ясованою, проте існують припущення щодо їхнього зв'язку із системними метаболічними порушеннями, зокрема MetC. Сучасні літературні джерела дають підстави вважати, що MetC здатен впливати на біохімічні та біомеханічні властивості стромы та сприяти появі окремих нетипових гістологічних ознак [26, 121].

Наявність окремих структурно-функціональних змін архітекtonіки тканини пМРГЗ спонукає до поглибленого вивчення молекулярних медіаторів, що стають спільними ланками для системних метаболічних сигналів та етапів пухлинної прогресії, включно з метастазуванням [94]. Саме тому, дослідження останніх років спрямовані на пошук спільних молекулярних маркерів, які асоційовані з агресивним фенотипом РГЗ та MetC [32, 94, 125]. Відомо, що зміна метаболічного профілю клітини здатна створювати сприятливе середовище для прогресії РГЗ, а реалізація його агресивного потенціалу контролюється, у тому числі, й зовнішніми сигналами. Серед таких ключове значення належить інсуліновому сигнальному каскаду [52, 134]. Попри те, що цей шлях нараховує велику кількість рецепторів, головне значення для злоякісної трансформації клітини належить саме рецептору інсуліноподібного фактора росту 1 (IGF-1R) [149]. Гіперекспресія IGF-1R відіграє провідну роль у передачі проліферативних та

антиапоптотичних сигналів у пухлинній клітині, а також розглядається в якості додаткового маркера агресивного фенотипу РГЗ [98, 188].

Водночас реалізація метастазування неможлива без перебудови пухлинного мікрооточення, яке зазнає суттєвих трансформацій в умовах MetC [150, 196]. Саме тому в сучасній літературі активно обговорюється значення матрицелюлярних білків (МЦБ) у формуванні внутрішньопухлинної гетерогенності та реалізації метастатичного потенціалу РГЗ [9, 42]. Згідно з останніми експериментальними та клінічними даними, неколагенові протеїни позаклітинного матриксу, зокрема остеопонтин (OPN) та остонектин (ON), відіграють важливу роль у процесах інвазії та системної дисемінації пухлини, зокрема й РГЗ [202]. На сьогоднішній день остаточно доведено, що порушення експресії OPN та ON асоціюється з наявністю регіонарного та віддаленого метастазування [197, 169], однак особливості експресії цих маркерів у пацієток із первинно-метастатичними формами захворювання за наявності метаболічних розладів залишаються недостатньо вивченими.

Таким чином, поглиблення досліджень у напрямку встановлення взаємозв'язків між специфічними змінами архітекtonіки пухлинної тканини та модифікацією її рецепторного профілю з урахуванням метаболічного статусу хворих сприятиме оптимізації прогностичних моделей та розробці персоналізованих стратегій ведення пацієток із пМРГЗ.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами:
Дисертація виконувалась в рамках науково-дослідних робіт Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України: «Роль маркерів ремоделювання кісткової тканини у формуванні ступеня злякисності найбільш розповсюджених 20 гормонозалежних новоутворень» (2019-2023 рр., державний реєстраційний №0118U005468); «Молекулярно-біологічні фактори гетерогенності злякисних клітин та варіабельності клітинного перебігу гормонзалежних пухлин» (2017-2021 рр., державний реєстраційний №0117U002034);

«Верифікація ключових патоморфологічних ознак пухлинного росту як інноваційних елементів штучного інтелекту в оптимізації технології діагностики раку молочної залози» (2021-2022 рр., державний реєстраційний №0112U110569).

Мета дослідження: З'ясувати особливості цитоархітекtonіки та значимість деяких імунофенотипових маркерів первинно-метастатичного раку грудної залози за наявності метаболічного синдрому.

Задачі дослідження:

1. Визначити клініко-патоморфологічні особливості пМРГЗ у пацієнток із метаболічним синдромом.
2. Ідентифікувати характеристики цитоархітекtonіки тканини пМРГЗ за наявності метаболічних порушень.
3. Дослідити експресію IGF-1R та матрицелюлярних білків OPN, ON у тканині пМРГЗ та визначити кореляційні зв'язки їх показників із клініко-патологічними характеристиками новоутворень та метаболічним профілем хворих.
4. Проаналізувати показники виживаності хворих на пМРГЗ за наявності метаболічного синдрому з урахуванням показників експресії IGF-1R та матрицелюлярних білків у пухлинній тканині.
5. Розробити алгоритм прогнозування перебігу пМРГЗ у хворих з метаболічними порушеннями.

Об'єкт дослідження: первинно-метастатичний рак грудної залози.

Предмет дослідження: особливості цитоархітекtonіки та показників експресії IGF-1R та матрицелюлярних білків (OPN, ON) у тканині пМРГЗ за наявності.

Методи дослідження

Для визначення морфологічних особливостей цитоархітекtonіки тканин пМРГЗ (перитуморальних зон ретракції та гіалінозу стромі) застосовували класичний метод мікроскопії гістологічних препаратів забарвлених гематоксиліном та еозином. Рівні експресії IGF-1R, OPN та ON у

тканині пМРГЗ визначали ІГХ-методом. Статистичне порівняння середніх значень кількісних показників між двома незалежними групами проводили за допомогою *t*-критерію Стьюдента або непараметричного *U*-критерію Манна–Уїтні. Аналіз впорядкованих залежностей між ранговими показниками маркерів та клініко-патоморфологічними характеристиками пухлини здійснювали з використанням γ -кореляційного аналізу Гудмена–Крускала. Показники загальної виживаності пацієток оцінювали за методом Каплана–Мейєра. Динаміку ризиків виникнення летальних випадків оцінювали шляхом розрахунку функції інтенсивності відмов (Hazard Function). Для виявлення незалежних прогностичних чинників та оцінки їхнього сукупного впливу застосовували багатофакторну регресійну модель пропорційних ризиків Кокса, а для прогнозування ймовірності множинного метастазування — моделі логістичної регресії. Статистично значущими вважали розбіжності при $p \leq 0,05$.

Наукова новизна одержаних результатів

Вперше визначено комплекс цитоморфологічних та імунофенотипових характеристик пМРГЗ, асоційованого з MetC.

Вперше доведено, що наявність MetC у пацієток на пМРГЗ асоціюється зі зростанням ризику множинного метастатичного ураження віддалених органів у 3,6 рази (ВШ=3.59; 95% ДІ 1.34–9.61; $p=0.011$). У переважної більшості хворих на пМРГЗ за наявності MetC діагностовано комбінований (кістково-вісцеральний) варіант метастатичного ураження віддалених органів ($p=0,013$), що свідчить про більш агресивний варіант перебігу захворювання.

Вперше визначено, що характерною ознакою тканини пМРГЗ за наявності MetC є висока частота гіалінової дегенерації стромального компоненту мікрооточення ($p=0,002$) та формування перитуморальних зон ретракції (ПЗР), $p=0,014$. Встановлено достовірний зв'язок між наявністю множинного метастазування та утворенням зон ретракції у тканині пМРГЗ

(коефіцієнт- $\gamma = 0,378$, $Z=2,434$, $p=0,015$), що може вказувати на метаболічно-асоційоване ремоделювання позаклітинного матриксу пухлинної тканини.

Вперше встановлено асоціацію експресії IGF-1R у тканині пМРГЗ хворих із MetC ($p=0,006$) та множинного ураження віддалених органів, порівняно із такою у пацієток із виявленим солітарним метастатичним ураженням ($p<0,001$). З'ясовано особливості топології віддаленого метастазування в залежності від експресії IGF-1R: найнижчий рівень експресії зафіксовано за наявності ізольованого ураження кісткової системи ($106,7\pm 54,4$ бали H-Score), тоді як кістково-вісцеральний варіант ураження асоціювався зі зростанням експресії IGF-1R майже удвічі ($193,8\pm 58,5$ балів H-Score, $p=0,012$).

Вперше встановлено особливості експресії МЦБ у тканині хворих на пМРГЗ на тлі MetC. Відзначено наявність зв'язку між рівнем експресії OPN та наявністю MetC у хворих на пМРГЗ (коефіцієнт- $\gamma = 0,351$, $Z=1,872$, $p=0,05$). Достовірно меншу експресію ON відзначено у пухлинних клітинах хворих на пМРГЗ з ураженням кісткової системи ($116,8\pm 77,2$ балів H-Score) порівняно з показниками пацієток із діагностованими метастазами у вісцеральні органи ($212,8\pm 59,3$ балів H-Score, $p_3=0,002$).

Практичне значення одержаних результатів

Обґрунтовано доцільність комплексного врахування цитоморфологічних ознак та показників експресії IGF-1R, матрицелюлярних протеїнів OPN та ON для більш детальної характеристики пМРГЗ у пацієток із MetC. Розроблено алгоритм прогнозування перебігу пМРГЗ, що базується на інтегральній оцінці метаболічного статусу пацієток, показників експресії IGF-1R, OPN та ON, а також визначення наявності ПЗР у пухлинній тканині. Використання запропонованого алгоритму дозволяє визначити пацієнтів з розвитком більш агресивного варіанту пМРГЗ, що був детермінований впливом MetC.

Впровадження отриманих даних у клінічну практику в майбутньому сприятиме вчасному виявленню кістково-вісцеральних метастазів та

забезпечить персоніфікований терапевтичний підхід для пацієток з метаболічними дисфункціями.

Результати дослідження та розроблений алгоритм можуть бути використані в практичній роботі онкологічних диспансерів та патоморфологічних лабораторіях України, запроваджені в освітній процес лікарів-інтернів, клінічних ординаторів і лікарів-онкологів на циклах спеціалізації та підвищення кваліфікації.

Особистий внесок здобувача

Автором роботи самостійно виконано аналіз даних вітчизняної та зарубіжної літератури, здійснено ретроспективний відбір, систематизацію та клініко-морфологічний аналіз архівного матеріалу. Здобувачем самостійно сформовано клінічні групи залежно від метаболічного статусу, проведено оцінку анамнестичних даних та лабораторних показників метаболічного синдрому. Спільно з науковим керівником визначено основні напрямки дослідження, обґрунтовано методологічний підхід та сформульовано наукові положення роботи. Автором особисто виконано етапи морфологічного та ІГХ-дослідження тканин, а також мікроскопічну оцінку результатів із використанням напівкількісного підрахунку за шкалою H-Score. Здобувачем проведено статистичну обробку та інтерпретацію отриманих результатів, зокрема побудовано моделі регресії Кокса та логістичної регресії, а також розроблено алгоритм стратифікації пацієток за групами ризику. Дисертантом повністю виконано індивідуальний план наукової роботи та освітньої програми. Отримані результати є авторськими, науково обґрунтованими та дозволили розв'язати актуальне наукове завдання — визначити особливості цитоархітектоніки та значимість деяких імунофенотипових маркерів пМРГЗ за наявності MetC.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були представлені та обговорені на: II З'їзді ГО «Українська асоціація цитопатологів»: Можливості морфологічних методів у верифікації

пухлинних і непухлинних захворювань на сучасному рівні (6-7 листопада 2023, м. Київ, Україна); Всеукраїнській міждисциплінарній фаховій школі «Здоров'я жінки. Сучасні перинатальні стратегії» (21-22 березня 2025, м. Чернівці, Україна); Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні погляди на лікування гінекологічної та онкогінекологічної патології» (22-23 березня 2025, м. Івано-Франківськ, Україна); UkraineOncoGlobal-2025. Season3 (26 березня 2025, м. Київ, Україна); Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Здоровий початок життя – запорука благополучного майбутнього» (4 квітня 2025, м. Київ, Україна); The International Conference on Cancer Science and Breast Cancer Therapy (12-13 травня 2025, Dubai, UAE).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 8 наукових праць, зокрема 4 наукові статті у виданнях, рекомендованих МОН України, 1 з яких у виданні, що індексується у наукометричній базі даних Scopus (Experimental Oncology, 2024 рік - імпакт фактор 1,5) та 4 тезах доповідей наукових конференцій.

Обсяг та структура дисертації.

Дисертаційна науково-кваліфікаційна робота викладена на 147 сторінках друкованого тексту і складається зі вступу, 7 розділів власних досліджень, висновків, додатку. Робота ілюстрована 20 рисунками, 26 таблицями, 1 схемою, містить 1 формулу. Список використаної літератури нараховує 205 джерел, з них 9 – кирилицею та 196 – латиницею.

Розділ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Епідеміологічні аспекти та сучасні тенденції поширеності пМРГЗ

Рак грудної залози (РГЗ) залишається найбільш розповсюдженим захворюванням у структурі онкологічної патології жіночої частини населення, вкотре випереджаючи рак легень [168, 191]. За останніми даними звіту GLOBOCAN 2022, у світі зареєстровано близько 2,3 мільйона нових випадків захворювання, що становить 11,6% у загальній структурі неоплазій [36]. Ландшафт захворюваності на РГЗ демонструє виражену географічну та соціально-економічну гетерогенність: найвищі показники фіксуються у розвинених країнах (66,4 на 100 тис. населення), тоді як у країнах, що розвиваються, цей показник становить 27,3 на 100 тис., що зумовлено відмінностями в способі життя населення та доступності програм ранньої діагностики [20, 47, 71, 168]. Демографічні прогнози свідчать про тенденцію подальшого зростання тягаря хвороби на систему охорони здоров'я у всьому світі: очікується до 2050 року збільшення кількості нових випадків на 40%, що перевищить 3,2 мільйона на рік [20, 36, 71]. Попри активне впровадження програм раннього виявлення, значна частка випадків РГЗ діагностується вже на етапі системної дисемінації процесу. Це визначає особливу наукову та клінічну актуальність вивчення первинно-метастатичного раку грудної залози (пМРГЗ) як найбільш агресивної форми, що потребує пошуку нових прогностичних маркерів [30, 68, 120, 160].

Аналогічні тенденції зафіксовані й у вітчизняній статистиці. Згідно з даними Національного канцер-реєстру України (Бюлетень № 26, 2025 р.) [8], РГЗ посідає перше місце у структурі онкологічної захворюваності жіночого населення та становить 21,8% серед усіх діагностованих злоякісних неоплазій. У 2023–2024 роках зафіксовано зростання кількості нових випадків порівняно з попереднім звітним періодом, що може бути зумовлено

покращенням реєстрації випадків в умовах воєнного стану та активізацією звернень пацієнток [44].

Головною причиною летальних наслідків РГЗ залишається метастатичне поширення неопластичного процесу [30, 120, 160]. За останніми даними, в Україні частка смертності від метастатичних форм РГЗ становить 20,3%, що відповідає 4 646 випадкам на рік [1, 8], а пікові значення захворюваності та смертності фіксуються саме у пацієнток постменопаузального періоду (вікова група 60–74 роки), що підкреслює необхідність удосконалення прогностичних моделей саме для цієї категорії хворих [8, 30].

Метастатичний потенціал пухлини, а також частота та швидкість виникнення рецидиву захворювання детерміновані біологічною агресивністю новоутворення, що безпосередньо корелює з показниками летальності [1, 99, 182], про що свідчать показники виживаності. Стадіювання за системою TNM залишається визначальним прогностичним фактором, що відображає біологічну агресивність процесу. Зокрема, за даними сучасних клінічних досліджень, у пацієнток із II клінічною стадією РГЗ частота летальних випадків на 47% менша порівняно із хворими з III стадією захворювання (HR = 0,53; 95% ДІ 0,33–0,85) [127]. Згідно з клінічними даними, майже у 50% хворих на РГЗ незалежно від типу проведеного лікування (комплексної або комбінованої терапії) протягом періоду спостереження виникає рецидив захворювання та/або діагностуються віддалені метастази [183, 192].

Прогноз РГЗ насамперед залежить від початкової стадії захворювання та молекулярно-біологічного підтипу пухлини [63, 108]. Численними дослідженнями доведено, що ризик метастатичної дисемінації клітин РГЗ залишається високим навіть за умови виявлення пухлини на початкових етапах захворювання: для I клінічної стадії він становить 25%, а для II зростає до 30–35% [63]. Важливо, що майже третина жінок на момент первинного встановлення діагнозу РГЗ вже мають віддалені метастази, незалежно від ступеня ураження регіонарних лімфатичних вузлів [108, 186].

Незважаючи на суттєвий прогрес, лікування метастатичних форм РГЗ має довготривалий та виснажливий характер, що значним чином впливає на якість життя пацієнок [78]. Прогноз захворювання свідчить про суттєву залежність від об'єму метастатичного ураження: за даними звіту з Реєстру метастатичного ураження легень, 5-річна виживаність пацієнок з одиночним ураженнями становить 43%, тоді як виявлення більше чотирьох вогнищ знижує показник до 27% [40]. За іншими даними, маніфестація віддалених метастазів РГЗ суттєво знижує показники 5-річної виживаності до 13–29%, а за деякими даними до критично низького рівня 11% [76, 93, 122].

Найбільш складну категорію хворих становлять випадки первинно розповсюдженої форми РГЗ. Зокрема, за даними Американського об'єднаного ракового комітету (American Joint Committee on Cancer - AJCC) часткаметастатичних форм РГЗ, що діагностується «*de novo*», становить 5–10% від загальної кількості розповсюджених форм захворювання. Показники виживаності для пМРГЗ коливаються в межах 19–28 місяців [50, 73, 112], а найбільш несприятливий перебіг захворювання спостерігається у пацієнок з тричі негативним молекулярним підтипом, термін життя у яких скорочується до 10,2–18,7 місяців [6, 155].

В Україні ситуація ускладнюється стабільно високою кількістю хворих із занедбанними формами захворювання. Частка виявлення РГЗ на III–IV стадіях становить 28,2%, що безпосередньо впливає на показник 5-річної виживаності, який у 2020–2021 рр. склав 21,6% [1, 8].

Таким чином, зростання захворюваності та критично високий рівень смертності від метастатичних форм РГЗ пояснюють клінічну значущість та цікавість до даної когорти пацієнок, що спонукає наукову спільноту до пошуку нових шляхів для оптимізації їх прогнозу, особливо за умови наявності додаткових метаболічних чинників.

1.2 Патогенетичний взаємозв'язок MetC з метастатичним фенотипом РГЗ

З кожним роком накопичується дедалі більше доказів про суттєвий вплив системних факторів на агресивність перебігу онкологічних захворювань [185]. Центральна роль фактора, який об'єднує ендокринні, метаболічні та гемодинамічні порушення належить метаболічному синдрому (MetC) [203]. Симптомокомплекс відомий також як «синдром інсулінорезистентності», за останнє десятиліття трансформувався в одну з найбільших загроз системи охорони здоров'я. За даними Міжнародної федерації діабету, поширеність MetC у світовій популяції становить близько 25% [16], демонструючи виражену варіабельність залежно від регіону та вікової групи, де показники часто коливаються від 20% до 35% [2, 97]. До групи ризику належать жінки, особливо постменопаузального віку: частота виявлення MetC у осіб репродуктивного віку є порівняно невисокою - близько 19,5%, однак з початком системної гормональної перебудови цей показник стрімко зростає до 48,6% [2, 97, 133]. З одного боку, фізіологічне зменшення продукції естрогенів та прогестерону в менопаузальному періоді ініціює каскад метаболічних дисфункцій, що призводить до системної інсулінорезистентності, дисліпідемії або гемодинамічним розладам [43, 95, 131]. З іншої сторони, надмірне накопичення жирової клітковини у осіб з ожирінням починає функціонувати як потужне екстрагонадне депо стероїдних гормонів. Таким чином, низький рівень фізичної активності та специфічний характер харчування (дієта, збагачена жирами, рафінованими вуглеводами та тваринними білками) у поєднанні з порушенням гормонально-метаболічного балансу, створюють специфічне патофізіологічне тло для маніфестації найбільш агресивних форм РГЗ та пМРГЗ [145, 190].

Системні ефекти пов'язані з MetC переконливо демонструють свій негативний вплив на перебіг пМРГЗ. Зокрема, багатьма дослідженнями доведено, що абдомінальне ожиріння та гіперглікемія асоціюється з

вісцеральною дисемінацією неопластичного процесу та призводять до зниження показників виживаності [19, 60, 148]. За даними Центру з контролю та профілактики захворювань (Centers for Disease Control and Prevention — CDC, США), епідеміологічне значення пМРГЗ свідчить про приріст захворюваності з 5,8 до 7,9 на 100 тис. населення за останні два десятиліття [41]. Окрім цього, прослідковується вікова залежність: найвищі значення захворюваності фіксуються у пацієнок віком понад 75 років (25,5 на 100 тис.), тоді як для вікової категорії молодше 40 років цей показник становить менше 1 випадку на 100 тис. населення [48, 76, 180]. Ряд досліджень вказує на тривожну тенденцію до зростання захворюваності на пМРГЗ серед жінок різних вікових груп [93]. Незважаючи на те, що для молодих пацієнок (20–39 років) цей показник відносно сталий і утримується на рівні 3%, вікова група старше 70 років характеризується стабільним зростанням кількості випадків з щорічним приростом на 1,4% [123, 141]. Враховуючи, що саме ця категорія складає основну питому вагу хворих MetC, такий сталий приріст визначає зростання в майбутньому метаболічно-асоційованих випадків пМРГЗ у стабільній віковій групі.

Первинно-метастатична дисемінація РГЗ є проявом найбільш агресивного перебігу захворювання [87, 49]. Метастазування у віддалені органи – це складний процес, який складається з декількох етапів: відокремлення клітин від первинного вогнища, їх проникнення в судинне русло або лімфатичні вузли та подальшу колонізацію органів-мішеней [80, 181]. Згідно з класичною теорією Стівена Педжета «насіння та ґрунту», успішне метастазування залежить не тільки від властивостей пухлинних клітин («насіння»), але й сприятливості мікрооточення у віддаленому органі («ґрунту») [118, 159]. Хронічна запальна реакція в результаті ожиріння та гіперінсулінемії, за рахунок тривалого впливу на остеокласти, беруть участь у формуванні так званих «преметастатичних ніш» кісткової тканини, що сприяє колонізації нового середовища та подальшій проліферації клітин РГЗ [7, 31, 100, 125, 200]. Отже, MetC може виступати активним промоутером

метастатичної генералізації РГЗ, впливаючи на ключові біологічні процеси, що лежать в основі поширення пухлини.

Поряд із підготовкою сприятливого мікрооточення для метастатичного розповсюдження неопластичних клітин [132], компоненти MetC здатні модулювати їх властивості, зокрема здатність до тривалого перебування у стані «метастатичного спокою» [79]. Експериментальними дослідженнями встановлено, що процес метастазування характеризується накопиченням трансформованих клітин, які здатні маскуватися від імунної відповіді шляхом зниження експресії специфічних мембранних рецепторів [35, 147]. Регуляція активності цих клітин здійснюється Wnt, Hedgehog і Notch сигнальними шляхами, які відповідають за набуття стовбурового фенотипу пулу дисемінованих пухлинних клітин [18, 152]. Прозапальні цитокіни (IL-6, TNF- α) та гіперінсулінемія, активуючи сигнальний каскад PI3K/Akt, стають додатковими тригерами, які відповідальні за вихід трансформованих клітин зі стану спокою та початку їх активної проліферації [70, 153, 174].

Таким чином, описані механізми підкреслюють роль MetC, який здатен виступати активним промоутером метастатичної генералізації РГЗ, впливаючи на ключові біологічні процеси, що лежать в основі поширення пухлини. Саме тому існує необхідність пошуку додаткових діагностичних маркерів здатних сигналізувати про додатковий вплив метаболічних факторів на перебіг захворювання для удосконалення стратифікації прогностичних ризиків та впровадження принципів персоніфікованої медицини у практику ведення пацієнток з пМРГЗ.

1.3 Шляхи впливу компонентів MetC на агресивність перебігу РГЗ

На сьогоднішній день MetC розглядається як багатокomпонентна патофізіологічна платформа, що об'єднує різні нозології та стани організму людини. Відповідно до критеріїв Національної програми з вивчення холестерину (National Cholesterol Education Program - NCEP-ATP-III) [61] та Міжнародної Діабетичної Федерації [15, 16] головні компоненти MetC

включають: абдомінальне ожиріння, інсулінорезистентність або раніше встановлений цукровий діабет II типу, дисліпідемія та артеріальна гіпертензія, що спільно формують сприятливе середовище для агресивного фенотипу РГЗ.

Адипоцитарна ланка та хронічне запалення. Ожиріння, як базовий компонент MetC, виступає потужним ендокринним та прозапальним модулятором щонайменше 15 типів онкологічних патологій, в тому числі й РГЗ [19, 84]. В літературі знаходять своє відображення все більше механізмів впливу ожиріння не лише на розвиток, але й перебіг злякисного процесу [38, 146]. Гіпертрофовані адипоцити здатні запускати каскад системної запальної реакції через активацію секреції цитокінів (IL-6 та ін.) та медіаторів (TNF- α та ін.), що ініціює епітеліально-мезенхімальний перехід (ЕМП) неопластичних клітин та безпосередньо впливає на їх виживаність, а також стимулювати неоангіогенез, що створює умови для васкуляризації пухлинної тканини та підвищує ступінь її біологічної агресивності [25, 162, 164, 201]. Біохімічні зміни позаклітинного матриксу (ПКМ) під впливом медіаторів запалення здатні провокувати його фіброзне ремоделювання, полегшуючи діастаз неопластичних клітин у перитуморальну зону. Набуті властивості цитоскелету клітин полегшують їх проникнення крізь судинну стінку та сприяють подальшій генералізації метастазів [166]. Особливу роль у підтримці агресивного фенотипу відіграє гіперсекреція білка, що зв'язує жирні кислоти 4 [74, 195, 199]. Активація сигнального шляху IL-6/STAT3/ALDH1 стимулює збільшення кількості клітин стовбурового фенотипу, що призводить до зниження ступеня диференціювання новоутворення та його вторинних вогнищ [162, 199, 201]. Окрім того, адипоцити активно секретують матриксну металопротеїназу 11 (ММП-11), яка також сприяє дедиференціюванню пухлинних клітин до фібробластоподібних форм та створює проінвазивний ПКМ в зонах анатомічної близькості до жирових депо [29, 90]. Продемонстровані зміни

внаслідок ожиріння сприяють змінам архітекtonіки тканини пМРГЗ та можуть впливати на агресивний потенціал перебігу неопластичного процесу.

Гормонально-метаболична взаємодія, дисліпідемія та гемодинамічні чинники агресивності РГЗ. В період менопаузи жирова тканина починає функціонувати як ендокринний орган та стає основним джерелом вироблення естрогенів, що пояснює її гормональний проонкогенний ефект на жінку з надмірною вагою або ожирінням [32, 45, 88, 142]. Порушення балансу секреції адипокінів (лептину та адипонектину) та гормон-подібних речовин, що впливають на гомеостаз ліпідів і глюкози (вільних жирних кислот, інсуліноподібного фактору росту) створюють свій додатковий вплив на формування агресивного фенотипу клітин РГЗ [39, 137, 139]. Лептин, який діє як фактор росту, стимулює міграцію та інвазію неопластичних клітин, тоді як адипонектин зі своїми протилежними властивостями, характеризується поступовим зниженням секреції [39, 137]. Вагомий вплив на посилення біологічної агресивності РГЗ робить дисліпідемія, зокрема через продукцію 27-гідроксихолестеролу — продукт етерифікації холестерину [173]. Цей метаболіт здатний імітувати дію естрогену, що напряду стимулює проліферацію естроген-позитивних клітин РГЗ [17, 27, 140]. Окрім того, метастатичний потенціал РГЗ здатен підсилуватись за рахунок артеріальної гіпертензії, що є одним з додаткових чинників MetC [173]. Активація ренін-ангіотензин-альдостеронової системи стимулює неоангіогенез та міграційну активність неопластичних клітин, що в поєднанні з ендотеліальною нестабільністю та оксидативним стресом створює сприятливі умови для системної злоякісної дисемінації [14, 51, 75, 89].

Інсуліно-метаболична вісь як центральний драйвер пухлинної прогресії та адаптації. Центральним патофізіологічним механізмом, що інтегрує ефекти усіх компонентів MetC у біологічну поведінку пМРГЗ, є поєднання системної гіперглікемії та гіперінсулінемії [175, 194]. Згідно з концепцією Отто Варбурга, злоякісна трансформація базується на

«метаболічному перепрограмуванні» — переході трансформованих клітин на анаеробний гліколіз для підтримки їх проліферативної активності [55, 72, 151]. В умовах MetC системна гіперглікемія стає не лише додатковим «сприятливим» субстратом, а й впливає на інвазивні властивості пухлинних клітин та сприяє розвитку хіміорезистентності [153]. Окрім того, хронічна гіперінсулінемія, що є результатом тривалої інсулінорезистентності, пригнічує синтез білків, що зв'язують ростові фактори та статеві гормони, підвищуючи тим самим їх біодоступність [52, 175]. Продемонстровані взаємодії метаболічно-скомпрометованого організму людини та пухлини призводить до глибокої перебудови рецепторного профілю клітин РГЗ та відповідно пМРГЗ.

Особливістю такої перебудови є феномен «рецепторної адаптації». На відміну від нормальних клітин, які в умовах гіперінсулінемії запускають механізми негативного зворотного зв'язку (*down-regulation*) для захисту від гіперстимуляції, неопластичні клітини демонструють навпаки накопичення рецепторів інсуліноподібного фактора росту 1 (IGF-1R) та утворення їх гібридних форм [134]. Такий ефект реалізується через транскрипційну гіперактивацію гена *IGF1R* (зокрема за рахунок взаємодії з рецепторами естрогену (ER) та мутантним p53), патологічну стабілізацію цих рецепторів внаслідок порушення їх протеолізу, а також через альтернативний сплайсинг із продукцією ізоформи рецептора інсуліну А [66, 163]. Таким чином, пухлина формує специфічний рецепторний ландшафт, який дозволяє їй перетворювати системні сигнали MetC у власний потужний проліферативний стимул.

Реалізація цього агресивного потенціалу охоплює всі етапи метастатичного каскаду. Підсилення трансляційної активності рецептора IGF-1R через PI3K/AKT/mTOR та MAPK/ERK шляхи ініціює ЕМП, що призводить до надмірної стимуляції факторів *Snail*, *Slug*, *Twist* та пригнічення синтезу білка, відповідального за міжклітинні зв'язки (Е-кадгерину) [110]. Окрім того, IGF-1R індукує секрецію низки ММП, що разом з МЦБ

забезпечують активне ремоделювання матриксу та виживання клітин у системному кровотоці [26, 29, 115].

На останок, особливий тропізм дисемінованих клітин пМРГЗ у кісткову тканину, легені та печінку частково може пояснюватися високим вмістом інсуліноподібного фактора росту в органах-мішенях, що створює сприятливе середовище для утворення метастатичних ніш [33, 62].

Отже, інсулінова вісь та пов'язані з нею рецептори виступають частиною фундаментальних драйверів метастатичної прогресії РГЗ у пацієнток зі скомпрометованим метаболічним статусом. Це обґрунтовує необхідність дослідження імуноморфологічних особливостей пухлини, зокрема статусу IGF-1R та білків стромы, як ключових факторів агресивності та генералізації процесу пМРГЗ.

1.4 Гістологічні особливості, асоційовані з агресивним фенотипом пМРГЗ

Спираючись на результати багаторічних досліджень, для стратифікації прогнозу перебігу захворювання використовують традиційні категорії оцінки злоякісного процесу. До них належать наступні клініко-патоморфологічні параметри пухлинного процесу: розмір первинного вогнища, об'єм ураження регіонарних лімфатичних вузлів, гістологічний варіант, ступінь диференціювання та молекулярний підтип [176, 189]. Сучасне визначення Ноттінгемського ступеня диференціювання клітин РГЗ здійснюється за трьома ознаками: здатність до формування каналців, клітинний плеоморфізм та кількість патологічних мітозів, що дають можливість не лише встановити ступінь диференціації патологічного процесу, а й допомагають у визначенні терапії [59, 156]. При цьому компоненти MetC, які стимулюють проліферацію клітин та потенційно впливають на їх диференціацію, можуть безпосередньо модифікувати класичні гістологічні підходи в діагностиці та визначенні агресивності РГЗ [164].

До класичних прогностичних маркерів РГЗ належать рецептори стероїдних гормонів (естрогену — ER та прогестерону — PR), рецептори епідермального фактора росту (HER2/neu) та маркер проліферативної активності Ki-67, які становлять основу молекулярної класифікації пухлини [34, 58, 59]. Враховуючи те, що гетерогенність РГЗ зумовлена не лише генетичною мінливістю, а й залежить від дії зовнішніх факторів [108], традиційні прогностичні підходи інколи мають обмежені можливості для надійної стратифікації пацієнток. Подібно до молекулярних маркерів експресії генів, морфологічні особливості РГЗ також здатні відображати окремі гормонально-метаболічні ефекти на стромальне мікрооточення пухлини [172].

Окремі дослідження показали, що тканина РГЗ може характеризуватися наявністю перитуморальних зон ретракції (ПРЗ), що виглядають як відмежування кластерів пухлинних клітин від прилеглої строми [12, 107]. Класично така гістологічна характеристика притаманна інвазивній мікропапілярній карциномі грудної залози, але за умови наявності й інших морфологічних та імуногістохімічних особливостей [10]. Раніше зони ретракції вважалися артефактами, внаслідок технічних помилок гістологічної обробки тканин, неадекватної фіксації та її дегідратації [83, 101]. Проте виявлення подібних просторів в заморожених гістологічних зразках змусило морфологів шукати пояснення цьому явищу, припинивши сприймати його лише як методологічного порушення обробки тканини [12, 83, 101].

Механізми, що лежать в основі формування ПРЗ залишаються предметом дискусій. Існують припущення, що такі порожнини утворюються під час інвазії неопластичних клітин крізь базальну мембрану внаслідок втрати нею міоепітеліальних клітин [11, 13, 102, 128, 167, 178] або стають результатом аномальної взаємодії пухлини та строми [57, 64, 85]. На сьогоднішній день утворення ретракційних просторів пояснює формування «прелімфатичних проміжків», що слугують попередниками структур, які сприяють лімфоваскулярній інвазії пухлинних клітин. Надмірна секреція

лімфангіогенних факторів (зокрема VEGF-C), рівень яких регулюється у тому числі й компонентами MetC, стимулює неолімфангіогенез, сприяє ендотелізації цих порожнин та прискорює метастатичну дисемінацію клітин РГЗ [11-13].

Попередні дослідження показали, що наявність ПЗР є важливою гістологічною знахідкою ознакою не лише для розвитку пухлин грудної залози, а й в діагностиці раку передміхурової залози, плоскоклітинної та базальноклітинної карциноми шкіри, уротеліальної карциноми, де величина перитуморальних просторів прямо корелює зі зниженням показників виживаності [57, 64, 85, 102, 124, 128, 178]. Наявність перитуморальних проміжків у тканині РГЗ розглядається як морфологічний прояв деградації компонентів ПКМ (зокрема гіалуронової кислоти та глікозоаміногліканів). Цей процес зумовлений надмірною ферментативною активністю пухлини, що проявляється у стисканні її фібробластиами. Окрім цього встановлено, що наявність ПЗР характеризується зворотнім зв'язком із експресією рецепторів ER та PR в тканині грудної залози, що вказує на зв'язок з пухлинами більш агресивного фенотипу [54, 83].

Відповіддю стромального мікрооточення на ріст та розвиток неоплазії є набуття ними властивостей десмоплазії, активація неоангіогенезу та локальної запальної клітинної інфільтрації [170]. Колагенові волокна, як головний компонент стромы, відіграють вкрай важливу роль в розвитку та прогресуванні МРГЗ [77, 106]. Десмоплазія виникає внаслідок посиленого синтезу білків позаклітинного матриксу та колагену міофібробластиами, які активуються під впливом цитокінів та факторів росту (TGF- β , IGF-I, PDGF) [86, 109, 169, 205]. Оскільки MetC характеризується підвищенням рівнів інсуліноподібного фактора росту та PDGF, десмопластична реакція стромы проявляється у більш вираженій формі, що може призводити до фіброзу ПКМ пухлини [28, 53, 157].

Іншим важливим феноменом є гіалінова дегенерація стромы — накопичення склоподібних еозинофільних аморфних мас, що складаються з

ламiніну, колагену IV типу та компонентів базальної мембрани (глікозаміногліканів, протеогліканів) [23, 136]. Мікроскопічно гіаліноз проявляється злиттям колагенових пучків у гомогенну щільну (хрящоподібну) масу, що призводить до атрофії фібробластів [129]. Рання гіалінізація стромы (ГС) зазвичай характеризується формуванням глобул або накопичень сферичної форми склоподібних мас [158].

Гіалінова дегенерація стромы здатна суттєво змінювати біомеханічні та біохімічні властивості РГЗ [91]. Зокрема, периваскулярна гіалінізація, що зумовлена пошкодженням ендотелію та просяканням плазмою крові, призводить до облітерації судин, гіпоксії та некрозу тканин [171]. Хронічне запалення та набута ендотеліальна дисфункція у пацієнток з MetC, на тлі зміни експресії МЦБ, можуть створювати сприятливе середовище для патологічного накопичення гіаліну [179].

Таким чином, формування специфічних морфологічних характеристик тканини РГЗ можуть бути проявом комплексної перебудови пухлинного мікрооточення під впливом метаболічних порушень. Прозапальні цитокіни та фактори росту, що безпосередньо регулюються компонентами MetC, беруть активну участь у формуванні агресивного фенотипу пМРГЗ, що може бути встановлено на етапі гістологічного дослідження біологічного матеріалу. Окрім цього з'являється необхідність пошуку додаткових молекулярних маркерів, що здатні ідентифікувати вплив метаболічних факторів для повноцінної патоморфологічної оцінки ризиків розвитку агресивного пМРГЗ.

1.5 Матрицелюлярні білки як потенційні індикатори MetC-асоційованої агресивності РГЗ

Стромальне оточення - це динамічна система, що активно регулює поведінку пухлинних клітин, впливаючи на їх проліферацію, адгезію, міграцію та метастазування [69, 196]. Враховуючи дані про асоціацію MetC із несприятливим перебігом РГЗ, особливу увагу привертають МЦБ — неколагенові компоненти ПКМ, які здатні модулювати клітинно-матриксні та

міжклітинні взаємодії [9, 69, 150]. Серед них остеопонтин (OPN) та остеонектин (ON) виступають найбільш перспективними індикаторами стану ПКМ [116]. Рівень експресії МЦБ різними тканинами та їх концентрація у біологічних рідинах відображають широкий спектр фізіологічних та патологічних функцій [105]. Існують припущення, що під впливом системних метаболічних порушень рівень експресії OPN та ON змінюється, беручи участь у структурно-функціональній перебудові ПКМ [69, 196]. Такі трансформації можуть асоціюватися зі зростанням агресивного потенціалу пМРГЗ, що потребує детального вивчення таких молекулярних взаємодій.

1.5.1 Остеопонтин - багатогранний промотор агресивності, чутливий до метаболічних сигналів

Остеопонтин – глікофосфопропротеїн сімейства SIBLING (Small Integrin-Binding Ligand, N-linked Glycoprotein), що демонструє різноманітні плейотропні ефекти у тканинах організму [81]. Біологічна активність OPN реалізується у двох формах: секретованій (розчинній) та внутрішньоклітинній [82]. За даними літератури, підвищена експресія OPN в тканині РГЗ або високий рівень циркулюючого білка асоціюються з поганим прогнозом захворювання, розвитком метастатичного поширення злоякісного процесу (особливо в кістки), а також розвитком резистентності до терапії [9, 42, 144, 150, 202]. Активуючи сигнальні шляхи PI3K/Akt та MAPK/ERK через рецептори інтегринів та CD44, OPN пригнічує апоптоз та підтримує виживаність неопластичних клітин [143]. Дані експериментальних досліджень свідчать про те, що секреторна форма OPN залучена до процесу ЕМП за рахунок індукції ММП, посилює міграційний потенціал клітин [161]. Натомість внутрішньоклітинний OPN, через AKT1/miR-429/ZEB-залежний шлях може стимулювати зворотний процес — мезенхімально-епітеліальний перехід (МЕП), що є надзвичайно важливим етапом для колонізації віддалених органів [65, 69]. Крім того, OPN відіграє важливу роль у VEGF-

залежному ангиогенезі, індукує імуносупресію шляхом активації макрофагів та пригнічення активності Т-лімфоцитів [96, 184].

Додатковим етапом формування агресивного фенотипу пМРГЗ є регуляція експресії OPN компонентами MetC [46]. Надмірна активація сигнальних шляхів, що відповідальні за розвиток інсулінорезистентності, стають причиною підсиленої транскрипції гена OPN (*SPP1*) [111]. Таким чином, гіперінсулінемія стимулює прогресію пухлини не лише на пряму, а й через індукцію синтезу рецепторів OPN [236, 237]. Прозапальні цитокіни (TNF- α та IL-6), рівень яких зростає при ожирінні, активують транскрипційні фактори NF- κ B та STAT3, що також додатково підсилює експресію OPN [24, 81]. Утворюється «хибне коло»: метаболічне запалення стимулює продукцію OPN, що у свою чергу, підтримує запальну реакцію через хемотаксис макрофагів. Окрім того, додатковими стимуляторами експресії OPN виступають фактор гіпоксії, лептин та статеві гормони, рівень яких є патологічно зміненим у пацієнток менопаузального віку за умови наявності MetC [103, 119].

Таким чином, рівень експресії OPN може виступати інтегральним показником впливу проонкогенних факторів MetC (гіперінсулінемії, ожиріння) на перебіг злякисного процесу, внаслідок подвійної стимуляції спільних сигнальних шляхів та створюючи позитивний зворотний зв'язок, що корелює з агресивністю пухлинного процесу. Окрім того, роль OPN у взаємодії з макрофагами та вплив на кісткове метастазування додатково підкреслює його значення як медіатора MetC-асоційованої агресивності пМРГЗ.

1.5.2 Остеонектин - потенційний модулятор впливу MetC

Остеонектин – протеїн, що подібно до OPN, регулює клітинну адгезію, проліферацію, а також ремоделювання ПКМ та неоангіогенез [9, 42, 150]. Попри те, що роль ON у формуванні агресивного потенціалу РГЗ, на сьогоднішній день, характеризується більшою неоднозначністю даних

порівняно з OPN, цей білок становить значний інтерес як маркер пухлинно-стромальної взаємодії. На ранніх стадіях захворювання ON часто виявляє супресивні властивості, у вигляді пригнічення ангіогенезу та стимуляції апоптозу, а зниження його експресії пухлинними клітинами часто корелює з гіршим прогнозом [21]. Однак у контексті прогресуючих форм захворювання експресія ON набуває іншого значення, зокрема як предиктор ефективності терапії [169]. Високий рівень ON у клітинах тричі негативного РГЗ асоціюється з кращою відповіддю на альбумін-кон'юговані препарати (наприклад, наб-паклітаксел), завдяки здатності білка зв'язувати альбумін та полегшувати доставку цитостатика в клітину [86, 109, 193, 204].

Незважаючи на обмежену кількість даних щодо прямої взаємодії між ON та ключовими компонентами MetC, аналіз окремих досліджень демонструє наявність такого зв'язку. Зокрема, підвищений рівень експресії ON виступає чутливим індикатором метаболічного стану при ожирінні та корелює з індексом маси тіла (ІМТ) [67]. Окрім цього, розглядається значення ON у регуляції вуглеводного обміну: зокрема, в експериментальних моделях *in vivo* продемонстровано його потенційна роль у розвитку інсулінорезистентності, тоді як відсутність експресії цього білка асоціюється із порушенням гомеостазу глюкози та розвитком діабету [22].

Хоча прямих даних про регуляцію ON компонентами MetC саме при пМРГЗ наразі небагато, встановлений зв'язок цього білка з ожирінням та діабетом 2 типу дозволяє припустити наявність опосередкованого впливу метаболічного дисбалансу на рівень ON у пухлинному мікрооточенні.

Отже, для глибшого розуміння факторів, що визначають агресивність пМРГЗ, особливо на тлі MetC, великого значення набуває вивчення потенційної здатності системних метаболічних змін модулювати експресію ON, з'ясування механізмів такої модуляції.

Висновки до розділу 1

Висока питома вага занедбаних стадій РГЗ та незадовільні показники виживаності при системній дисемінації підкреслюють пріоритетність наукових пошуків задля цієї прогностично складної категорії хворих. Аналіз сучасної наукової літератури свідчить про те, що MetC є вагомим фактором, який негативно впливає на агресивність перебігу пМРГЗ. Цей вплив реалізується через комплексні механізми, що включають системне хронічне запалення, інсулінорезистентність, гіперінсулінемію, дисбаланс адипокінів та ліпідів, гормональні зміни, які впливають на біологію трансформованої клітини та її мікрооточення. Існуючі стандартні підходи до діагностики та прогнозування пМРГЗ демонструють обмежену ефективність, особливо у пацієток із супутнім MetC, що підвищує ризик діагностичних помилок та призначення неоптимального лікування.

Вищезазначене обґрунтовує необхідність пошуку нових діагностичних та прогностичних маркерів, що відображають вплив метаболічних порушень на фенотип пухлинних клітин. Дослідження експресії маркерів інсулінової осі, МЦБ в поєднанні з аналізом цитоархітектоніки пухлини та її строми є перспективним напрямком, що дозволяє визначити їх роль у формуванні агресивного фенотипу пМРГЗ, зокрема під впливом метаболічних розладів. Таким чином, вивчення особливостей молекулярного профілю пухлини у пацієток з MetC є одним з ключових кроків на шляху до оптимізації діагностики, стратифікації ризиків та розробки персоніфікованих стратегій ведення хворих з коморбідною патологією.

Розділ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Загальна характеристика клінічного матеріалу

Підбір хворих та формування клінічних груп здійснено за допомогою архівного матеріалу науково-дослідницького відділення пухлин молочних залоз і реконструктивної хірургії ДНП «Національний інститут раку» у період між 2016–2023 рр., де проводилась діагностика, лікування та спостереження за хворими (завідувач відділення проф. І.І. Смоланка).

Проведено ретроспективну оцінку анамнестичних даних, клініко-лабораторних та патогістологічних результатів досліджень 93 пацієток з первинно-метастатичним РГЗ (пМРГЗ). Мінімальний вік хворих становив 50 років, максимальний — 79 років. Середній вік хворих склав – $60,5 \pm 0,7$ року. Залежно від наявності ознак супутньої патології, пацієтки були розподілені на дві групи: основну — з ознаками метаболічного синдрому (MetC+, n=45) та контрольну — без ознак MetC (MetC–, n=48). З моменту встановлення діагнозу пМРГЗ жінкам, які були включені в дослідження, призначено стаціонарне лікування з подальшим моніторингом згідно затвердженого Стандарту надання медичної допомоги пацієнтам з «Раком грудної залози». Переважна більшість пацієток отримала системне хімотерапевтичне лікування (82,8%, n=77), з яких пацієтки без ознак MetC – 40 осіб (83,3%), а жінки з наявним метаболічним дисбалансом – 37 (82,2%). Решті пацієток було призначено комбіноване лікування: системна терапія в поєднанні з гормональними лікарськими засобами, променевим або оперативним лікуванням. Аналіз даних отриманого стаціонарного лікування досліджуваної когорти пацієток наведено у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Розподіл методів лікування пацієток, обраних у дослідження

Методи лікування	MetC-, n (%)	MetC+, n (%)
Системна терапія	40 (83,3)	37 (82,2)
Комбіноване лікування		
Системна терапія + оперативне втручання	6 (12,5)	5 (11,0)
Системна терапія + променева терапія	0	1 (2,3)
Системна терапія + гормональна терапія	1 (2,1)	0
Системна терапія + променева терапія + гормональна терапія	1 (2,1)	1 (2,3)
Системна терапія + оперативне втручання + гормональна терапія	0	1 (2,3)

Для поглибленого аналізу молекулярних механізмів, з основної когорти пацієток (n=93) було сформовано цільову вибірку зразків для проведення імуногістохімічного (ІГХ) дослідження. Формування вибірки відбувалося шляхом застосування клінічних та технічних критеріїв включення. Дослідженню підлягав біопсійний матеріал пацієток з підтвердженим менопаузальним статусом та, яким попередньо не було призначено системного хіміотерапевтичного лікування. Окрім цього, зразки з недостатньою кількістю пухлинних клітин, вираженими артефактами фіксації або некрозом тканини не підлягали ІГХ-дослідженню.

Таким чином, для виконання гістологічного та ІГХ досліджень нами було виділено групу з 55 пацієток на пМРГЗ. Гістологічне дослідження тканини супроводжувалось використанням методів класичної Ноттінгемської оцінки грудної залози та визначення додаткових патогістологічних патернів. ІГХ дослідження застосовувалось для визначення гормонально-рецепторного статусу пухлини, її проліферативної активності, а також з метою визначення рівнів експресії IGF1R та матрицелюлярних білків (OPN та ON).

2.2 Ретроспективний аналіз анамнестичних та клініко-лабораторних показників хворих з пМРГЗ

Збір клініко-анамнестичних та лабораторних показників пацієнтів здійснювали шляхом опрацювання архіву медичної документації. Основним джерелом даних слугували медичні карти стаціонарних хворих (форма № 003/о). Ретроспективний аналіз документації передбачав отримання наступної інформації: паспортні дані, анамнез життя та хвороби (зокрема наявність генетичної схильності, супутні патології), наявність впливу побутових або професійних чинників ризику, особливості маніфестації та перебігу онкологічного процесу. Додатково фіксували результати первинних лабораторних та інструментальних досліджень.

2.2.1 Критерії верифікації MetC у хворих на пМРГЗ

Верифікацію наявності MetC здійснювали ретроспективно на основі аналізу даних медичної документації згідно з критеріями Міжнародної федерації діабету (International Diabetes Federation — IDF) та Національної освітньої програми з вивчення холестерину (NCEP-ATP III).

Для зарахування пацієнтки до групи MetC+ необхідною була наявність не менше трьох з визначених показників, зафіксованих у медичній карті на момент первинної діагностики онкологічного процесу (табл. 2.2).

2.3 Гістологічний метод дослідження тканини пМРГЗ

Для морфологічного дослідження використано архівний біопсійний матеріал тканини пМРГЗ патологоанатомічного відділення ДНП «Національний інститут раку». Преаналітичний етап включав фіксацію зразків у 10% розчині нейтрального забуференого формаліну (склад буфера: $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ – 4 г/л, Na_2HPO_4 – 6,5 г/л) з наступним промиванням матеріалу у проточній воді протягом 1 години.

Стандартний протокол гістологічної проводки передбачав етапи дегідратації та парафінізації. Матеріал поступово зневоднювали у розчинах

етилового спирту зростаючої концентрації (50%, 70%, 80% та у двох порціях 96%, який використовували замість абсолютного спирту). Виготовлення парафінових блоків проводили шляхом целоїдин-парафінової заливки у парафінові блоки та додаванням 5% натурального воску для забезпечення оптимальної щільності об'єктів.

Таблиця 2.2

Клініко-лабораторні критерії MetC для жінок

№ п/п	Критерії MetC	Порогові значення показників (за критеріями IDF/NCEP)	
1	Абдомінальне ожиріння	об'єм талії (см)	> 80
		ІМТ (кг/м ²), (використовували як непрямий показник за відсутності даних про об'єм талії)	> 30
2	Гіперглікемія (або попередньо діагностований цукровий діабет II типу)	Глюкоза натще (ммоль/л)	> 5,6
3	Дисліпідемія (ліпідний профіль)	ТГ (ммоль/л)	> 1,7
		ЛПВЩ (ммоль/л)	< 1,29
		ЛПНЩ (ммоль/л)	> 3,37
		ЛПДНЩ (ммоль/л)	> 0,42
		ЗХ (ммоль/л)	> 5,2
4.	Артеріальна гіпертензія (або попередня фіксація прийому антигіпертензивної терапії)	САТ (мм рт.ст.)	≥ 135
		ДАТ(мм рт.ст.)	≥ 85

Парафінові зрізи товщиною 5–7 мкм виготовляли за допомогою ротаційного мікротома AMR 400 (Amos Scientific, Австралія) та розміщували на предметних скельцях. Перед забарвленням проводили депарафінізацію та дегідратацію зрізів шляхом послідовного їх занурення у двох порціях ксилолу (по 20 хв) та 96% етилових спиртів (по 20 хв).

Для візуалізації морфологічної структури тканини пМРГЗ застосовували стандартне забарвлення гематоксиліном та еозином. Спершу зрізи забарвлювали гематоксиліном 7211 (Thermo Scientific, USA) протягом 5 хвилин, після чого надлишок барвника видаляли, а скельця промивали в проточній воді до набуття тканиною характерного темно-синього забарвлення. Для візуалізації цитоплазматичних структур зрізи дофарбовували в спиртовому розчині еозину-Ү (Thermo Scientific, USA) шляхом короткочасного занурення (3–5 с) та подальшою інкубацією скелець в розчині етанол-еозин (1:1) та етиловому спирті (по 10 хв, відповідно). Фінальним етапом було зневоднення, просвітлення зрізів у ксилолі та заключення під покривне скельце з використанням монтажного середовища Cytoseal 60 (Thermo Scientific, США).

Гістологічні препарати, забарвлені гематоксиліном та еозином, досліджували під мікроскопом Axio Scope A1 (Zeiss, Німеччина). Мікроскопічний аналіз включав верифікацію гістологічного типу пухлини, ступінь її диференціювання, а також комплексну оцінку морфологічних особливостей пухлинної тканини. Основну увагу приділено вивченню специфічних змін стромального мікрооточення, зокрема наявності та вираженості перитуморальних зон ретракції (ПЗР) та ознак гіалінозу строми (ГС).

Пухлини були оцінені відповідно до Класифікації пухлин грудної залози BOO3 (Breast Tumours, WHO Classification of Tumours, 5th Edition, Volume 2, 2019). У дослідження увійшли випадки інвазивної карциноми неспецифічного типу (ІК НТ) та інвазивної долькової карциноми (ІДК) грудної залози.

Ступінь диференціювання тканини (Grade–G) оцінювався за Ноттінгемською класифікацією згідно системи P. Scarff, H. Bloom і W. Richardson у модифікації Elston-Ellis. Цей показник є відображенням рівня її злоякісності (виразність тубулярних структур, ядерний поліморфізм) та проліферативної активності (мітотичний індекс) та безпосередньо вказує на агресивність пухлини. Ступінь диференціювання пухлини багато в чому визначає перебіг пухлинного процесу: високодиференційовані клітини характеризуються меншою мітотичною активністю, тоді як низькодиференційовані вказують на агресивний потенціал злоякісного процесу за рахунок високого проліферативного індекса. Згідно патогістологічного протоколу усім інвазивним карциномам грудної залози визначають ступінь диференціювання за трьома критеріями: здатність до формування залозистих/тубулярних структур, виразність ядерного поліморфізму та кількість патологічних мітозів. Оцінка залозистих/тубулярних структур проводилася у балах для кожного зразку:

- 1 бал — більше 75% пухлинного поля формують залозисті/тубулярні структури;
- 2 бали — від 10% до 75% пухлинного зразка;
- 3 бали — менше 10% пухлинного зразка.

Ядерний поліморфізм – це морфологічна ознака диференціювання клітини, що вказує на об'єм генетичних аберацій у трансформованій клітині: анеуплоїдії, генетична нестабільність та зміни транскрипції. Ядерний поліморфізм оцінюється за бальною системою:

- 1 бал — ядра маленькі, дещо збільшені порівняно з ядрами епітелію нормальних структур, з правильними контурами, мономорфним ядерним хроматином, відсутня виражена різниця в розмірах ядер;
- 2 бали — клітини більші, ніж нормальний протоковий епітелій, з везикулярними ядрами, більш виразні ядерця, наявні помірні відмінності у розмірах та формі ядер;

- 3 бали — везикулярні ядра з помітними ядерцями, присутні виражені відмінності за формою (досить химерні) та розміром, виразний поліморфізм.

Пухлинна гетерогенність також проявляється у проліферативній активності. Для точної оцінки підрахунок проводять у 10 полях зору на $\times 400$ збільшенні мікроскопа. Важливим аспектом є характеристики мікроскопа, що використовується. Кількість мітозів залежить від площі поля зору. Мітотична активність при діаметрі поля зору 0,65 мм становить:

- ≤ 7 — 1 бал;
- 8–14 — 2 бали;
- ≥ 15 — 3 бали.

За сумою балів кожного критерію визначається ступінь злоякісності:

- **G1** — 3–5 балів (високодиференційована карцинома);
- **G2** — 6–7 балів (помірнодиференційована карцинома);
- **G3** — 8–9 балів (низькодиференційована карцинома).

Усі препарати були оцінені самостійно та паралельно незалежним патоморфологом для забезпечення достовірності.

2.4 Оцінка специфічних змін стромального мікрооточення пМРГЗ

На гістологічних препаратах, забарвлених гематоксиліном та еозином, додатково проводили аналіз специфічних морфологічних змін стромального мікрооточення. Дослідження було виконано на біопсійному матеріалі 55 пацієнток з пМРГЗ.

Мікроскопічна оцінка передбачала проведення напівкількісного аналізу ступеня вираженості двох ключових гістологічних ознак: гіалінозу строми та перитуморальних зон ретракції. Для забезпечення коректності результатів аналіз здійснювали у 10 випадково обраних репрезентативних полях зору при збільшенні $\times 200$ (об'єктив $\times 20$, окуляр $\times 10$).

Оцінку кожної ознаки проводили за 4-бальною шкалою, для якої:

- **0 балів** — ознака відсутня;
- **1 бал** — слабо виражена ознака (спостерігається в $<10\%$ полів зору);

- **2 бали** — помірно виражена ознака (спостерігається в 10-50% полів зору);
- **3 бали** — сильно виражена ознака (спостерігається в >50% полів зору).

2.5 Імуногістохімічне дослідження експресії молекулярних маркерів у тканині пМРГЗ

Для визначення молекулярного підтипу пМРГЗ було проведено ІГХ-дослідження тканини для оцінки рівня експресії рецепторів естрогену (ER) та прогестерону (PR), статусу білка HER-2/neu та рівня проліферативної активності (Ki-67). Усі ІГХ-реакції виконували на гістологічних зрізах товщиною 4–5 мкм, виготовлених із парафінових блоків біопсійного матеріалу.

Підготовку зрізів для ІГХ-аналізу проводили за стандартною методикою, що включала депарафінізацію в орто-ксилолі та дегідратацію в етанолі (аналогічно протоколу, описаному в підрозділі 2.3), з фінальним промиванням у дистильованій воді (двічі по 3 хв). Наступним етапом підготовки було термічне демаскування антигенних епітопів: зрізи інкубували у цитратному буфері (рН 6,0; Master Diagnostica, Іспанія) на водяній бані (Biosan WB-4MS, Латвія) при температурі 96–98 °С протягом 20 хв, після чого їх охолоджували до кімнатної температури.

Подальші етапи ІГХ-реакції включали блокування активності ендогенної пероксидази за допомогою розчину Hydrogen Peroxide Block (10 хв) та усунення неспецифічного зв'язування білків з використанням реагенту Ultra V Block (5 хв). Між етапами зрізи багаторазово промивали в дистильованій воді та фосфатно-сольовому буфері (PBS, рН 7,4; Master Diagnostica, Іспанія) для видалення надлишків реагентів. Усі інкубаційні процедури проводили у вологій камері для запобігання висиханню зрізів. На підготовлені таким чином зрізи наносили відповідні первинні моноклональні антитіла (табл. 2.3) для визначення експресії цільових маркерів. Інкубація з первинними моноклональними антитілами, розведеними до оптимальної

концентрації, тривала 60 хвилин при температурі 37°C. Після цього етапу зрізи тричі промивали у PBS-буфері. Для візуалізації комплексу «антиген–антитіло» застосовували полімерну систему детекції Ultra Vision LP Detection System (Thermo Scientific, США), яку інкубували на зрізах протягом 10 хвилин. Візуалізація реакції здійснювалася за допомогою хромогену — 3,3'-діамінобензидину тетрачлориду, який утворює нерозчинний продукт коричневого кольору в місцях локалізації антигену. Фінальним етапом було дофарбовування ядер клітин гематоксиліном Маєра (Thermo Scientific, США). Для верифікації специфічності ІГХ-забарвлення кожна серія реакцій супроводжувалася постановкою негативного контролю. В якості такого контролю використовували паралельні зрізи відповідної пухлинної тканини, які проходили всі етапи протоколу, за винятком нанесення первинних моноклональних антитіл (замість яких наносили дистильовану воду).

Таблиця 2.3

Перелік та характеристика моноклональних антитіл, використаних у дослідженні

Молекулярний маркер	Клон	Фірма - виробник	Розведення/ тип
Рецептор ER	SP1	Vitro.Master diagnostica (Іспанія)	RTU (готове до вик.)
Рецептор PR	16	Vitro.Master diagnostica (Іспанія)	RTU (готове до вик.)
Her2/neu	EP3	Bio SB (США)	RTU (готове до вик.)
Ki-67	SP6	Vitro.Master diagnostica (Іспанія)	RTU (готове до вик.)
OPN	ab21 4050	AbCam, (Велика Британія)	1:100
ON	polyclonal	Vitro MD, (Іспанія)	1:100
IGF1R	HL 1957	Invitrogen™ (США)	1:100

2.6 Метод оцінки результатів ІГХ-дослідження тканини пМРГЗ

Мікроскопічний аналіз та оцінку результатів ІГХ-реакцій проводили шляхом підрахунку імунопозитивних клітин (коричневе забарвлення цитоплазми або її мембрани) за допомогою світлового мікроскопа Axio Scope A1 (Zeiss, Німеччина) при збільшеннях $\times 100$ та $\times 400$. Для забезпечення статистичної достовірності аналізували не менше 20 репрезентативних полів зору.

2.6.1 Критерії визначення рецепторного статусу пМРГЗ та рівня її проліферативної активності

З метою комплексної оцінки біологічної характеристики пухлинної тканини обох груп пацієнток, новоутворення класифікували не лише за стандартними молекулярними підтипами, а й додатково розподіляли на «рецептор-позитивні» та «рецептор-негативні» варіанти залежно від їх імунофенотипу.

Оцінку експресії рецепторів ER та PR проводили за наявності ядерного забарвлення епітеліальних клітин. Відповідно, до «рецептор-позитивних» форм пМРГЗ увійшли зразки з рівнем експресії $\geq 1\%$ забарвлених ядер клітин (що відповідає оцінці ≥ 1 бала за шкалою Allred) для кожного маркера. Випадки з експресією $< 1\%$ класифікували як «рецептор-негативні».

Статус HER2/neu оцінювали на основі інтенсивності та повноти мембранного забарвлення. Позитивним результатом вважали інтенсивне повне мембранне забарвлення у $> 10\%$ клітин (оцінка 3+). Випадки з балами 0, 1+ та 2+ класифікували як HER2/neu -негативні.

Індекс проліферативної активності Ki-67 визначали шляхом розрахунку відсотку позитивно забарвлених ядер на 200 пухлинних клітин. Пухлини з рівнем Ki-67 $\leq 25\%$ вважали такими, що мають низьку проліферативну активність, а $> 25\%$ — високу.

2.6.2 Особливості візуалізації IGF-1R та МЦБ

Експресію OPN та ON оцінювали за інтенсивністю цитоплазматичного забарвлення епітеліальних клітин, тоді як при аналізі IGF-1R враховували сумарну експресію антигену, що включала як мембранну, так і цитоплазматичну локалізацію.

Для напівкількісної оцінки рівня експресії досліджуваних маркерів (OPN, ON та IGF1R) застосовували методику гістологічного підрахунку H-Score. Цей показник розраховували для кожного зразка за формулою:

$$S = 0 \times N0 (\%) + 1 \times N1 (\%) + 2 \times N2 (\%) + 3 \times N3 (\%),$$

де S – показник «H-Score», N0 – кількість клітин з відсутньою експресією, N1, N2 та N3 – з низькою, середньою та високою експресією, відповідно.

Діапазон значень H-Score становив від 0 до 300 балів. (табл. 2.4).

Таблиця 2.4

Критерії категоризації рівня експресії до їх кількісних показників (H-Score)

H-Score, бали	Рівень експресії
1-100	Низький
101-200	Помірний
201-300	Високий

2.7 Методи статистичної обробки одержаних результатів

Статистичну обробку отриманих результатів виконували за допомогою програми STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., США), враховуючи характер розподілу даних. В усіх видах статистичного аналізу відмінності вважали статистично значущими при рівні $p \leq 0,05$.

Порівняння середніх значень кількісних показників обох незалежних груп проводили за допомогою *t*-критерію Стьюдента (для даних з

нормальним розподілом) або непараметричного U -критерію Манна–Уїтні (для даних, розподіл яких відрізнявся від нормального). Порівняння частотних розподілів якісних ознак у досліджуваних групах проводили з використанням критерію χ^2 Пірсона та точного критерію Фішера. Для оцінки ймовірності виникнення бінарних подій (зокрема, наявності множинного метастатичного ураження) будували моделі логістичної регресії з розрахунком відношення шансів (OR) та 95% довірчого інтервалу (ДІ).

Аналіз взаємозв'язків між порядковими та кількісними ознаками проводили з розрахунком коефіцієнтів кореляції Гудмена–Крускала (гамма-кореляція), що є оптимальним для аналізу напівкількісних показників (бальних шкал).

Аналіз виживаності пацієнток проводили з використанням комплексу методів. Для оцінки та візуалізації показників загальної виживаності (ЗВ) застосовували метод Каплана–Майєра. Побудовані криві виживаності для різних груп порівнювали за допомогою лог-рангового критерію (log-rank test). Для детальної оцінки динаміки ризику настання летального випадку в часі розраховували функцію інтенсивності відмов (Hazard Function).

Для виявлення незалежних прогностичних чинників та оцінки їх сукупного впливу застосовували методи багатofакторного аналізу. Для прогнозування ймовірності бінарних подій (наприклад, наявності множинного метастатичного ураження) будували моделі логістичної регресії. Для оцінки прогностичної потужності отриманих моделей та визначення оптимальних точок розподілу (cut-off points) використовували ROC-аналіз із розрахунком площі під кривою (AUC), чутливості та специфічності.

Для оцінки незалежного впливу предикторів на ЗВ та розрахунку відношення ризиків (Hazard Ratio, HR) з 95% довірчим інтервалом (ДІ) здійснювали побудову регресійної моделі пропорційних ризиків Кокса. Побудову фінальних моделей виконували за методом покрокового включення змінних (stepwise selection). Якість регресійних моделей оцінювали за

критерієм χ^2 -квадрат (χ^2), а відсутність мультиколінеарності між факторами підтверджували розрахунком фактора інфляції дисперсії (VIF).

На основі побудованих регресійних моделей Кокса та результатів ROC-аналізу було розроблено прогностичний алгоритм для стратифікації пацієнтів із пМРГЗ за групами ризику, в залежності від наявності MetC.

Розділ 3

КЛІНІКО-ПАТОМОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРВИННО-МЕТАСТАТИЧНОГО РГЗ ТА ОСОБЛИВОСТІ ЙОГО ПЕРЕБІГУ У ПАЦІЄНТОК З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ

Вивчення метастатичних форм РГЗ набуває особливого наукового значення завдяки складнощам прогнозування відповіді на терапію, що з одного боку обумовлено біологічною гетерогенністю, а з іншого - впливом системних метаболічних факторів. Серед останніх особливу увагу привертають компоненти MetC – ожиріння, гіперглікемія та асоційована з нею інсулінорезистентність, дисліпідемія, а також артеріальна гіпертензія, що здатні модифікувати властивості неопластичних клітин та їх мікрооточення, потенційно впливаючи на агресивність пМРГЗ.

Незважаючи на загальне розуміння проонкогенної ролі MetC, специфічні клініко-патоморфологічні особливості пМРГЗ, що розвивається на тлі метаболічного дисбалансу, а також їх зв'язок з різними гормонально-рецепторними підтипами пухлин, залишаються недостатньо вивченими. За таких умов, діагностика, стратифікація ризиків та вибір оптимальної терапевтичної тактики для даної категорії хворих ускладнюється.

Зважаючи на це, метою першого етапу дослідження була ідентифікація клініко-патоморфологічних особливостей пМРГЗ з урахуванням гормонально-рецепторного статусу новоутворень та наявності у пацієнток MetC.

3.1 Загальна характеристика хворих на пМРГЗ

На початковому етапі роботи нами було проведено ретроспективний аналіз історій хвороб 93 пацієнток на пМРГЗ, які проходили лікування на базі Державного некомерційного підприємства «Національний інститут раку» впродовж періоду з 2016 по 2023рр. Середній вік хворих становив $60,5 \pm 0,7$

років, усі пацієнтки перебували в менопаузі. Для ідентифікації критеріїв MetC було здійснено оцінку їх клініко-лабораторних характеристик за рекомендаціями IDF (2005р.). Середній рівень глюкози натще у пацієток на пМРГЗ становив $6,05 \pm 0,25$ ммоль/л, а ліпідний профіль хворих характеризувався наступними показниками: загальний холестерин (ЗХ) - $6,33 \pm 0,27$ ммоль/л, тригліцериди (ТГ) - $1,64 \pm 0,19$ ммоль/л, ліпопротеїди високої щільності (ЛПВЩ) - $1,6 \pm 0,21$ ммоль/л, ліпопротеїди низької та дуже низької щільності (ЛПНЩ та ЛПДНЩ) - $3,81 \pm 0,46$ ммоль/л. Середні показники артеріального тиску у пацієток були на рівні $125,5 \pm 1 / 77,8 \pm 0,73$ мм рт.ст. Додатково до загально-клінічних та лабораторних відомостей, для уточнення антропометричного статусу кожної пацієнтки визначався індекс маси тіла за Кетле (ІМТ, кг/м²): ІМТ ≤ 16 — дефіцит маси тіла, 16,0–18,5 — недостатня, 18,5–24,9 — нормальна, 25,0–30,0 — надлишкова маса тіла, 30,0–35,0 — ожиріння I ступеня, 35,0–40,0 — ожиріння II ступеня, ≥ 40 — ожиріння III ступеня. Проведений аналіз продемонстрував, що відповідні показники у жінок з пМРГЗ відзначались варіабельністю та не завжди корелювали з наявністю ожиріння. Дане спостереження обумовлено паранеопластичним впливом пухлинного процесу, що асоціюється із втратою маси тіла або навіть розвитком кахексії. Саме тому, наявність абдомінального ожиріння у таких хворих не використовувалась в якості обов'язкового критерію, натомість показники маси тіла підлягали оцінюванню на рівні з іншими параметрами.

За результатами аналізу, MetC було діагностовано у 45 (48,4%) пацієток, тоді як 48 (51,6%) жінок не мали таких ознак. На основі наявності критеріїв MetC усі пацієнтки були розподілені на дві групи: MetC-позитивні (MetC+) та MetC-негативні (MetC-). Аналіз клініко-лабораторних характеристик хворих на пМРГЗ менопаузального віку відповідно до критеріїв MetC представлений у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1.

Розподіл хворих за клініко-лабораторними показниками відповідно до наявності критеріїв MetC

Показник	Група MetC– (n=48)	Група MetC+ (n=45)	Рівень значущості, <i>p</i>
Вік	60,6±1,04	60,5±0,9	0,958
ІМТ	26,6±0,53	31,48±0,74	<0,001*
Глюкоза	4,96 ±0,19	6,88 ±0,37	<0,001*
ЗХ	5,7±0,51	6,51 ±0,31	0,21
ТГ	0,83±0,26	1,89±0,18	0,03*
ЛПВЩ	1,47±0,08	1,62±0,25	0,909
ЛПНЩ та ЛПДНЩ	2,32±0,66	4,35±0,49	0,026*
САТ	121,3±1,19	130,0±1,3	<0,001*
ДАТ	76,3±1,0	79,2±1,05	0,055

Примітка * $p < 0,05$ у порівнянні з відповідними характеристиками хворих без MetC

Як видно з наведених даних, групи статистично значущо відрізнялися за ключовими компонентами MetC. Так, середнє значення ІМТ у групі MetC+ становило 31,48±0,74 кг/м² та суттєво перевищувало показник групи MetC– (26,25±0,53 кг/м², $p < 0,001$). Рівень глікемії натще у групі MetC+ також був достовірно вищим порівняно з пацієнтками групи контролю (6,88 ммоль/л проти 4,96 ммоль/л відповідно, $p < 0,001$). Аналіз ліпідного профілю виявив статистично значущі відмінності для рівня ТГ у групі хворих з MetC у порівнянні з пацієнтками без ознак MetC (1,89±0,18 ммоль/л проти 0,83±0,26 ммоль/л, $p = 0,03$), а також для загального показника атерогенних

ліпопротеїдів ($4,35 \pm 0,49$ ммоль/л проти $2,32 \pm 0,66$ ммоль/л відповідно, $p=0,026$). Водночас, достовірних розбіжностей у показниках ЗХ та ЛПВЩ між групами не спостерігалось ($p=0,210$ та $p=0,909$). Значення САТ у групі MetC+ характеризувався достовірно вищими значенням порівняно з пацієнтками групи MetC- ($130 \pm 1,3$ мм рт. ст. проти $121,3 \pm 1,19$ мм рт. ст. відповідно, $p < 0,001$), тоді як ДАТ продемонстрував тенденцію до вищих значень в основній групі ($79,2 \pm 1,05$ мм рт. ст. проти $76,3 \pm 1,0$ мм рт. ст.), проте різниця не досягла рівня статистичної значущості ($p=0,055$).

Подальше дослідження пацієток на пМРГЗ супроводжувалось аналізом їх клініко-патоморфологічних особливостей, що представлено на рис. 3.1.

Для подальшого пошуку зв'язку між MetC та клініко-патоморфологічними характеристиками пМРГЗ, проведено порівняльний аналіз ключових параметрів обох груп (табл. 3.2).

Аналіз розміру первинної пухлини та її гістологічних характеристик не виявив статистично значущих відмінностей між групами порівняння. Зокрема, розподіл частоти встановлення новоутворень грудної залози категорій T2-T4 ($p=0,131$), гістологічних типів ($p=0,113$) та ступенів диференціювання ($p=0,298$) у пацієток обох груп був подібним. Незважаючи на те, що частка пухлин з високим ступенем проліферативної активності (Ki-67 > 25%) була помітно вищою у групі пацієток MetC+ (51,1%) порівняно з групою MetC- (35,4%), розбіжності не досягли рівня статистичної значущості ($p=0,146$).

Аналіз ураження регіонарних лімфатичних вузлів продемонстрував достовірну залежність від метаболічного статусу пацієток ($p=0,049$). У групі MetC+ зафіксовано більшу частку уражень категорій N1 та N2 (по 44,5%) порівняно з групою MetC- (27,1% та 39,6% відповідно). Натомість пацієтки без ознак метаболічних розладів характеризувались більшою частотою відсутності ураження регіонарних лімфатичних вузлів (N0, 10,4%) та часткою

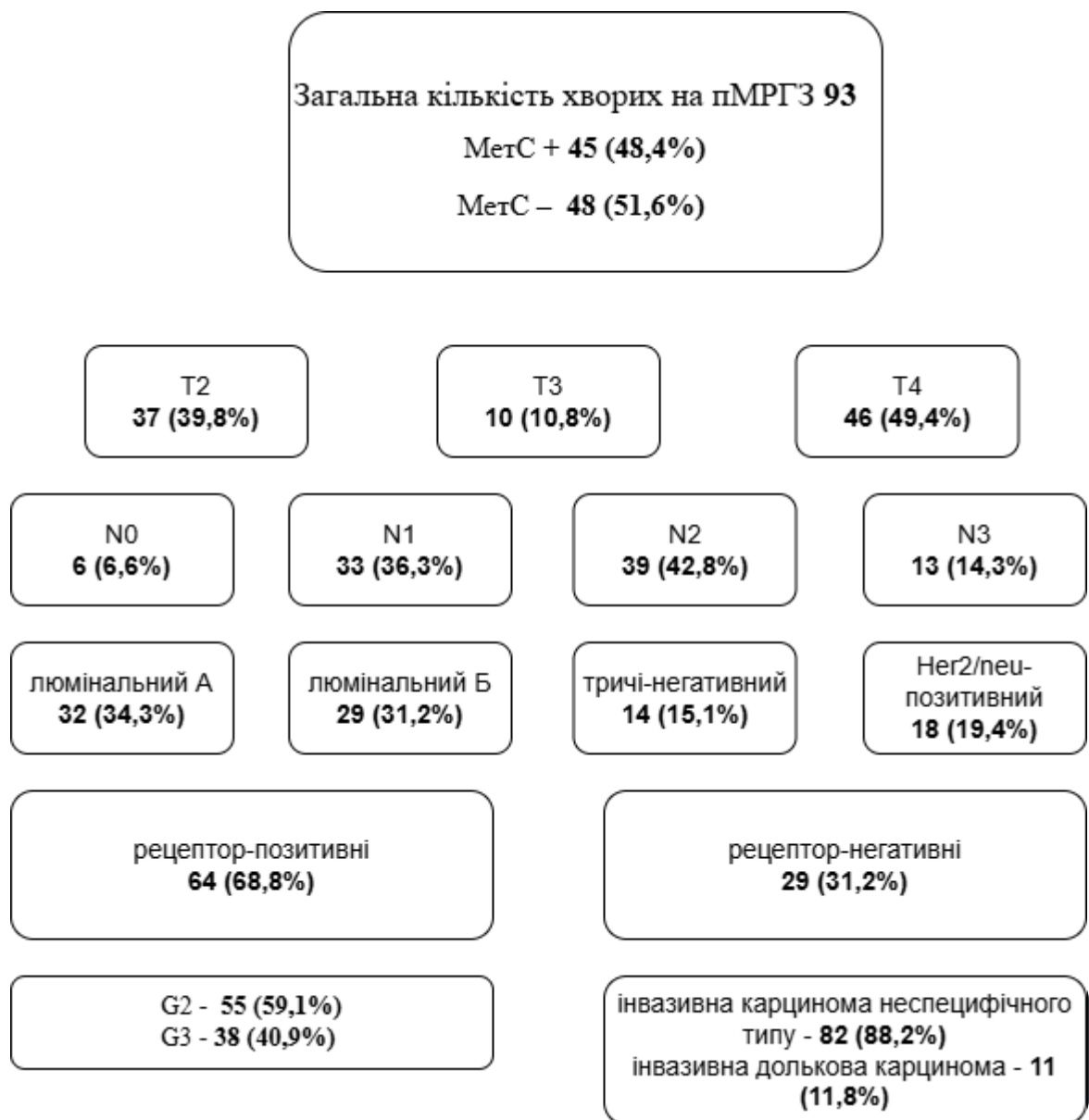


Рис. 3.1. Клініко-патоморфологічна характеристика пацієнтів на пМРГЗ, які брали участь у дослідженні.

категорії хворих N3 (20,9%). Розподіл за молекулярними підтипами (люмінальний А, люмінальний Б, тричі-негативний та Her2/neu-позитивний) не продемонстрував статистично значущих відмінностей між групами ($p=0,222$). Аналогічно, узагальнений розподіл на рецептор-позитивні та рецептор-негативні пухлини пМРГЗ не виявив достовірної різниці між досліджуваними групами пацієток ($p=0,502$). Переважну більшість складала

рецептор-позитивні новоутворення як для хворих з наявним MetC (64,4%), так і за його відсутності - 72,9%.

Таблиця 3.2.

Клініко-патоморфологічна характеристика хворих за наявності MetC

Показник		Mets- (n=45), %	Mets+ (n=48), %	Рівень значущості , <i>p</i>
T	T2	24 (50,0)	13 (28,9)	0,131
	T3	3 (6,3)	7 (15,6)	
	T4	21 (43,7)	25 (55,5)	
N	N0	5 (10,4)	1 (2,2)	0,049*
	N1	13 (27,1)	20 (44,5)	
	N2	19 (39,6)	20 (44,5)	
	N3	10 (20,9)	3 (6,8)	
Гістологічний тип	ІК НТ	45 (93,8)	37 (82,2)	0,113
	ІДК	3 (6,3)	8 (17,8)	
Ступінь диференціювання	Помірнодиференційована	31 (64,6)	24 (53,3)	0,298
	Низькодиференційована	17 (35,4)	21 (46,7)	
Молекулярний підтип	Люмінальний А	16 (33,3)	16 (35,6)	0,222
	Люмінальний Б	18 (37,6)	11 (24,4)	
	Тричі-негативний	4 (8,3)	10 (22,2)	
	Her2/neu-позитивний	10 (20,8)	8 (17,8)	
Рецепторний статус	позитивний	35 (72,9)	29 (64,4)	0,502
	негативний	13 (27,1)	16 (35,6)	
Ki-67	≤ 25%	31 (64,6)	22 (48,9)	0,146
	> 25%	17 (35,4)	23 (51,1)	

Примітка. * $p < 0,05$ у порівнянні з відповідними характеристиками хворих без MetC

Отримані дані свідчать про те, що обидві групи пацієнток не відрізняються за основними клініко-патоморфологічними та молекулярно-біологічними характеристиками пМРГЗ. Єдиним параметром, для якого встановлено статистично значущу залежність від наявності MetC виявився статус регіонарних лімфатичних вузлів. Наявність MetC у пацієнток на пМРГЗ асоціювалася з вищою частотою ураження лімфатичних вузлів категорій N1–N2 порівняно з такими показниками групи порівняння. Таким чином, подібність біологічного профілю первинних пухлин на тлі визначених відмінностей у шляхах їх дисемінації дозволяє припустити, що вплив MetC на агресивність перебігу захворювання реалізується через системні механізми, які задіяні у процесі метастазування.

Наступний етап дослідження був присвячений аналізу характеру віддаленого метастазування у пацієнток на пМРГЗ. Обробка клініко-анамнестичних даних дозволила встановити, що частота діагностування солітарних та множинних уражень віддалених органів у пацієнток була практично однаковою (49,5% та 50,5% відповідно), у той же час виявлення ізольованих кісткових метастазів складало 17,2%, а метастатичного ураження вісцеральних органів – 36,6%, решта – комбіновані (46,2%). За ураженням окремих органів-мішеней, найвища частота ураження спостерігалась у кістки – 63,4%, бронхо-легеневу та гепато-біліарну системи (50,5% та 37,6% відповідно). Метастатичне ураження інших локалізацій було виявлено у 12,9% разів.

Для більш комплексного розуміння біологічної агресивності пухлинного процесу було проаналізовано особливості віддаленого метастазування пМРГЗ у пацієнток за умови наявності MetC (табл. 3.3). Проведений аналіз дозволив встановити, що множинне метастатичне ураження пМРГЗ достовірно частіше спостерігалось у пацієнток за умови наявного MetC (64,4%), тоді як одиночні метастази переважали у групі MetC– (62,5%, $p=0,013$). Аналогічні відмінності знайшли своє підтвердження при аналізі патерну ураження віддалених органів. За даними літератури [70,

78, 144], пухлини з тропністю лише до кісткової тканини мають менш агресивний перебіг порівняно з тими, що вражають вісцеральні органи або мають змішаний характер розповсюдження. Так, ізольоване ураження кісток достовірно частіше реєстрували у пацієток без ознак супутнього MetC (27,1%), порівняно з хворими досліджуваної групи (6,7%, $p=0,012$). На противагу цьому, комбінований варіант метастатичного ураження віддалених органів пМРГЗ (одночасне ураження кісток та вісцеральних органів), який асоціюється з вищою біологічною агресивністю, статистично достовірно переважав у пацієток групи MetC+ (60%, $p=0,013$). Частота ізольованого вісцерального ураження між групами не відрізнялась ($p=0,667$).

Оцінка метастатичного ураження основних органів-мішеней (кісток, легенів та печінки) статистично значущих відмінностей не продемонструвала ($p<0,05$). Проте, ураження більш рідкісних локалізацій, до яких належить головний мозок, яєчники, шкіра та канцероматоз очеревини, зустрічалось достовірно частіше у групі MetC+ (22,2%) порівняно з пацієтками без MetC (4,2%, $p=0,012$).

3.2 Оцінка ризиків множинного метастазування пМРГЗ

Кількість метастатичних вогнищ та залучених органів є одним з найважливіших клінічних проявів агресивності перебігу пМРГЗ. Перехід від солітарного метастатичного ураження до розповсюдженої форми свідчить про здатність трансформованих клітин до швидкої та масивної дисемінації, виживання в кровоносному руслі та здатності до колонізації різних органів-мішеней. Множинне метастатичне ураження напряду корелює з гіршим прогнозом показників виживаності пацієток та потребує інтенсивної системної терапії. З огляду на це, ідентифікація факторів, що сприяють формуванню розповсюдженої форми пМРГЗ, виступає одним з головних завдань для стратифікації ризиків та розуміння механізмів прогресування захворювання.

На першому етапі аналізу за допомогою однофакторних моделей логістичної регресії було оцінено індивідуальний внесок кожної клініко-патоморфологічної характеристики у ризик розвитку множинного метастазування. Встановлено, що для даної когорти пацієток статистично значущий вплив мали наявність MetC (ВШ = 3,02; $p=0,010$) та великий розмір пухлини категорії T4 (ВШ = 3,08; $p=0,014$). Інші класичні параметри, включно з віком, молекулярним підтипом та проліферативною активністю пухлини, не продемонстрували статистично значимого зв'язку з множинною формою дисемінації пухлинного процесу ($p>0,05$; табл. 3.4).

Таблиця 3.3

Характеристика метастатичного ураження хворих на пМРГЗ за умови наявності MetC

Метастатичне ураження		MetC– (n=45)	MetC+ (n=48)	Рівень значущості, p
За кількістю уражених органів	Солітарне	30 (62,5)	16 (35,6)	0,013*
	Множинне метастазування	18 (37,5)	29 (64,4)	
За патерном ураження віддалених органів	Кістки	13 (27,1)	3 (6,7)	0,012*
	Вісцеральні органи	19 (39,6)	15 (33,3)	0,667
	Комбіновані	16 (33,3)	27 (60)	0,013*
За локалізацією ураження віддалених органів	Кістки	29 (60,4)	30 (66,7)	0,667
	Бронхо-легенева система	21 (43,8)	26 (57,8)	0,215
	Гепатобіліарна система	20 (41,7)	15 (33,3)	0,521
	Інші	2 (4,2)	10 (22,2)	0,012*

Примітка: * $p < 0,05$ у порівнянні з відповідними характеристиками хворих без MetC

Таблиця 3.4

Прогностичне значення окремих факторів в ініціації множинного метастазування пМРГЗ

Факторна ознака		Коефіцієнт моделі, $b \pm m$	Рівень значущості відмінності ВШ від 1, p	Показник ВШ моделі, (95% ВІ)
Вік, на рік		-0.061 ± 0.033	0.064	0.94 (0.88 – 1.00)
MetC		1.11 ± 0.43	0.010	3.02 (1.30 – 7.03)
Категорія T	T2	Референтний		
	T3	-0.35 ± 0.77	0.648	–
	T4	1.13 ± 0.46	0.014	3.08 (1.25 – 7.57)
Категорія N	N1	Референтний		
	N0	-1.67 ± 1.15	0.146	–
	N2	0.20 ± 0.47	0.678	–
	N3	-0.21 ± 0.66	0.744	–
Гістологічний тип	Інвазивна карцинома неспецифічного типу	Референтний		
	Інвазивна долькова карцинома	-0.23 ± 0.64	0.720	–
Ступінь диференціювання	G2	Референтний		
	G3	0.50 ± 0.43	0.240	–
Молекулярний підтип	Люмінальний А	Референтний		
	Люмінальний Б	-0.21 ± 0.51	0.686	–
	Тричі-негативний	-0.29 ± 0.65	0.656	–
	Her2/neu-позитивний	0.69 ± 0.61	0.258	–
Рецепторний статус	негативний	Референтний		
	позитивний	-0.27 ± 0.45	0.548	–
Ki-67, на %		-0.007 ± 0.011	0.542	–

*Примітка: * $p < 0,05$ у порівнянні з відповідними характеристиками хворих без MetC*

Відсутність очікуваних зв'язків може свідчити про те, що механізми дисемінації трансформованих клітин та формування множинних метастаз, можуть відрізнятися від тих, що задіяні у процесах локальної пухлинної прогресії. Отримані результати додатково підсилили значущість встановленого впливу системних метаболічних порушень та створили підґрунтя для подальшого багатофакторного аналізу.

З метою визначення незалежних факторів ризику множинного метастатичного ураження було побудовано багатофакторну модель логістичної регресії. До неї увійшли п'ять найбільш значущих факторів ризику: вік пацієток, наявність MetC, категорія T, ступінь диференціювання та рівень Ki-67. Показники адекватності моделі ($\chi^2 = 25,4$, $p < 0,001$), та аналіз мультиколінеарності ($VIF < 2$ для усіх змінних) підтвердили статистичну стабільність та надійність отриманих результатів (табл. 3.5.).

Таблиця 3.5

Незалежні чинники ризику множинного метастазування пМРГЗ

Факторна ознака		Коефіцієнт моделі, $b \pm m$	Рівень значущості відмінності ВШ від 1, p	Показник відношення шансів моделі, ВШ (95% ВІ)	VIF
Вік, на рік		-0.11 ± 0.04	0.008*	0.90 (0.83 – 0.97)	1.20
MetC		1.28 ± 0.50	0.011*	3.59 (1.34 – 9.61)	1.04
Категорія T	T2	Референтний			1.17
	T3	-1.23 ± 0.88	0.158	–	
	T4	1.01 ± 0.51	0.049*	2.75 (1.00 – 7.55)	
Ступінь диференціювання	G2	Референтний			1.59
	G3	1.08 ± 0.62	0.079	2.95 (0.88 – 9.86)	
Ki-67, на %		-0.036 ± 0.016	0.030*	0.97 (0.93 – 1.00)	1.65

Примітка: * $p < 0,05$ у порівнянні з відповідними характеристиками хворих без MetC

Найважливішим результатом багатофакторного аналізу стало підтвердження ролі MetC як потужного та незалежного фактора ризику. Після врахування віку та ключових патоморфологічних характеристик пухлини, наявність MetC збільшувала шанси на розвиток множинного

метастатичного ураження в 3,6 рази (ВШ=3.59; 95% ДІ 1.34–9.61; $p=0.011$). Це свідчить про те, що системний метаболічний дисбаланс відіграє незалежну роль у стимуляції більш агресивного варіанту пМРГЗ, незалежно від характеристик первинного вогнища.

Окрім того, незалежне прогностичне значення було збережено для віку, розміру пухлини та рівню її проліферативної активності. Отримані дані дозволяють стверджувати, що множинний характер метастазування у пацієнтів з пМРГЗ детермінований комплексною взаємодією біологічних властивостей пухлини (T4) та соматичного статусу пацієнтки (наявність MetC та молодший вік).

3.3 Аналіз показників загальної виживаності пацієток з пМРГЗ за умови наявності MetC

Наступним етапом дослідження стала оцінка впливу MetC на прогностичні показники ЗВ пацієток з пМРГЗ. Для цього використано метод статистичного обрахунку Каплана-Маєра, що демонструє загальну виживаність протягом 5-річного періоду спостереження. Результати аналізу представлені на рис.3.2.

Результати підтвердили відсутність статистично значущої різниці ЗВ між обома групами ($p=0.909$). Разом з тим, в ході помісячного аналізу кривих була виявлена парадоксальна картина: на проміжку часу від 18 до 40 місяців крива виживаності для групи MetC+ знаходилася вище, порівняно з групою контролю, що може вказувати на складний, нелінійний характер взаємозв'язків. Таким чином, аналіз Каплана-Маєра показав, що для прогнозування ЗВ у пацієток з пМРГЗ наявність MetC в якості єдиного фактора не є достатньою.

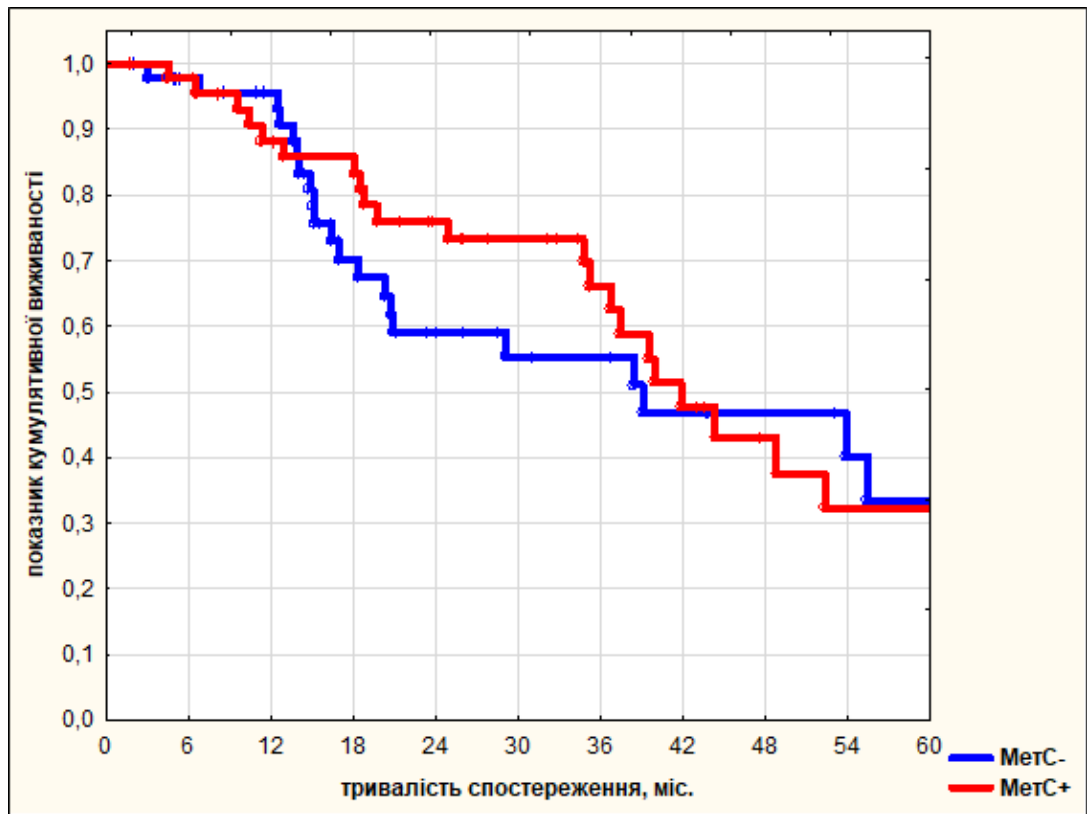


Рис. 3.2 Загальна виживаність хворих на пМРГЗ в залежності від наявності MetC.

Для кращого розуміння виявленого феномену перетину кривих та тимчасово кращої виживаності у групі MetC+ було проведено аналіз функцій інтенсивності відмов (Hazard Function — HF) окремо для пацієток кожної з двох груп. Такий підхід дозволив оцінити динаміку смертності, а саме ризик настання летального випадку в кожен конкретний період часу (рис. 3.4 та 3.5).

Аналіз продемонстрував принципові розбіжності в характері розподілу смертності між групами. Для пацієток групи MetC– характерний один виражений пік ризику, що припадає на період 12-18 місяців від початку спостереження. Після цього критичного періоду інтенсивність відмов суттєво та стабільно знижується. Натомість для групи MetC+ спостерігається пролонгований характер ризику та демонструє кілька пізніх хвиль підвищення, зокрема з 36-го та 48-го місяців спостереження.

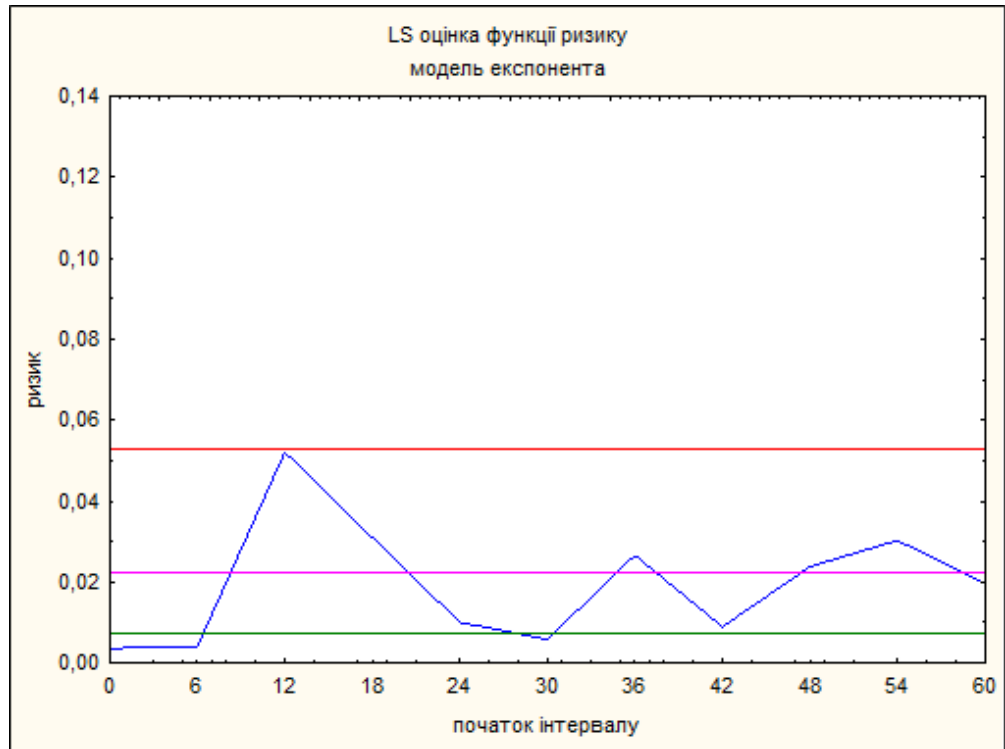


Рис. 3.4 Динаміка ризику настання летального випадку для пацієнток групи MetC–

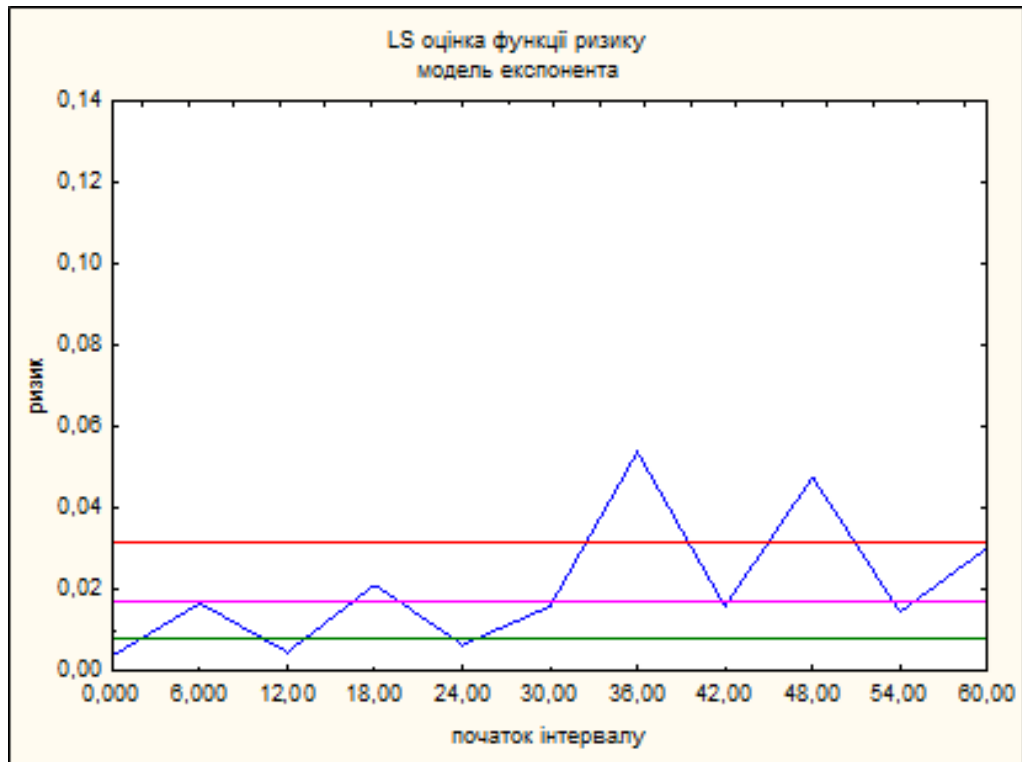


Рис. 3.5 Динаміка ризику настання летального випадку для пацієнток групи MetC+

Таким чином, використання функції інтенсивності відмов дозволило пояснити неоднозначність результатів кривих виживаності Каплана-Маєра. Встановлено, що пацієнтки без ознак MetC стикаються з високим ризиком смертності на ранніх етапах встановлення пМРГЗ, тоді як для пацієнок з наявністю MetC ризик не зникає з часом, а реалізується у вигляді відтермінованого у часі прогресування. Такі результати свідчать про те, що MetC виступає як фактор перманентної нестабільності пухлинного процесу, що потребує тривалого та ретельного клінічного моніторингу навіть за умови досягнення початкової стабілізації.

Висновки до розділу 3

Проведений комплексний аналіз клініко-патоморфологічних особливостей перебігу пМРГЗ у пацієнок менопаузального віку дозволив встановити, що наявність MetC є вагомим фактором, що модулює агресивність захворювання, однак його вплив має складний та багатогранний характер, який реалізується переважно через системні механізми, а не через пряму зміну біології первинної пухлини.

1. Аналіз обох груп показав, що пацієнтки з пМРГЗ були зіставними за більшістю ключових клініко-патоморфологічних характеристик первинного новоутворення. Винятком став характер ураження регіонарних лімфатичних вузлів: в групі MetC+ домінували категорії N1-N2, тоді як у пацієнок групи MetC– спостерігався неоднорідний характер поширення (переважання категорії N0 та N3). Виявлена дисоціація між подібністю характеристик первинних пухлин та розбіжностями в особливостях регіонарного поширення вказує на те, що модулюючий вплив MetC на агресивність пМРГЗ реалізується переважно на етапах метастатичного каскаду.

2. Додатковим підтвердженням здатності MetC модулювати агресивність перебігу пМРГЗ став аналіз віддаленого метастазування. Встановлено, що наявність MetC не впливала на частоту ураження окремих органів-мішеней, проте змінює загальний патерн та обсяг ураження. У

пацієнок групи MetC+ значно рідше зустрічалось ізольоване ураження кісток (прогностично сприятливіший варіант), натомість достовірно частіше спостерігався змішаний (кістково-вісцеральний варіант) та множинний характер метастатичного ураження. За даними багатofакторного аналізу, MetC виступає потужним незалежним предиктором множинного метастазування (ВШ=3.59; 95% ДІ 1.34–9.61; $p=0.011$).

Таким чином, сукупність отриманих даних дозволяє стверджувати, що MetC сприяє більш агресивному перебігу пМРГЗ у пацієнок в менопаузі, що реалізується переважно через посилення системних процесів метастазування та зміною динаміки ризику настання летальних випадків, надаючи їм більш затяжного характеру.

Результати проведених досліджень в розділі 3, опубліковано у [5].

Розділ 4

МОРФОЛОГІЧНІ ІНДИКАТОРИ АГРЕСИВОСТІ ПЕРВИННО-МЕТАСТАТИЧНОГО РАКУ ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ, АСОЦІЙОВАНІ З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ

Новоутворення грудної залози - гетерогенна патологія, складність якої проявляється не лише на молекулярному, але й на гістологічному рівнях. Різноманіття морфологічної будови суттєво ускладнює діагностику, прогнозування перебігу захворювання та вибір оптимальної тактики лікування. MetC, як один з ключових факторів ризику розвитку пМРГЗ, виступає потужним системним модулятором, вплив якого на структурну архітектуру та морфологічну гетерогенність пухлини потребує поглибленого вивчення.

Незважаючи на те, що стандартна гістологічна оцінка тканини РГЗ, що базується на визначенні гістологічного типу, ступеню диференціювання та молекулярного підтипу пухлини є основою діагностики, вона не завжди повною мірою відображає біологічну агресивність пухлини, особливо на тлі системних метаболічних порушень. Розуміння того, як системні метаболічні порушення трансформуються у зміни гістоархітектури пухлини та її стромального мікрооточення, може надати патогістологу додаткові морфологічні критерії, а клініцисту — обґрунтовані інструменти для більш точної стратифікації пацієнтів. Стромальний компонент, будучи під тривалим впливом факторів MetC (хронічне запалення, дисліпідемія, гіперглікемія), піддається ремодулюванню, що впливає на подальшу клітинно-матриксну взаємодію. За даними літератури, такими потенційними індикаторами несприятливого прогнозу можуть бути гіалінова дегенерація строми та наявність ПЗР навколо пухлинних комплексів [11, 23].

Саме тому, метою даного розділу стало визначення клінічного значення ГС та ПЗР шляхом оцінки їхнього зв'язку з наявністю MetC та множинним метастатичним ураженням у пацієток з пМРГЗ.

4.1 Зв'язок морфологічних маркерів несприятливого перебігу пМРГЗ з наявністю MetC

У даному фрагменті роботи проаналізовано біопсійний матеріал 55 пацієток з пМРГЗ. Хворих було розподілено на 2 досліджувані групи залежно від наявності MetC: кількість пацієток без ознак MetC — 30, з ознаками MetC — 25. Мікроскопія клінічних випадків дозволила виконати напівкількісну оцінку двох гістологічних ознак: ступеня вираженості ГС та наявності ПЗР. Оцінку проводили за 4-бальною шкалою, де 0 балів відповідало відсутність ознак, а 1, 2 та 3 бали — слабкому, помірному та вираженому її прояву відповідно. Отримані результати представлено у таблиці 4.1 та 4.2.

Таблиця 4.1

Напівкількісна оцінка морфологічних характеристик пМРГЗ групи MetC–

Морфологічні характеристики		ГС, бали				Загальна кількість	
		0	1	2	3	N	%
ПЗР, бали	0	5	1	2	0	8	26,7
	1	6	2	0	0	8	26,7
	2	6	2	2	0	10	33,3
	3	2	0	2	0	4	13,3
Загальна кількість	N	19	5	6	0	30	100
	%	63,3	16,7	20,0	0		

Таблиця 4.2

**Напівкількісна оцінка морфологічних характеристик пМРГЗ
групи MetC+**

Морфологічні характеристики		ГС, бали				Загальна кількість	
		0	1	2	3	N	%
ПЗР, бали	0	2	1	0	0	3	12,0
	1	2	2	0	1	5	20,0
	2	2	4	1	0	7	28,0
	3	2	5	3	0	10	40,0
Загальна кількість	N	8	12	4	1	25	100
	%	32,0	48,0	16,0	4,0		

Отримані рангові дані були піддані статистичній обробці за допомогою гамма-кореляційного аналізу Гудмена-Краскала (табл. 4.3). Встановлено сильний та статистично достовірний позитивний кореляційний зв'язок між ступенем вираженості ГС та наявністю MetC ($p=0,002$). Аналогічно, статистично значущий позитивний зв'язок було виявлено для ПЗР в залежності від наявності ознак метаболічного дисбалансу ($p=0,014$).

Таблиця 4.3

**Кореляційний зв'язок між морфологічними характеристиками та
наявністю MetC**

Морфологічна характеристика	N	Групи спостережень		
		Коефіцієнт- γ	z- статистики	p
Гіаліноз строми	55	0,486	3,082	0,002
Перитуморальні зони ретракції	55	0,379	2,448	0,014

Примітка: * $p < 0,05$ у порівнянні з відповідними характеристиками хворих без MetC

Таким чином, комплексний статистичний аналіз доводить, що обидві досліджувані гістологічні ознаки — ремоделювання стромы за типом гіалінозу та формування ПЗР — достовірно асоційовані з наявністю MetC.

4.2 Роль морфологічних маркерів у розвитку агресивного варіанту пМРГЗ

Наступним кроком стала оцінка зв'язку цих гістологічних особливостей та проявом більш агресивного перебігу захворювання — розвитком множинного метастатичного ураження. На відміну від солітарного ураження, множинне метастазування свідчить про вищу біологічну агресивність пухлини, її здатність виживати та колонізувати різні типи тканин органів-мішеней. Клінічно такий перебіг захворювання асоціюється зі значно гіршим прогнозом, більшим пухлинним навантаженням на організм та обмеженими терапевтичними можливостями. Саме тому перевірка прогностичної значущості досліджуваних морфологічних ознак в даному контексті дуже актуальна для даної групи хворих

У таблиці 4.4 наведено розподіл пацієток за ступенем вираженості перитуморальних проміжків залежно від характеру метастатичного ураження. Аналіз даних демонструє, що у групі пацієток з множинним метастазуванням частотіше спостерігались виражені перитуморальні простори (69,0% пацієток присвоєно по 2 і 3 бали), тоді як, пухлинна тканина хворих з солітарним ураженням характеризувались наявністю протилежних ознак (57,8% присвоєно 0 або 1 бал).

Застосування γ -кореляційного аналізу дозволило кількісно оцінити наявність зв'язку між морфологічними особливостями тканини пМРГЗ та множинним метастазуванням, продемонструвавши диференційовані результати для кожної ознаки. Результати обрахунків представлено у таблиці 4.5.

Встановлено, що наявність ПЗР демонструє достовірний позитивний кореляційний зв'язок із множинним метастазуванням (коефіцієнт- $\gamma = 0,378$,

$Z = 2,434$, $p=0,015$). В той самий час, гіалінова дегенерація стромального мікроточення пухлини, будучи тісно пов'язаною з MetC, не показала достовірної кореляції з розвитком множинних метастазів ($p=0,705$).

Таблиця 4.4

Напівкількісна оцінка вираженості перитуморальних зон ретракції за об'ємом метастатичного ураження пМРГЗ

Морфологічні характеристики		За кількістю метастатично уражених органів				Загальна кількість	
		Солітарне ураження		Множинне ураження		N	%
		N	%	N	%		
ПЗР, бали	0	8	30,8	3	10,3	11	20,0
	1	7	27,0	6	20,7	13	23,6
	2	7	27,0	10	34,5	17	30,9
	3	4	15,2	10	34,5	14	25,5
Загальна кількість	%	26	100	27	100	55	100

Таблиця 4.5

Кореляційний зв'язок між морфологічними характеристиками пМРГЗ та наявністю множинного метастатичного ураження

Морфологічна характеристика	N	Групи спостережень		
		Коефіцієнт- γ	z-статистики	p
ГС	55	0,066	0,377	0,705
ПЗР	55	0,378	2,434	0,015

Тож, продемонстровані результати вказують на те, що на даному клінічному матеріалі наявність перитуморальних зон ретракції, може

виступати надійним морфологічним індикатором для визначення більш агресивних форм пМРГЗ.

4.3 Клінічні випадки

Для демонстрації виявлених статистичних закономірностей щодо досліджуваних морфологічних патернів та як вони проявляються у клінічній практиці, нижче наведено аналіз двох репрезентативних клінічних випадків.

Клінічний випадок №1. Пацієнтка Яковенко Н.З., 1959 р.н. ідентифікатор хворого в лікарняному реєстрі С008712. Антропометричні дані: вага 80 кг, зріст 1,65 м, ІМТ – 29,7. Показники ліпидограми периферичної крові: ТГ – 1,9 ммоль/л, ЛПВЩ –1,7 ммоль/л, ЛПНЩ – 3,37 ммоль/л, ЛПДНЩ – 1,07 ммоль/л, ЗХ – 5,68 ммоль/л. Середній систолічний тиск становив 120/70 мм.рт.ст. Рівень глюкози натщесерце – 6,72 ммоль/л. Лабораторні показники свідчать про наявність у пацієнтки MetC. Згідно з даними патогістологічного висновку № 27663/20: ІК НТ, помірного ступеня диференціювання (G2). Імуногістохімічний профіль: рецептори ER – 75%; рецептори PR – 0%; Her2/neu–негативна реакція; Ki-67-33%, молекулярний підтип – люмінальний Б. За міжнародною TNM-класифікацією (8-го видання) встановлено T2N2M1 стадію (IV клінічна група) з метастатичним ураженням легень.

Мікроскопічний опис: в біопсійному матеріалі визначаються групи й тяжі атипівих клітин протокового епітелію грудної залози (помаранчева стрілка). Стромальне оточення неопластичних клітин характеризується вираженими десмопластичними змінами колагенових волокон, а також визначаються окремі ділянки їх гіалінової дегенерації (чорні стрілки). Даний феномен характеризується масивними, безструктурними, гомогенними, еозинофільними відкладеннями гіаліну, які оточують, стискають та фрагментують пухлинні комплекси. Ступінь вираженості гіалінозу оцінено у 3 бали (рис. 4.1).

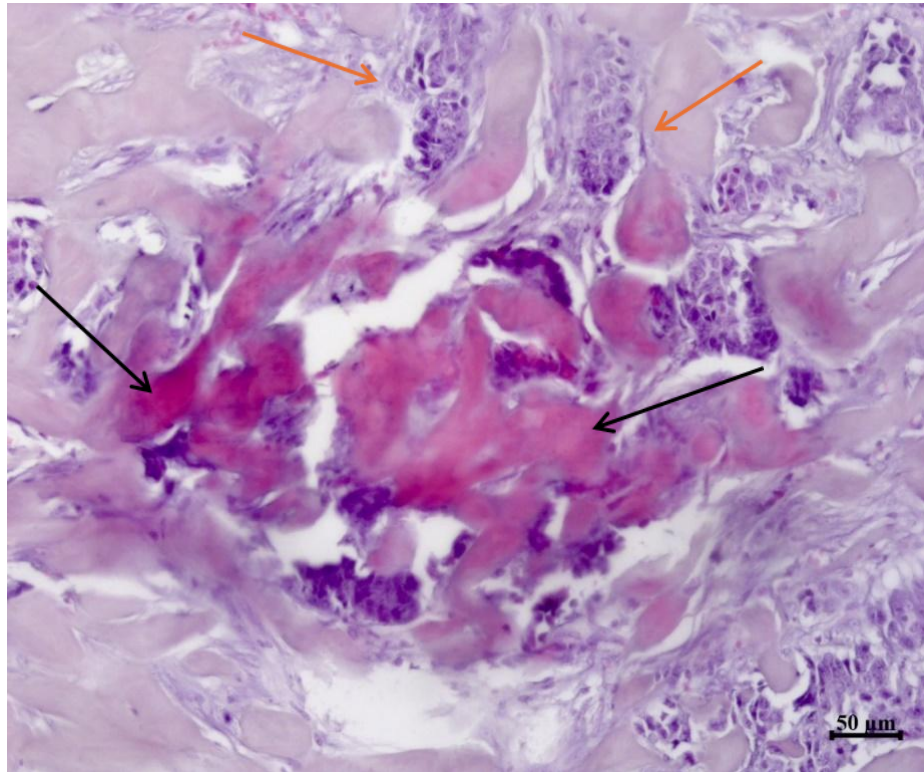


Рис. 4.1 Виражений гіаліноз стромы (3 бали) у пацієнтки з люмінальним Б підтипом пМРГЗ та супутнім МетС. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 200$.

Окрім цього, додатковою особливістю даного препарату було визначення численних ПЗР. Навколо більшості пухлинних комплексів, від найбільших до найменших, спостерігаються чітко окреслені, оптично пусті простори, які створюють ефект "ореолу". Описані щілиноподібні простори відокремлюють гнізда атипівих клітин від навколишньої стромы. Ступінь вираженості даної ознаки оцінено у 3 бали (рис. 4.2).

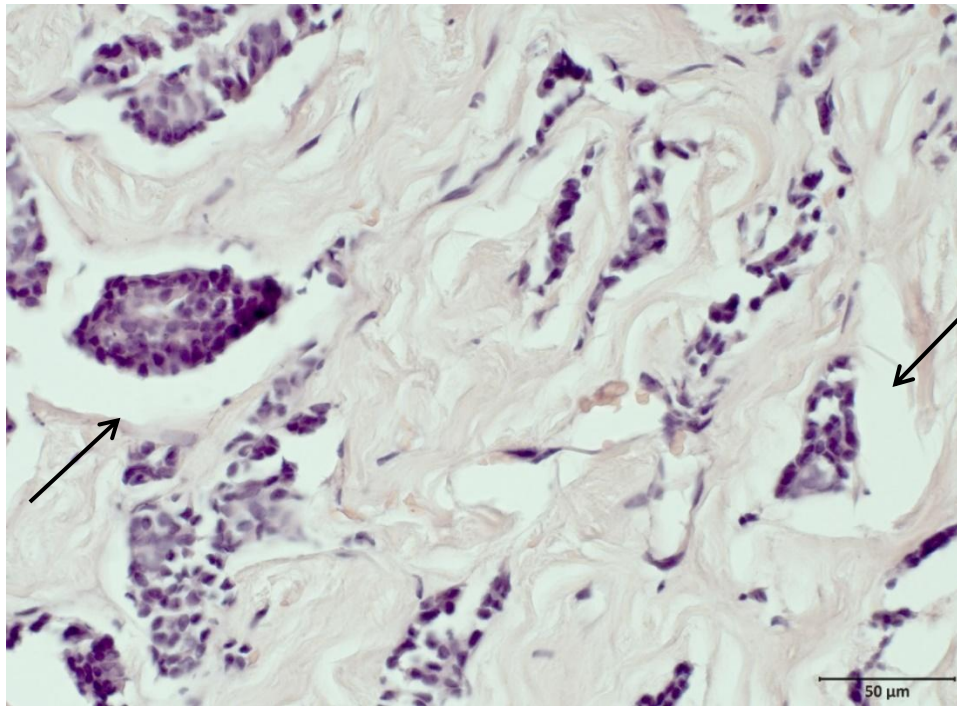


Рис. 4.2. Виражені перитуморальні ретракційні щілини (3 бали) навколо гнізд інвазивної карциноми у пацієнтки на пМРГЗ на тлі MetC. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 200$.

Клінічний випадок № 2. Пацієнтка Довнич Л.В., 1964 р.н., ідентифікатор хворого в лікарняному реєстрі В601630. Антропометричні дані: вага 78 кг, зріст 1,58 м, ІМТ – 31,2. Показники ліпидограми периферичної крові: ТГ – 1,8 ммоль/л, ЛПВЩ – 2,0 ммоль/л, ЛПНЩ – 3,56 ммоль/л, ЛПДНЩ – 1,02 ммоль/л, ЗХ – 7,9 ммоль/л. Середній систолічний тиск становив 140/70 мм.рт.ст. Рівень глюкози натщесерце – 6,2 ммоль/л. Супутні захворювання: ішемічна хвороба серця: кардіосклероз аорти, гіпертонічна хвороба 2б, серцева недостатність 1 ст. Клінічні дані свідчать про наявність у пацієнтки MetC. Згідно патогістологічним висновком № 3542-43: ІК НТ з ознаками мікропапілярного росту, низького ступеню диференціювання (G3). Імуногістохімічний профіль пухлини: рецептори ER – 0%; рецептори PR – 0%; Her2/neu – негативна реакція; Ki-67- 30%, молекулярний підтип – тричі негативний. За міжнародною TNM-класифікацією встановлено T4N1M1 стадію (IV клінічна група) з метастатичним ураженням печінки.

Мікроскопічний опис: гістологічна картина пухлини характеризується наявністю солідних полів та мікропапілярних структур, утворених поліморфними атиповими клітинами протокового епітелію грудної залози (помаранчеві стрілки). Строма пухлини на окремих ділянках дифузно інфільтрована лімфоцитами. Ознаки гіалінозу мають переважно периваскулярний характер: навколо кровоносних судин спостерігаються муфтоподібні скупчення гомогенних еозинофільних мас (чорна стрілка). Ступінь вираженості гіалінозу оцінено у 2 бали. Забарвлення гематоксиліном та еозином, збільшення $\times 400$ (рис. 4.3).

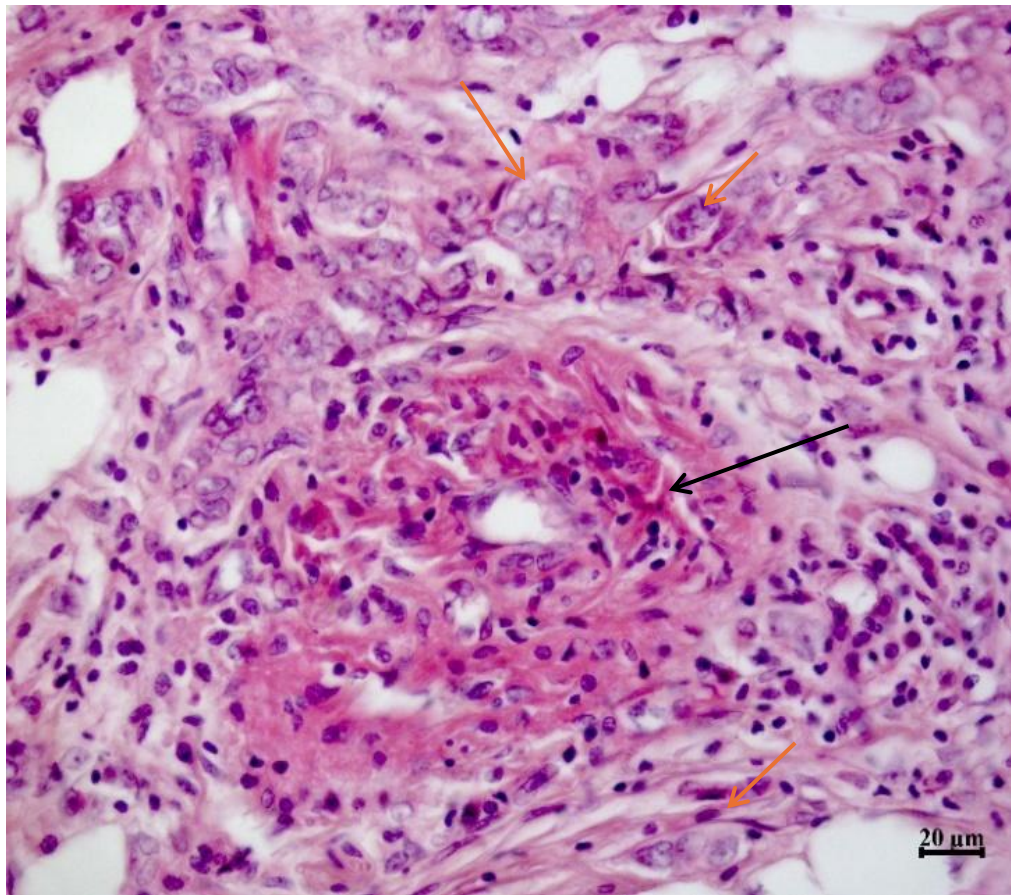


Рис. 4.3. Помірний периваскулярний гіаліноз (2 бали) та лімфоїдна інфільтрація стромы у пацієнтки з тричі-негативним пМРГЗ та наявним МетС. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 400$.

Клінічний випадок №3. Пацієнтка Солтіс Т.М., 1958 р.н., ідентифікатор хворого в лікарняному реєстрі В917414. Антропометричні дані: вага 86 кг, зріст 1,61 м, ІМТ – 33,2. Показники ліпідограми периферичної крові: ТГ – 1,9

ммоль/л, ЛПВЩ – 2,5 ммоль/л, ЛПНЩ – 3,89 ммоль/л, ЛПДНЩ – 1,32 ммоль/л, ЗХ – 7,0 ммоль/л. Середній систолічний тиск становив 130/70 мм.рт.ст. Рівень глюкози натщесерце – 6,3 ммоль/л. Супутні захворювання: ішемічна хвороба серця: гіпертонічна хвороба 2б ступеня. Клініко-лабораторні дані свідчать про наявність у пацієнтки MetC. Згідно з патогістологічним висновком № 57898-899: ІК НТ, помірного ступеня диференціювання (G2). Імуногістохімічний профіль: рецептори ER – 85%; рецептори PR – 40%; Her2/neu – негативна реакція; Ki-67–8%, молекулярний підтип – люмінальний А. За міжнародною TNM-класифікацією встановлено T3N1M1 стадію (IV клінічна група) з множинним метастатичним ураженням легень та кісток скелету.

Мікроскопічний опис: визначається ріст протокової карциноми, у вигляді невеликих папілярних структур та цугів атипових клітин. Клітини характеризуються помірним поліморфізмом, з гіперхромними ядрами та помірною кількістю еозинофільної цитоплазми. Строма пухлини відрізняється вираженими десмопластичними змінами — вона виглядає щільною, волокнистою, з хаотично розташованими колагеновими волокнами. На цьому тлі спостерігаються ознаки слабкої гіалінової дегенерації, що проявляється у вигляді невеликих, гомогенних, еозинофільних ділянок, що оточують окремі пухлинні комплекси (помаранчеві стрілки). Ідентифікується друга ключова ознака — наявність ПЗР. Навколо багатьох пухлинних гнізд та тяжів визначаються оптично пусті простори, які відокремлюють їх від навколишньої стромы. Перитуморальні простори мають різну величину та присутні на переважній більшості полів зору (чорні стрілки). Ступінь вираженості цієї ознаки оцінено у 3 бали (виражені).

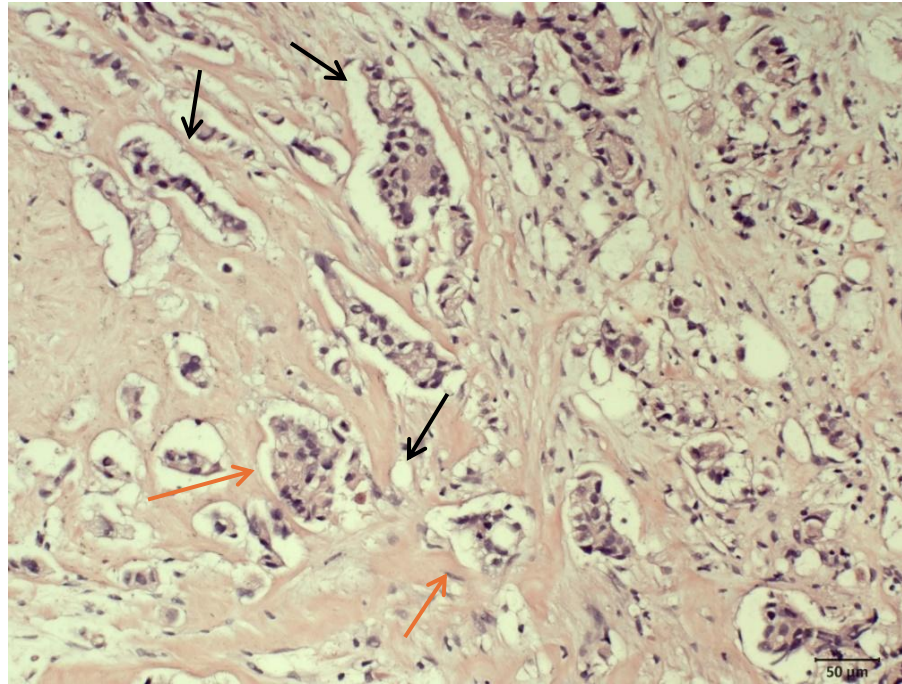


Рис. 4.4 Поєднання слабого ГС та виражених характеристик ПЗР (3 бали) у пацієнтки на пМРГЗ з наявним МетС та кістково-вісцеральним метастатичним ураженням. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення $\times 200$.

Висновки до розділу 4

Проведений аналіз дозволив встановити, що такі гістологічні особливості, як гіалінова дегенерація стромы та перитуморальні зони ретракції у біопсійному матеріалі, є не випадковими знахідками, а достовірними морфологічними індикаторами, асоційованими з МетС у пацієнток з пМРГЗ. Це підтверджує те, що системні метаболічні порушення здатні впливати на пухлинну тканину не лише на біохімічному рівні, підсилюючи її проліферативні можливості, але й ставати індикатором зміни пухлинного мікрооточення, що призводить до росту її агресивності. Водночас, при аналізі зв'язку цих ознак з клінічними проявами агресивності було виявлено диференційовану картину. Саме наявність ПЗР продемонструвало прямий достовірний зв'язок з множинним метастатичним ураженням, тоді як ГС, незважаючи на його тісну асоціацію з МетС, такого

зв'язку не показав. Отримані дані дають підстави розглядати оцінку цих гістологічних ознак як потенційно корисний додатковий інструмент для стратифікації ризику серед пацієнток з пМРГЗ, особливо на тлі метаболічних порушень.

Результати проведених досліджень в розділі 4, опубліковано у [4].

Розділ 5

ЗНАЧЕННЯ МОЛЕКУЛЯРНИХ МАРКЕРІВ IGF-1R, OPN ТА ON В ІНДИВІДУАЛІЗАЦІЇ ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ ПЕРВИННО-МЕТАСТАТИЧНОГО РАКУ ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ

Сучасне розуміння онкологічних захворювань виходить за межі вивчення злоякісної трансформації клітин та фокусується на складній взаємодії пухлини та організму. Одним з ключових чинників, що визначає характер такої взаємодії є MetC. На сьогоднішній день, накопичено велику кількість робіт, що підтверджують роль компонентів MetC не лише в ініціації РГЗ, але й асоціації з агресивним перебігом, а також модуляції маніфестації пМРГЗ. Метаболічний дисбаланс, що супроводжується хронічною гіперглікемією, надлишком вільних жирних кислот та надмірною активністю прозапальних цитокінів, створюють сприятливі умови для активації проонкогенних сигнальних каскадів та модуляції метастатичних форм РГЗ.

Одним із ключових ефекторів, що трансформують системні метаболічні сигнали у внутрішньоклітинні стимули росту, виступає IGF-1R. В умовах гіперінсулінемії IGF-1R виконує функцію медіатора метаболічних сигналів організму, що призводить до гіперактивації сигнальних шляхів PI3K/Akt та MAPK/ERK. Саме через гіперекспресію IGF-1R неопластична клітина адаптується до метаболічного дисбалансу, підсилюючи власний проліферативний та антиапоптичний потенціал. Таким чином, рецепторний статус інсулінової осі є визначальним для розуміння ступеня впливу соматичного стану пацієнтки на біологічну агресивність пМРГЗ.

Водночас метастатична дисемінація пухлинних клітин, неможлива без відповідного ремоделювання ПКМ. Під впливом інсулінового сигналів та прозапальних цитокінів відбувається зміна експресії МЦБ — клас специфічних неколагенових протеїнів ПКМ, що виконують роль медіаторів міжклітинних взаємодій. Серед таких, особливу увагу привертають OPN та

ON, які виступають одними з ключових регуляторів клітинної адгезії, міграції та неоангіогенезу.

Таким чином, можна припустити, що агресивний перебіг пМРГЗ на тлі MetC обумовлений синергічним впливом молекулярної тріади — IGF-1R, OPN та ON. Поглиблене вивчення взаємозв'язків між цими маркерами дозволить розкрити механізми трансформації системних метаболічних порушень у морфофункціональні зміни пухлинної тканини, які й визначають її високий метастатичний потенціал.

5.1 Аналіз експресії молекулярних маркерів та їх зв'язок з клініко-патоморфологічними характеристиками пМРГЗ

Для поглибленого аналізу молекулярних механізмів, що лежать в основі виявлених раніше клінічних закономірностей, з основної групи пацієток (n=93) було сформовано цільову вибірку для проведення ІГХ-дослідження. Формування вибірки відбувалося шляхом ретельного двоетапного відбору.

На першому етапі застосовували клінічні критерії включення. До аналізу залучали лише тих пацієток, матеріал яких отримано до початку системної неoad'ювантної терапії. Такий підхід дозволив виключити вплив цитостатиків на рівні трансляційної активності досліджуваних маркерів.

На другому етапі проводили технічну оцінку якості матеріалу. Гістологічні препарати підлягали повторному мікроскопічному перегляду для верифікації їх репрезентативності. З дослідження виключали зразки з недостатнім об'ємом пухлинної тканини, вираженими преаналітичними артефактами фіксації або зонами некрозу, що могли вплинути на якість ІГХ-зabarвлення.

В результаті такого відбору фінальну вибірку склали 55 пацієток, матеріал та клінічні дані яких повністю відповідали усім вимогам протоколу дослідження. Даний матеріал був використаний для порівняльного аналізу експресії IGF-1R, OPN та ON. Усі хворі проходили лікування на базі ДНП «Національний інститут раку». За аналогією з попереднім розділом,

пацієнок було розподілено на групи залежно від наявності MetC, керуючись рекомендаціями IDF (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

Загальна характеристика пацієнок з пМРГЗ

Загальна кількість пацієнок – 55 (100%)			
MetC+	25 (45,5%)	MetC-	30 (54,5%)
Середній вік, роки	61,7±1,6	Середній вік, роки	61,4±1,1

Аналіз результатів кількісних показників ІГХ-дослідження дозволив встановити, що середній рівень експресії досліджуваних маркерів у тканині пМРГЗ становить 179,8±8,2, 225,8±8,3 та 130,8±11,0 бали H-Score для IGF-1R, OPN та ON відповідно (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

Кількісні показники експресії досліджуваних маркерів у тканині пМРГЗ

Показник	N	Рівень експресії, H-Score	Медіана	Стандартне відхилення	Якісний показник
IGF-1R	55	179,8	185,0	8,2	Помірний
OPN	55	225,8	232,1	8,3	Високий
ON	55	130,8	137,6	11,0	Помірний

Мікроскопічне дослідження препаратів дозволило встановити, що пухлинна тканина хворих на пМРГЗ характеризувалась помірними та високими показниками експресії IGF-1R, OPN та ON (рис.5.1–5.4).

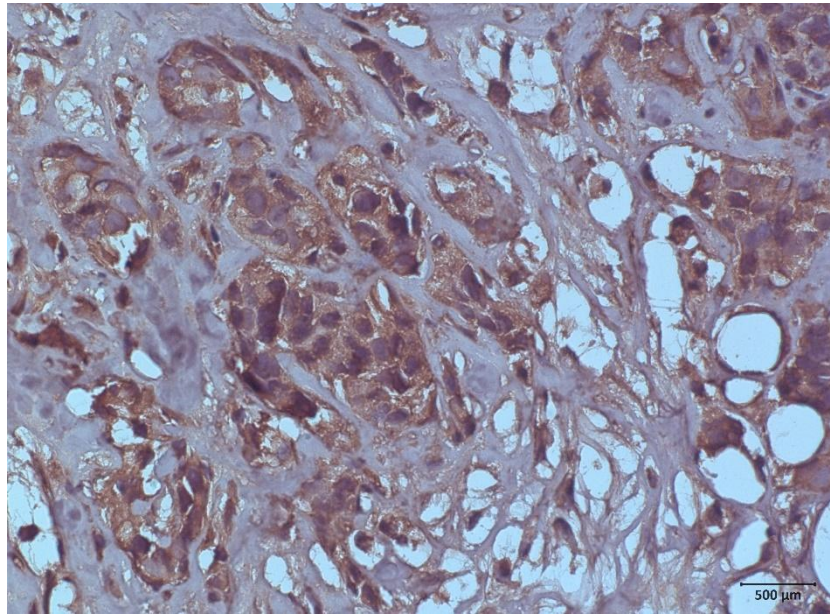


Рис. 5.1 Виражена експресія IGF-1R в цитоплазмі пухлинних клітин пМРГЗ. ІГХ- метод, хромоген 3,3'-діамінобензидин тетрахлориду. Дофарбовування гематоксиліном. Збільшення $\times 40$

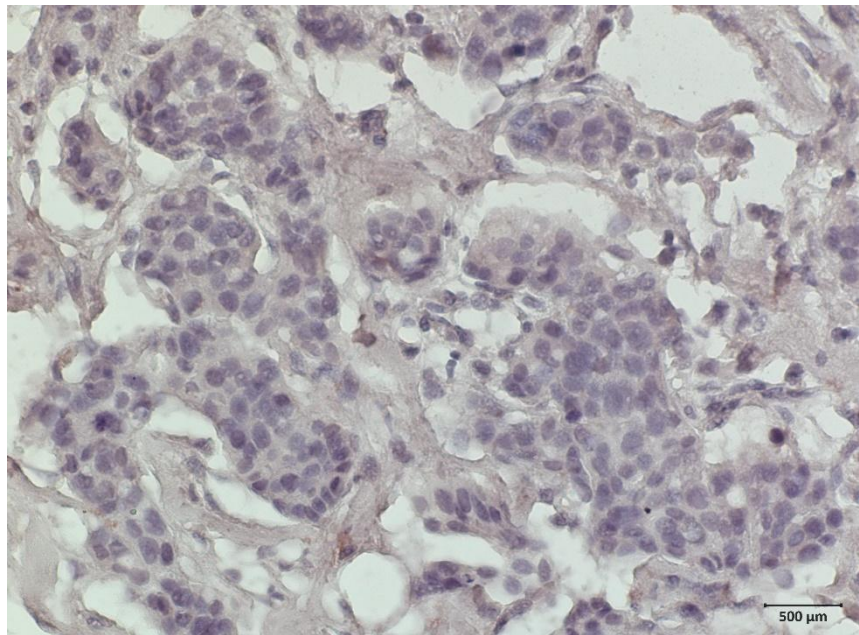


Рис. 5.2 Негативний контроль IGF-1R в цитоплазмі пухлинних клітин пМРГЗ. ІГХ- метод, хромоген 3,3'-діамінобензидин тетрахлориду. Дофарбовування гематоксиліном. Збільшення $\times 40$

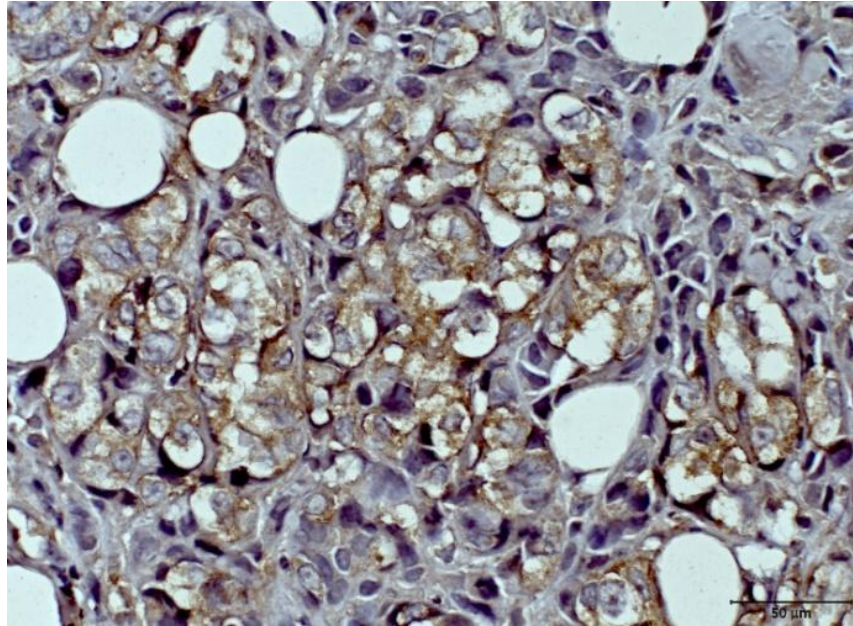


Рис. 5.3 Виражена експресія OPN переважно в цитоплазматичній мембрані пухлинних клітин пМРГЗ. ІГХ- метод, хромоген 3,3'-діамінобензидин тетрахлориду. Дофарбовування гематоксиліном. Збільшення $\times 40$.

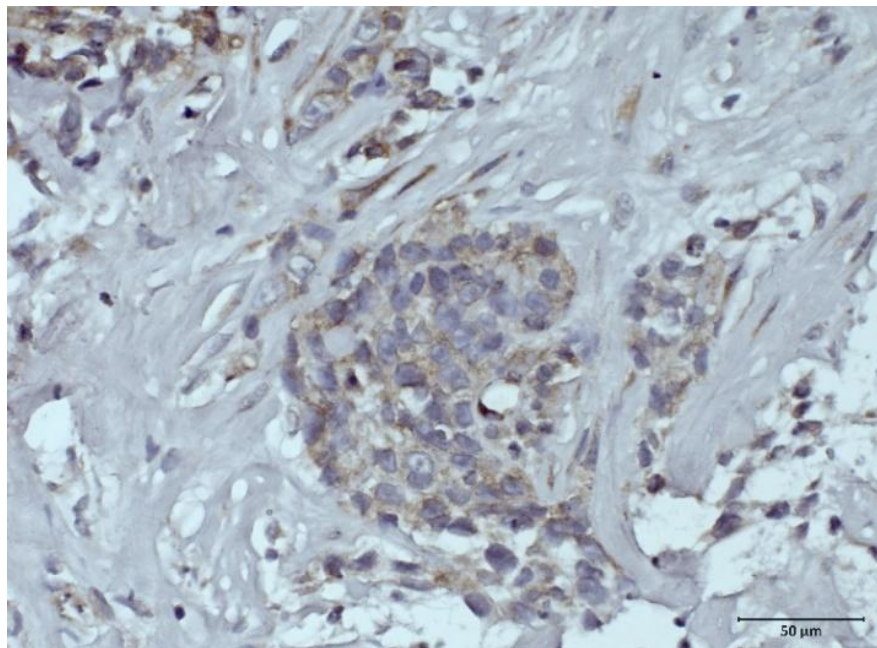


Рис. 5.4 Помірна експресія ON в пухлинних клітинах пМРГЗ. ІГХ- метод, хромоген 3,3'-діамінобензидин тетрахлориду. Дофарбовування гематоксиліном. Збільшення $\times 40$

За результатами аналізу встановлено достовірні розбіжності в рівнях експресії IGF-1R між досліджуваними групами. У пацієток групи MetC+ рівень експресії рецептора був достовірно вищим і становив $204,0 \pm 52,4$ балів H-Score, тоді як у хворих без ознак метаболічної дисфункції цей показник склав $159,6 \pm 60,6$ балів ($p=0,006$; табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Кількісний та якісний показник експресії IGF-1R у клітинах хворих з пМРГЗ залежно від наявності MetC

Групи пацієток	N	IGF-1R, H-Score	Якісний показник	Рівень значущості, <i>p</i>
MetC–	30	$159,6 \pm 60,6$	Помірний	0,006
MetC+	25	$204,0 \pm 52,4$	Високий	

Для глибшого аналізу характеру розподілу за інтенсивністю забарвлення IGF-1R застосовано *U*-критерій Мана-Уїтні. Отримані результати якісного аналізу узгоджуються з кількісними даними H-Score та підтверджують статистично значущу розбіжність між групами порівняння (табл. 5.4).

Зокрема, встановлено суттєвий зсув розподілу рівня експресії IGF-1R у бік вищих значень серед пацієток групи MetC+. Характерною особливістю основної групи стала відсутність випадків зі слабкою експресією маркера, тоді як у групі MetC– частота даної категорії становила 16,7%. Натомість, випадки з високим рівнем експресії рецептора фіксувалися достовірно частіше в основній групі (48,0% проти 30,0%, $p = 0,046$), що підкреслює специфічний вплив метаболічного фону на формування підвищеної щільності IGF-1R у тканині пМРГЗ.

Таблиця 5.4

**Розподіл пацієток із пМРГЗ за інтенсивністю експресії IGF-1R
залежно від метаболічного статусу**

Рівень експресії	MetC–		MetC+*	
	n	%	n	%
Слабкий	5	16,7	0	0
Помірний	16	53,3	13	52
Високий	9	30,0	12	48
Усього	30	100	25	100

Примітка * $p < 0,05$ у порівнянні з відповідними характеристиками хворих без MetC

Аналіз кількісних показників OPN та ON не виявив статистично достовірної різниці між групами. Зокрема, рівень експресії OPN у клітинах пМРГЗ хворих з наявністю та відсутністю MetC становили $236,8 \pm 11,3$ та $216,6 \pm 12,0$ балів H-Score відповідно, а показники експресії ON дорівнювали $114,3 \pm 14,0$ та $144,6 \pm 16,3$ балів H-Score відповідно (табл.5.5 та 5.6).

Таблиця 5.5

**Кількісний та якісний показник експресії OPN в тканині пМРГЗ залежно
від наявності MetC**

Групи пацієток	N	OPN, H-Score	Якісний показник	Рівень значущості, p
MetC–	30	$206,6 \pm 12,0$	Виражена	0,233
MetC+	25	$236,8 \pm 11,3$	Виражена	

Таблиця 5.6

Кількісний та якісний показник експресії ON в тканині пМРГЗ залежно від наявності MetC

Групи пацієнток	N	ON, H-Score	Якісний показник	Рівень значущості, <i>p</i>
MetC–	30	154,2±16,3	Виражена	0,085
MetC+	25	114,3±14,0	Слабка	

Попри відсутність статистично значущої різниці середніх значень H-Score, додаткове проведення кореляційного аналізу за методом Гудмена–Крускала дозволило виявити складніші, впорядковані залежності між якісними показниками маркерів та метаболічним статусом пацієнток (табл. 5.7). Отримані результати продемонстрували наявність статистично значущого зв'язку ($p=0,05$) між рівнем експресії OPN та наявністю MetC. Для ON спостерігалася тенденція до наявності такої асоціації ($p=0,097$). Таким чином, зростання рівня експресії OPN прямо корелювало з наявністю метаболічних порушень у пацієнток, хоча ця закономірність і не була зафіксована при порівнянні усереднених кількісних показників H-Score.

Таблиця 5.7

Ідентифікація зв'язку між експресією МЦБ та наявністю MetC

Характеристика	N	OPN			ON		
		Коефіцієнт γ	z-статистики	<i>p</i>	Коефіцієнт γ	z-статистики	<i>p</i>
MetC	55	0,351	1,872	0,05*	-0,272	-1,660	0,097

5.2 Аналіз експресії досліджуваних маркерів у пацієток з різними клініко-патологічними характеристиками

Наступним етапом роботи стала кількісна оцінка рівнів експресії досліджуваних маркерів залежно від клініко-патоморфологічних характеристик пМРГЗ. Для цього виконано порівняльний аналіз даних показників H-Score використовуючи *t*-критерій Стюдента для незалежних вибірок, $p \leq 0,05$ (табл. 5.8).

Згідно з результатами аналізу, серед усіх клініко-патоморфологічних характеристик лише статус регіонарних лімфатичних вузлів продемонстрував статистично значущий зв'язок із рівнем експресії досліджуваних маркерів. Встановлено, що рівень OPN статистично значущо відрізняється у групах із різним об'ємом уражених лімфатичних вузлів ($p=0,033$). Найвищий рівень експресії виявлено в категорії N2 ($242,9 \pm 64,1$ бала H-Score), тоді як для категорії N3 цей показник був достовірно нижчим ($186,5 \pm 56,7$ бала H-Score). На противагу цьому, показники експресії IGF-1R та ON не продемонстрували асоціацію зі ступенем ураження лімфатичних вузлів ($p=0,855$ та $p=0,531$ відповідно).

Аналіз рівнів експресії досліджуваних молекулярних маркерів в залежності від рецепторного статусу пухлини лише для ON виявив наявність тенденції. Рецептор-негативні пухлини характеризувалися вищим рівнем експресії ($168,6 \pm 82,3$ бала H-Score) порівняно з гормон-позитивними новоутвореннями ($121,3 \pm 79,9$ бала H-Score, $p=0,086$). Водночас рівні IGF-1R та OPN не продемонстрували наявності зв'язку з ER/PR-профілем тканини пМРГЗ ($p=0,208$ та $p=0,142$ відповідно).

Оцінка розміру первинного вогнища та ступеню його диференціювання також характеризувалась відсутністю статистично значущих відмінностей для всіх досліджуваних маркерів. Незважаючи на те, що рівень експресії IGF-1R у пацієток з категорією T4 спостерігалася тенденція до вищих значень H-

Таблиця 5.8

Рівень експресії IGF-1R та МЦБ в залежності від клініко-патоморфологічних характеристик пМРГЗ

Характеристика	Категорії	IGF-1R, H-Score	p_1	OPN, H- Score	p_2	ON, H-Score	p_3
Розмір н/у	T2	168,3±62,9	0,161	242,8±46,5	0,228	136,3±103,8	0,509
	T4	193,3±57,6		220,5±67,7		119,2±71,6	
Ступінь ураження л/в	N2	180,0±55,9	0,855	242,9±64,1	0,033*	133,5±79,5	0,531
	N3	175,9±63,9		186,5±56,7		113,5±72,9	
Гістологічний тип	ІК НТ	179,1±59,3	0,816	222,8±62,5	0,417	133,4±83,4	0,592
	ІДК	184,9±74,8		241,2±59,5		117,3±76,8	
Ступінь диференціювання	G2	175,9±59,3	0,576	223,5±60,6	0,729	115,7±77,7	0,286
	G3	185,3±63,6		229,5±65,2		140,1±84,2	
Гормональний статус пухлини	Рецептор- позитивн а	174,6±62,7	0,208	219,6±64,1	0,142	121,3±79,9	0,086
	Рецептор- негативна	200,5±48,9		250,4±46,7		168,6±82,3	

Примітки: * p_1 — рівень статистичної значущості відмінностей для кількісних показників IGF-1R (за t-критерієм Стьюдента);

p_2 — рівень статистичної значущості відмінностей для кількісних показників OPN (за t-критерієм Стьюдента);

p_3 — рівень статистичної значущості відмінностей для кількісних показників ON (за t-критерієм Стьюдента).

Score порівняно з групою T2 (193,3±57,6 проти 168,3±62,9 бала H-Score, відповідно) ці відмінності не досягли рівня значущості ($p=0,161$).

Аналогічно, показники експресії OPN та ON не показали достовірної залежності від величини первинного вогнища ($p=0,228$ та $p=0,509$ відповідно). Молекулярний профіль пухлинної тканини аналогічно не продемонстрував статистичної різниці для гістологічних типів та ступенів диференціювання пМРГЗ ($p>0,05$ для кожного).

Зважаючи на те, що порівняння середніх значень рівнів експресії МЦБ не дало змоги виявити статистично достовірні розбіжності, для глибшого розуміння молекулярного профілю тканини пМРГЗ було проведено аналіз взаємозв'язків за методом Гудмена–Крускала. Цей підхід дозволив ідентифікувати приховані впорядковані зв'язки між інтенсивністю експресії маркерів та клініко-патоморфологічними параметрами пМРГЗ (табл. 5.9).

Таблиця 5.9.

Результати аналізу взаємозв'язків між рівнями експресії МЦБ та клініко-патоморфологічними характеристиками пМРГЗ

Клініко-патологічні характеристики	N	OPN			ON		
		Коефіцієнт- γ	z-статистики	p	Коефіцієнт- γ	z-статистики	p
Гістологічний тип н/у	55	0,398	1,445	0,148	-0,039	-0,172	0,86
Ступінь диференціювання	55	0,236	1,219	0,223	0	0	1
Рецепторний статус н/у	55	-0,522	-2,06	0,039*	-0,212	-1,113	0,27
Молекулярний підтип н/у	55	0,221	1,333	0,182	0,180	1,306	0,19

Найбільш виражену асоціацію встановлено між OPN та рецепторним статусом пухлини. Зафіксовано статистично значущий негативний кореляційний зв'язок (коефіцієнт- $\gamma = -0,522$, $z = -2,06$, $p = 0,039$), що свідчить про зростання інтенсивності експресії OPN у тканині пМРГЗ з відсутніми

рецепторами до стероїдних гормонів. Такий результат підкреслює роль цього білка у формуванні агресивного гормон-негативного імунофенотипу пухлини.

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що гіперекспресія IGF-1R та МЦБ у хворих має відносно автономний характер щодо клініко-патоморфологічних характеристик пМРГЗ. Виявлена вибіркова асоціація OPN із регіонарним метастазуванням та рецепторним статусом пухлини, ON лише з рецепторним статусом підкреслює складну роль МЦБ у модуляції агресивного фенотипу пМРГЗ.

5.3 Аналіз експресії молекулярних маркерів залежно від характеру метастазування у віддалені органи

Наступним етапом аналізу стало вивчення зв'язку рівнів експресії IGF-1R, OPN та ON із об'ємом і топологією метастатичного ураження віддалених органів у пацієток на пМРГЗ (табл. 5.10).

Найбільш виражену асоціацію об'єму метастатичного ураження показав рівень експресії IGF-1R. У пацієток із множинними метастазами даний показник був достовірно вищим порівняно з хворими, у яких діагностовані солітарні ураження (216,4±36,1 бала проти 135,9±55,2 бала H-Score, $p < 0,001$ відповідно). Показники експресії OPN та ON не продемонстрували достовірної залежності від кількості органів з наявністю метастатичних вогнищ ($p_2 = 0,242$ та $p_3 = 0,707$).

Аналіз показників експресії залежно від метастатичного органотропізму дозволив виявити статистично значущі асоціації для IGF-1R та ON. Найнижчі значення експресії IGF-1R були при ізольованому ураженні кісткової системи (106,7±54,4 балів H-Score), тоді як комбінований варіант метастазування асоціювався зі зростанням показника майже вдвічі (193,8±58,5 балів H-Score, $p = 0,012$).

Водночас було встановлено зв'язок між рівнем експресії ON та метастатичним ураженням кісткової тканини. Рівень його експресії в пухлинній тканині був достовірно нижчим за умови ізольованого метастазування у кістки ($116,8 \pm 77,2$ балів H-Score), тоді як у пацієток, з ураженням виключно вісцеральних органів або змішаного характеру спостерігались достовірно вищі показники ($212,8 \pm 59,3$ балів H-Score, $p_3=0,002$).

Для OPN подібної топографічної вибіркості не виявлено: рівень експресії не показав значущих відмінностей залежно від локалізації метастазів, залишаючись стабільно високим в усіх досліджуваних категорій ($p_2 > 0,05$).

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що кожен із досліджуваних маркерів відображає різну специфіку метастатичного процесу пМРГЗ: IGF-1R корелює з об'ємом метастатичної дисемінації, а рівень ON — вказує на вибірквість ураження органів-мішеней. Стабільно високий рівень OPN, незалежно від локалізації метастатичного ураження, підкреслює його початкову проонкогенну роль, основний вплив якого реалізується на більш ранніх етапах лімфогенного поширення пМРГЗ.

Статистичний аналіз пацієток на пМРГЗ за умови наявності MetC дозволив встановити, що підвищення рівнів експресії IGF-1R, OPN та зниження ON у пухлинних клітинах демонструє достовірне зниження показників виживаності на 9,8% ($p < 0,05$). Як видно з наведених даних (рис. 5.5 та рис. 5.6), у пацієток на пМРГЗ з ознаками MetC з вираженою експресією IGF-1R (>180 бала H-Score), OPN (>200 бала H-Score) та ON (<150 бала H-Score) показники 3-річної загальної виживаності 49,7%, тоді як у хворих з молекулярним профілем пухлини IGF-1R (<180 бала H-Score), OPN (< 200 бала H-Score) та ON (> 150 бала H-Score) показник становить 59,5%. Натомість показники виживаності у хворих без ознак MetC не продемонстрували достовірної залежності до рівнів експресії досліджуваних молекулярних маркерів клітинами пМРГЗ.

Таблиця 5.10

Зв'язок між рецепторами IGF-1R, OPN, ON та особливостями віддаленого метастазування пМРГЗ

Категорії		N	IGF-1R, H-Score	p_1	OPN, H-Score	p_2	ON, H-Score	p_3
За кількістю уражених органів	солітарне	25	135,9 ± 55,2	< 0,001*	215,6±61,3	0,269	135,4±88,6	0,707
	множинне	30	216,4 ± 36,1		234,3±62,1		127,0±77,2	
Ізольоване ураження кісткової системи	наявне	7	106,7 ± 54,4	< 0,001*	225,8±63,3	0,996	116,8±77,2	0,002*
	відсутнє	48	190,4 ± 52,9		225,7±56,3		212,8±59,3	
Ізольоване ураження вісцеральних органів	наявне	18	150,8 ± 56,0	0,012*	229,7±60,4	0,492	108,0±79,3	0,169
	відсутнє	37	193,8 ± 58,5		217,1±66,0		141,0±82,0	
«М» в легені	наявне	33	190,3 ± 60,0	0,113	223,5±61,7	0,745	115,6±69,6	0,101
	відсутнє	22	163,8 ± 59,7		229,0±63,3		152,0±93,3	
«М» в печінку	наявне	19	193,0 ± 45,2	0,244	226,9±60,5	0,930	136,4±92,6	0,725
	відсутнє	36	172,8 ± 67,0		225,3±63,3		128,1±77,3	

Примітки. * p_1 — рівень статистичної значущості відмінностей для кількісних показників IGF-1R (за t-критерієм Стьюдента);

p_2 — рівень статистичної значущості відмінностей для кількісних показників OPN (за t-критерієм Стьюдента);

p_3 — рівень статистичної значущості відмінностей для кількісних показників ON (за t-критерієм Стьюдента);

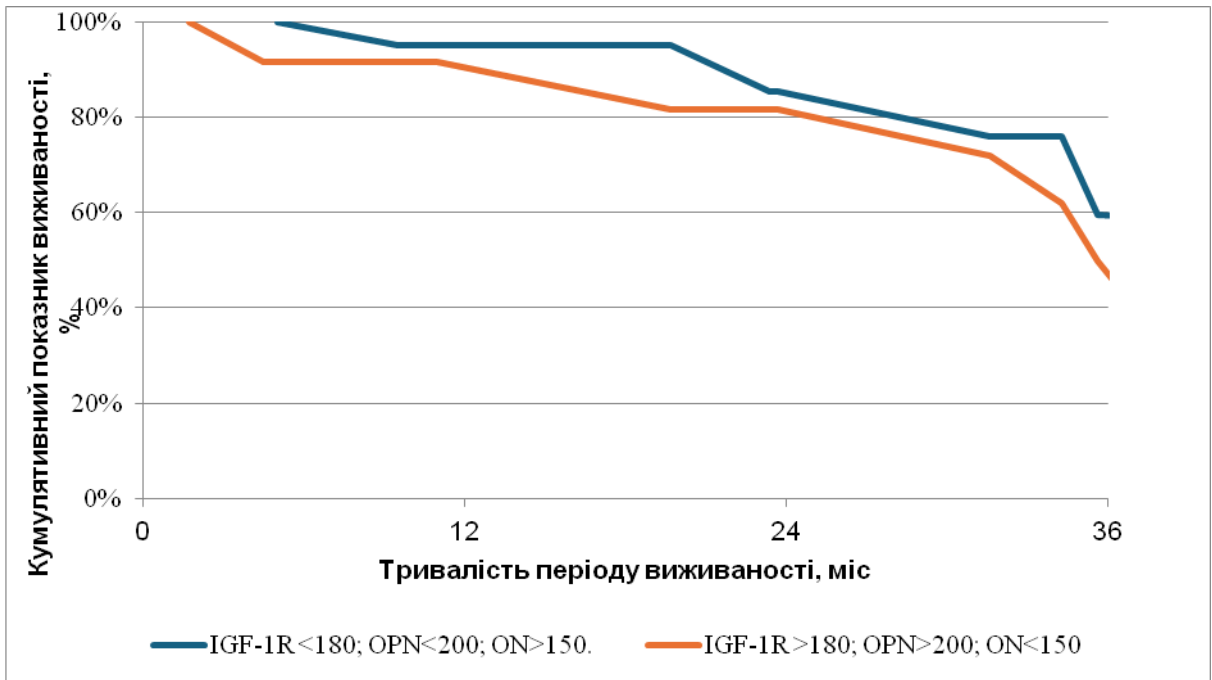


Рис. 5.5. Виживаність пацієток з ознаками MetC в залежності від експресії IGF-1R, OPN та ON у клітинах пМРГЗ

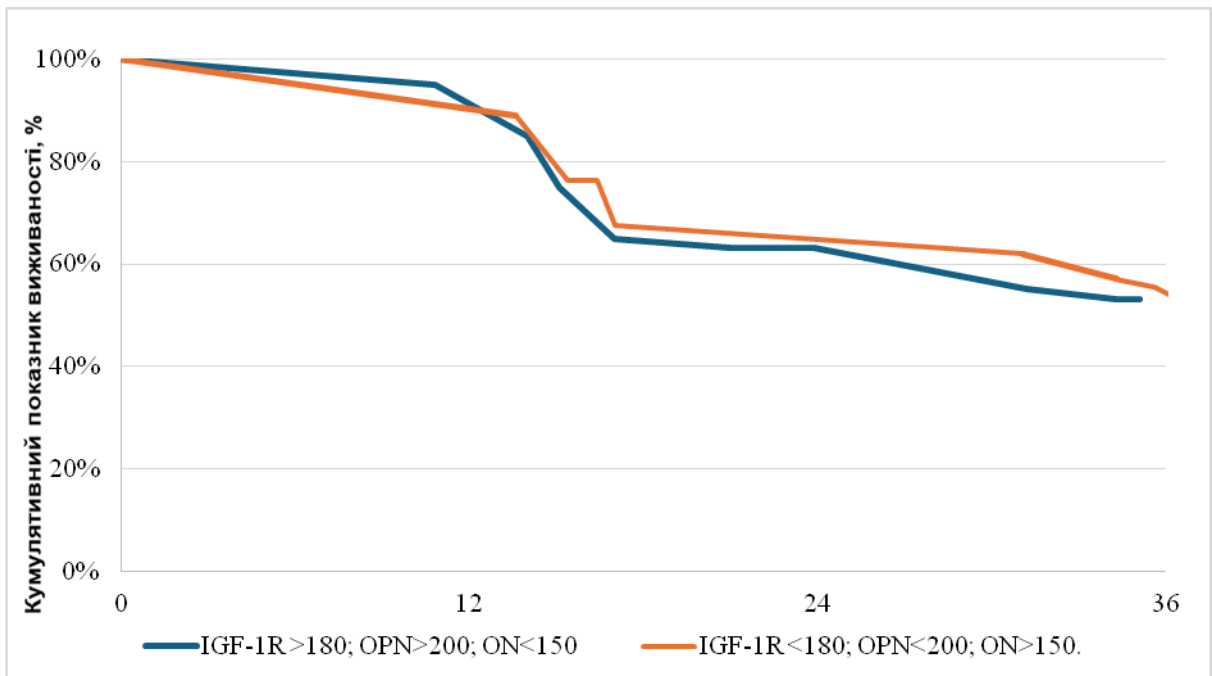


Рис. 5.6. Виживаність пацієток без ознак MetC в залежності від експресії IGF-1R, OPN та ON у клітинах пМРГЗ

Висновки до розділу 5

Встановлено, що системні метаболічні порушення виступають потужним модулятором рецепторного профілю пухлини. Ключовою ознакою пМРГЗ у пацієток із MetC є достовірне зростання рівня експресії IGF-1R, що супроводжується якісним зсувом розподілу в бік високої інтенсивності забарвлення та повною відсутністю випадків зі слабкою експресією. Зазначене підтверджує формування адаптивного механізму, спрямованого на підвищення чутливості пухлинних клітин до зовнішніх стимулів росту на тлі метаболічного дисбалансу.

Виявлено диференційований характер зв'язку МЦБ із компонентами MetC. Хоча прямих кількісних розбіжностей за рівнем H-Score не зафіксовано, результати гамма-кореляції підтвердили статистично значущу асоціацію між зростанням інтенсивності експресії OPN та наявністю MetC. Встановлені закономірності вказують на те, що МЦБ виступають чутливими медіаторами метаболічного дисбалансу у тканині пМРГЗ.

Доведено відносну автономність досліджуваної молекулярної тріади (IGF-1R, OPN, ON) щодо більшості класичних характеристик первинного пухлинного процесу (розмір новоутворення, ступінь диференціювання, гістологічний тип). Встановлена особлива роль OPN у процесах регіонарного метастазування, що в поєднанні з наявністю негативного кореляційного зв'язку із рецепторним статусом пухлини дозволяє розглядати OPN в якості одного з драйверів агресивного гормон-негативного імунофенотипу пМРГЗ.

Обґрунтовано прогностичну значущість молекулярних маркерів як індикаторів характеру системної прогресії пМРГЗ. Встановлено, що IGF-1R виступає індикатором масштабу метастатичного ураження, тоді як ON — може бути характеристикою метастатичного органотропізму пухлини.

Оцінка показників експресії IGF-1R, OPN та ON дозволила ідентифікувати додаткові молекулярно-біологічні фактори агресивності пМРГЗ. IGF-1R продемонстрував зв'язок із поліорганичним ураженням пМРГЗ, тоді як показники експресії МЦБ у пухлинній тканині можуть бути

використані в якості індикаторів регіонарного та віддаленого метастатичного поширення, модулювання органотропності метастатично-розповсюджених пухлинних клітин у віддалені органи.

Результати досліджень, представлені у розділі 5 опубліковано у [138].

Розділ 6

РОЗРОБКА АЛГОРИТМУ ПРОГНОЗУВАННЯ ПЕРЕБІГУ пМРГЗ У ПАЦІЄНТОК З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ

Отримані результати попередніх етапів дослідження дозволили ідентифікувати сукупність чинників, що мають різний ступінь впливу на агресивність перебігу пМРГЗ на тлі MetC. Зокрема, було доведено, що наявність MetC суттєво змінює динаміку смертності, надаючи ризику пролонгованого характеру, а рівні експресії IGF-1R та ON виступають ключовими молекулярним індикаторами масивної метастатичної генералізації та специфічного органотропізму.

Проте клінічна практика застерігає від ізольованого використання одного маркера, оскільки його прогностичні можливості можуть бути обмеженими. З огляду на це, завершальним етапом роботи стало створення інтегративної прогностичної моделі, що дозволяє об'єднати клініко-морфологічні та молекулярно-біологічні параметри в єдиний алгоритм для об'єктивної стратифікації пацієнток за групами ризику.

6.1 Багатофакторне моделювання виживаності пацієнток на пМРГЗ

Для визначення незалежних прогностичних чинників та оцінки їх сукупного впливу на тривалість життя пацієнток було побудовано багатофакторну регресійну модель пропорційних ризиків Кокса. На основі результатів попередніх етапів до початкового аналізу включено такі показники: вік пацієнток (постменопаузальний період), значення Ki-67 (рівень проліферативної активності пухлини), IGF-1R та МЦБ (OPN та ON). За результатами аналізу встановлено, що незалежними предикторами ЗВ в досліджуваній когорті є вік пацієнток, показник Ki-67 та рівні експресії IGF-1R та ON (табл. 6.1).

**Результати багатofакторного аналізу показника виживаності
пацієток на пМРГЗ**

Факторна ознака	Коефіцієнт моделі, $b \pm m$	Рівень значущості відмінності ВР від 1, p	Показник відношення шансів моделі, ВР (95% ВІ)
Вік, на рік	0,084	0,004*	1,088 (1,028 – 1,151)
IGF-1R, H-Score	-0,005	0,084	0,995 (0,989 – 1,000)
OPN, H-Score	-0,001	0,540	0,998 (0,992 – 1,004)
ON, H-Score	0,004	0,028*	1,005 (1,000 – 1,009)
Ki-67, на %	0,040	< 0,001*	1,041 (1,018 – 1,064)

Аналіз моделі дозволили зробити певні висновки:

1. Рівень Ki-67 продемонстрував найвищу статистичну значущість ($p < 0,001$). Встановлено, що зростання рівня проліферативної активності на кожен 1% підвищує ризик настання летального випадку від пМРГЗ на 4,1% , ВІ=1,041(1,018 – 1,064).

2. Вік пацієток виявився потужним незалежним фактором ризику ($p=0,004$), який асоціюється зі збільшенням ризику смерті на 8,8% з кожним додатковим роком життя в постменопаузі ВІ=1,088 (1,028 – 1,151).

3. Експресія ON підтвердила свою незалежну прогностичну роль ($p=0,028$), відображаючи несприятливе значення ремоделювання ПКМ в підвищені ризику летальності ВІ=1,005 (1,000 – 1,009).

4. Експресія рецепторів IGF-1R продемонструвала тенденцію до статистичної значущості ($p=0,084$). Незважаючи на відсутність незалежного впливу для обраної когорти хворих, його включення є обґрунтованим з огляду на встановлений раніше зв'язок із системною генералізацією процесу.

На противагу іншим маркерам, рівень експресії OPN не продемонстрував статистично значущого незалежного впливу на загальну виживаність у даній моделі ($p=0,540$).

Сукупний вплив предикторів наочно демонструється за рахунок побудови прогностичних кривих виживаності для різних профілів пацієток (рис. 6.1–6.3). Для пацієтки із середньостатистичними показниками очікувана медіана виживаності склала 33 місяці. Моделювання несприятливого прогнозу (поєднання старшого віку, високого Ki-67 та MetC-асоційованого профілю маркерів) демонструє раптове та швидке падіння показника виживаності до 5 місяців. Натомість за наявності сприятливого набору чинників прогнозована медіана зростала до 44 місяців.

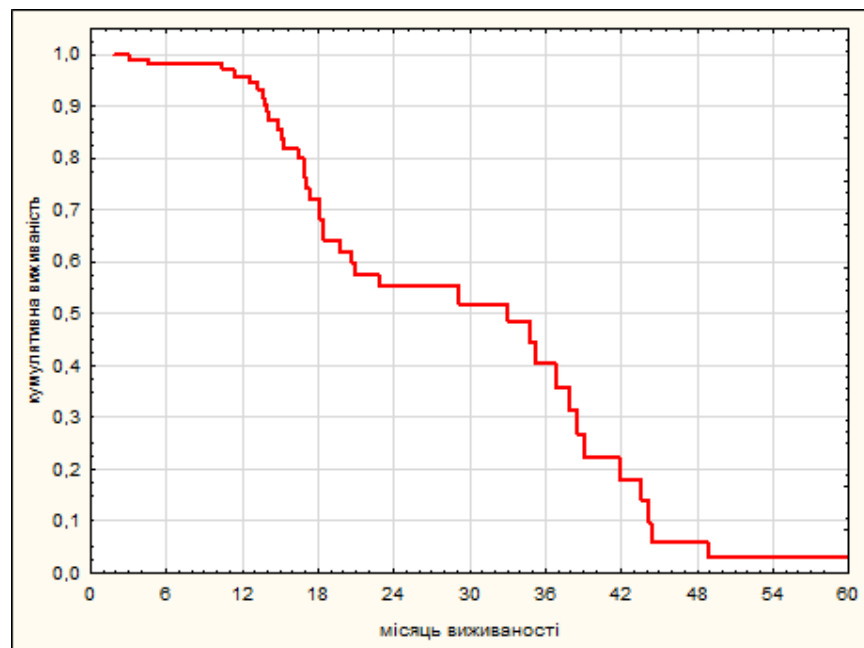


Рис. 6.1 Прогнозована загальна виживаність пацієток на пМРГЗ за середніх значень досліджуваних факторів.

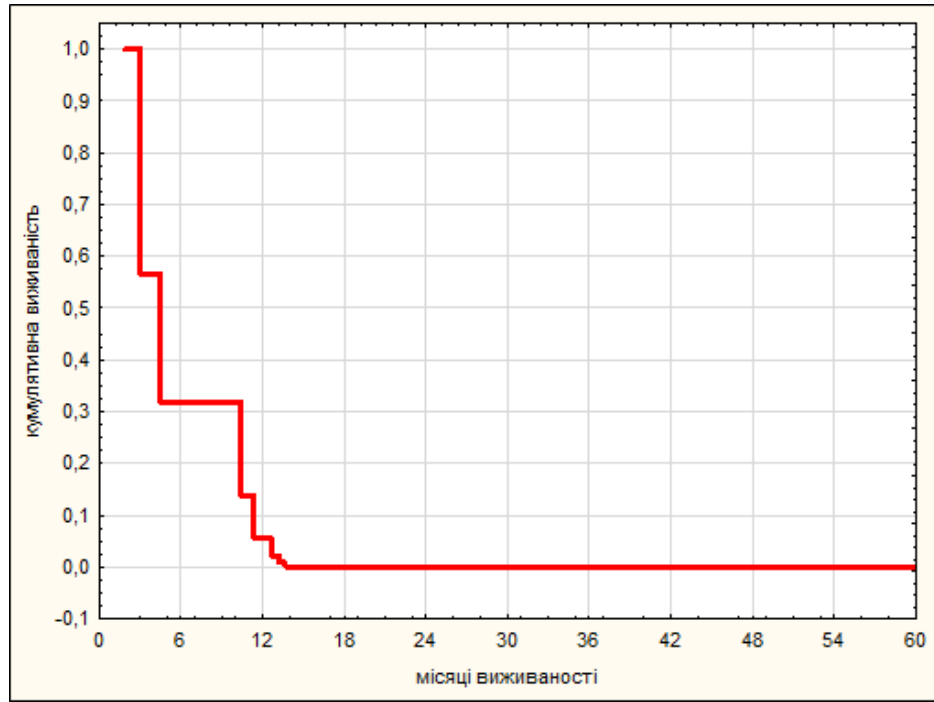


Рис. 6.2 Моделювання виживаності пацієток на пМРГЗ при формуванні несприятливого клініко-морфологічного профілю.

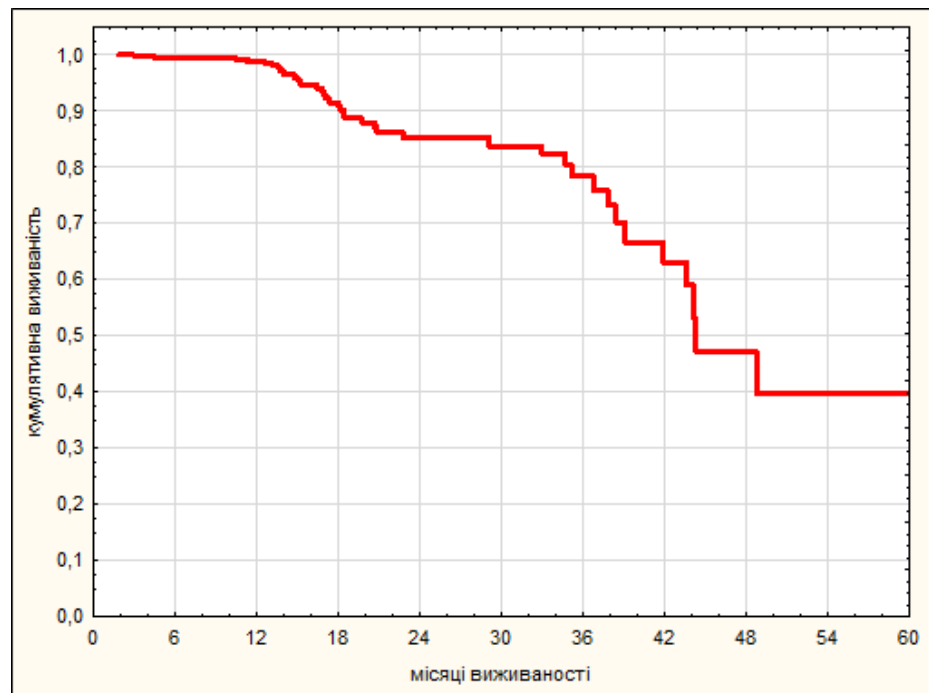


Рис. 6.3 Моделювання виживаності пацієток на пМРГЗ при формуванні сприятливого прогностичного профілю.

6.2 Алгоритм оптимізованого моніторингу пацієток на пМРТЗ з формуванням груп високого ризику

Перехід від статистичного моделювання до створення клінічного алгоритму базується на синтезі отриманих даних. Прогностична модель Кокса окреслила «профіль високого ризику», який визначається не одним показником, а їх комбінацією. Для практичного впровадження результатів дослідження нами було розроблено систему стратифікації ризику — шкалу MAS (Metabolic-Aggressive Score). В основу цієї системи покладено принцип об'єднання клінічного статусу пацієтки, молекулярного профілю пухлини та особливостей її патогістологічної архітекtonіки.

6.2.1 Методологічне обґрунтування моделі та система присвоєння балів

Ключовою особливістю розробленого підходу було включення до аналізу морфологічної ознаки — перитуморальних зон ретракції. Спираючись на результати попередніх етапів роботи, наявність ретракційних просторів є візуальним проявом агресивного ремоделювання ПКМ, що створює сприятливі умови для системної дисемінації злякисного процесу. Враховуючи високу патогенетичну значущість цієї ознаки, до фінального аналізу було включено шість категорій стратифікації, що охоплюють клінічні, морфологічні та молекулярні параметри. На основі математичних обрахунків, кожному показнику присвоюється відповідна кількість балів (від 0 до 1) у разі досягнення ним порогового значення (табл. 6.2). Сумарний бал MAS є об'єктивним відображенням індивідуального метаболічно-асоційованого агресивного потенціалу пухлини у пацієток з наявністю MetC, що може бути використано для індивідуалізованого підбору клінічної тактики.

Таблиця 6.2.

Критерії нарахування балів для інтегральної шкали MAS

Характеристика	Порогове значення	Бали, MAS
Вік пацієнтки	≥ 62 років	1
Перитуморальні зони ретракції	≥ 2 балів	1
Індекс Ki-67	≥ 25%	1
Експресія IGF-1R	≥ 180 H-Score	1
Експресія OPN	≥ 225 H-Score	1
Експресія ON	≥ 130 H-Score	1
Максимальна сума балів		6

6.2.2 Статистичне обґрунтування прогностичної ефективності алгоритму

Для верифікації клінічної значущості розробленої MAS-шкали проведено комплексний аналіз за *U*-критерієм Манна-Уїтні та *t*-критерієм Стьюдента у досліджуваній когорті хворих (табл. 6.3). Встановлено високодостовірну пряму залежність між інтегральним балом MAS та характером пухлинної дисемінації. У пацієток із солітарним метастатичним ураженням середнє значення за шкалою MAS склало 3,0 бала (що відповідає групі низького ризику генералізації процесу), тоді як у хворих із множинними віддаленими метастазами цей показник був достовірно вищим і становив 4,2 бала ($p < 0,001$).

Таблиця 6.3

Порівняльний аналіз інтегральних балів пацієнток на пМРГЗ за характером метастатичного поширення

Інтегральний бал за шкалою MAS	Множинне метастатичне поширення пМРГЗ		Рівень значущості, <i>p</i>
	є	немає	
	4, 2	2,6	<0,001

Таблиця 6.4

Аналіз наявності зв'язку інтегрального MAS-балу з наявністю множинного метастазування пМРГЗ

Інтегральний бал MAS	<i>U</i>	<i>Z</i>	Рівень значущості, <i>p</i>
	179,5	-3,73	0,0002

Оцінка операційних характеристик за допомогою ROC-аналізу підтвердила високу прогностичну цінність розробленої інтегральної шкали (AUC=0,77) щодо ризику системної генералізації пухлинного процесу (рис.6.4). З огляду на клінічну доцільність оптимізації діагностичної чутливості (для запобігання гіподіагностики метаболічно-агресивних форм пМРГЗ), оптимальним пороговим значенням для віднесення пацієнтки до групи високого ризику визначено сумарний показник 4 бали.

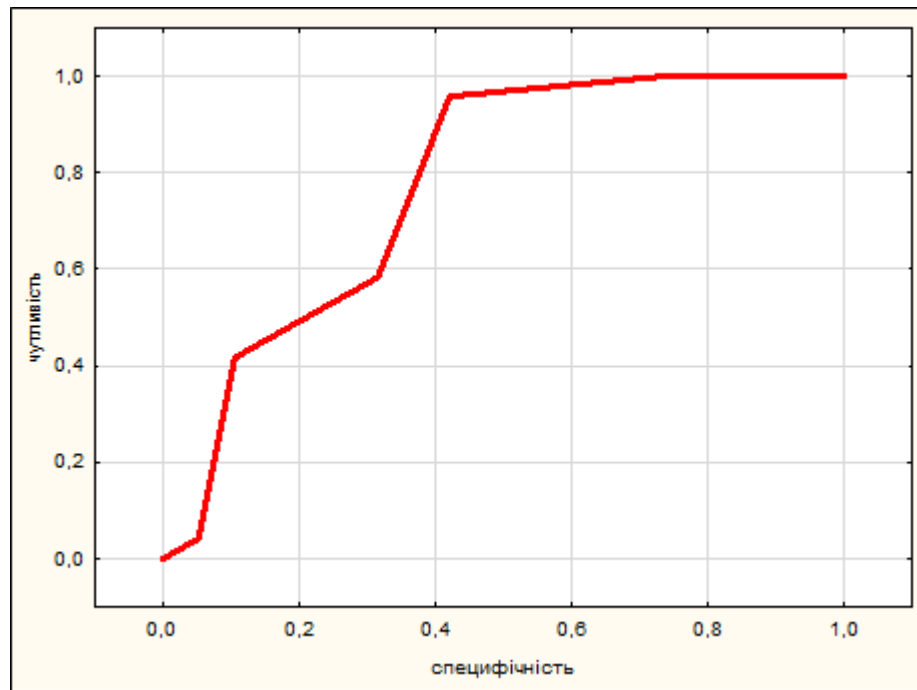


Рис. 6.4 ROC-крива діагностичної ефективності інтегральної шкали MAS у прогнозуванні системної генералізації пМРГЗ.

На основі отриманих даних розроблено алгоритм формування груп високого ризику пМРГЗ, що потребують динамічного спостереження та призначення індивідуалізованої тактики лікування, що зображено на рис. 6.5

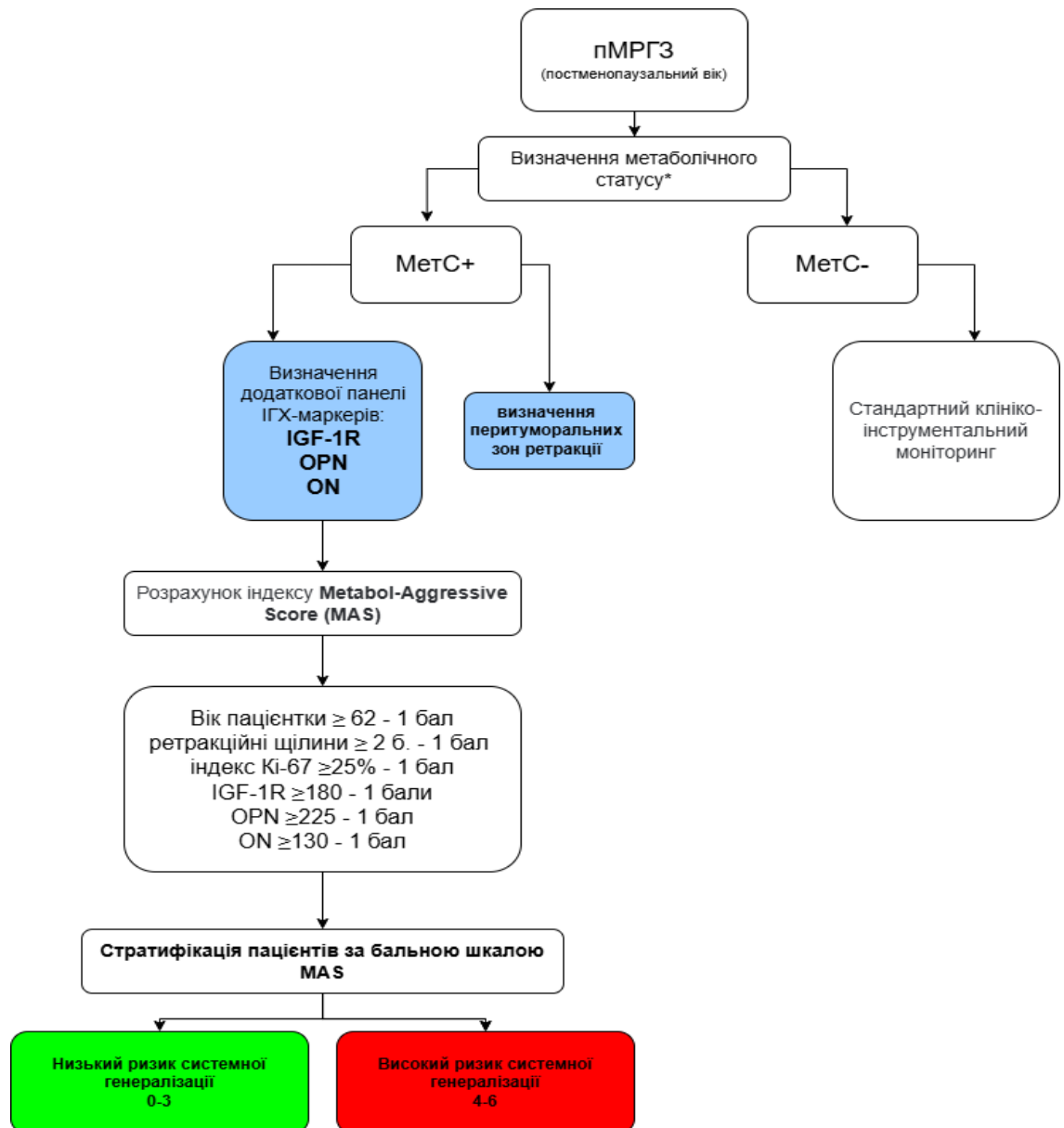


Рис. 6.5 Алгоритм оптимізованого моніторингу пацієток на пМРГЗ на тлі MetC з використанням інтегральної шкали MAS.

Результати досліджень, представлені у розділі 6 опубліковано у [3, 138].

Розділ 7

УЗАГАЛЬНЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Аналіз сучасної літератури у поєднанні з отриманими результатами дослідження свідчить про те, що комплекс патологічних станів, асоційованих із MetC, зокрема абдомінальне ожиріння, порушення вуглеводного обміну та артеріальна гіпертензія, ініціює каскад системних патофізіологічних розладів шляхом глибокої структурно-молекулярної перебудови пухлини та її мікрооточення [19, 60, 148]. Отримані дані дозволяють стверджувати, що суттєвий вплив MetC може реалізуватися через низку системних механізмів, що впливають на особливості метастазування та відображаються у специфічних молекулярних та морфологічних змінах пухлинної тканини пМРГЗ [3, 138].

Перший етап дослідження був спрямований на аналіз клініко-патоморфологічних характеристик пМРГЗ у пацієток в залежності від наявності MetC. Отримані дані показали, що такі параметри, як розмір пухлини, гістологічний тип, ступінь диференціювання та молекулярний підтип, не мали статистичної значущої різниці для двох груп пацієток [5]. Незважаючи на те, що великий перелік робіт зазначає про наявність зв'язку між окремими компонентами MetC (зокрема ожиріння) та агресивним біологічним фенотипом РГЗ, її розмірами або ступенем диференціювання [56, 130, 142]. Слід враховувати, що усі пацієтки даної когорти на момент включення у дослідження мали IV клінічну стадію захворювання, що характеризується наявністю віддалених метастазів. Тож можна припустити, що початкові характеристики первинного вогнища пМРГЗ нівелювались. Підтвердженням цього стала виявлена відмінність за статусом ураження регіонарних лімфатичних вузлів на момент встановлення діагнозу. У пацієток з наявністю MetC спостерігалася достовірно вища частота ураження категорій N1-N2, що вказує на більш активне лімфогенне

поширення. Це узгоджується з даними про те, що компоненти MetC, зокрема гіперінсулінемія та прозапальні цитокіни, можуть стимулювати лімфангіогенез та інвазивний потенціал пухлинних клітин [25, 38, 84, 146, 162, 164, 201]. Тоді як, пацієнтки без ознак MetC характеризувались наявністю поляризованого розподілу: вищий відсоток пацієнток категорії N0, що свідчить про відсутність лімфогенного поширення клітин, та N3 – залучення 9 і більше лімфатичних вузлів.

Наступним етапом проведення дослідження в рамках виконання дисертаційної роботи було визначення впливу MetC на агресивність перебігу пМРГЗ шляхом аналізу характеру віддаленого метастазування [5]. Продемонстровано, що наявність MetC суттєво змінює метастатичну топологію пухлинного процесу. У пацієнток групи MetC+ значно рідше зустрічалося ізольоване метастатичне ураження кісток, що прогностично характеризується більш сприятливим варіантом, натомість достовірно частіше спостерігався кістково-вісцеральний варіант та множинний характер ураження. За даними багатофакторного аналізу, доведено, що MetC виступив потужним незалежним предиктором множинного метастазування, збільшуючи ризик його розвитку у 3,6 рази. Отримані результати підтверджують те, що системний метаболічний дисбаланс створює сприятливі умови для метастатичної дисемінації, дозволяючи пухлинним клітинам виживати та колонізувати віддалені органи-мішені з різними типами ПКМ [117, 185, 187]. Патофізіологічним підґрунтям такої агресивної дисемінації є гіперпродукція прозапальних цитокінів (IL-6, TNF- α , IL-1 β) та лептину на тлі системної гіперінсулінемії [70, 174]. Зазначені медіатори ініціюють каскадну активацію сигнальних шляхів PI3K/Akt та JAK/STAT3, що стимулюють ЕМП та секрецію ММП [110, 174]. Такий MetC-модифікований вплив забезпечує трансформованим клітинам виживання у системному кровотоці та сприяє їх проліферації у різних органах-мішенях.

Наступним етапом стало проведення морфологічної оцінки біопсійного матеріалу обраних хворих на пМРГЗ. Попередньо встановлений зв'язок між

MetC та агресивними характеристиками віддаленого метастазування обґрунтовує пошук специфічних морфологічних змін, які могли б слугувати гістологічними індикаторами. Мікроскопія досліджуваного матеріалу дозволила визначити наявність специфічних змін стромального компоненту пМРГЗ: гіалінової дегенерації та перитуморальних зон ретракції [3]. Центральну роль у процесах ремоделювання екстрацелюлярного матриксу відіграє хронічний запальний процес [69, 196]. Гіперактивовані фібробласти під впливом прозапальних цитокінів та факторів росту (зокрема TGF- β), починають надлишково синтезувати компоненти ПКМ, що призводить до фіброзу (десмоплазії) строми [37, 198]. Разом з тим, гіперглікемія сприяє процесу неферментативного глікозилювання білків та утворення кінцевих його продуктів [92, 173]. Тож, ГС являє собою не лише ущільнений колаген, а конгломерат з глікозилюваних колагенових волокон, компонентів базальної мембрани (ламінін, колаген IV типу, протеоглікани та гіалуронова кислота), а також додатково білків плазми, що накопичуються внаслідок підвищеної проникності судин [23, 91, 129, 158]. За результатами кореляційного аналізу встановлено сильний та статистично достовірний позитивний кореляційний зв'язок між ступенем вираженості гіалінозу та наявністю MetC ($p=0,002$).

Клінічна інтерпретація ПЗР за останні десятиліття зазнала суттєвих змін. Історично утворення таких просторів навколо пухлинних клітин розглядалося переважно як технічний артефакт [12]. Однак, накопичені дані, які знайшли своє підтвердження і у даній дисертаційній роботі, свідчать про те, що виникнення зон ретракції є результатом специфічних біологічних взаємодій між трансформованими клітинами та елементами пухлинного мікрооточення [10-13, 57, 64, 85, 83, 101, 102, 107, 128, 167, 178]. Формування такого феномену відображає глибоке порушення клітинно-матричної адгезії, що зумовлено кількома механізмами та посилюються метаболічними порушеннями. Втрата клітинами E-кадгерину, підвищена продукція ММП та скоротливість міофібробластів, призводять до утворення ПЗР [54, 124].

Аналіз отриманих результатів дозволяє стверджувати, що наявність та вираженість ПЗР достовірно корелює з MetC ($p=0,014$) та множинним метастазуванням ($p=0,015$). Таким чином, незважаючи на те, що обидві досліджувані ознаки продемонстрували статистично значущий зв'язок з MetC, саме ПЗР набувають особливого значення, виступаючи морфологічним індикатором високого інвазивного та дисемінаційного потенціалу пМРГЗ.

Для більш глибокого розуміння виявлених морфологічних змін ПКМ, асоційованих з MetC, наступним етапом дослідження став аналіз експресії молекулярної тріади: IGF-1R, OPN та ON, які відомі своєю роллю у регуляції клітинно-матриксних взаємодій та пухлинної прогресії.

Одним з центральних ефекторів впливу MetC на пухлину виступає рецептор інсуліноподібного фактору росту 1 (IGF-1R) [52, 134]. Виявлене достовірне зростання його трансляційної активності у пацієток групи MetC+ ($p = 0,006$) та повна відсутність випадків зі слабким забарвленням вказують на формування потужного адаптивного механізму. В умовах системної гіперінсулінемії та інсулінорезистентності, притаманних MetC, трансформована клітина посилює експресію IGF-1R для підсилення сигналів пов'язаних з мітозом [66, 110]. Патологічне накопичення рецепторів на поверхні узгоджується з даними літератури про здатність неопластичних клітин уникати механізмів негативного зворотного зв'язку (*down-regulation*) та стабілізувати рецепторний апарат на мембрані для підтримки виживання та проліферації [33, 134]. Важливим науковим спостереженням стало визначення відносної автономності IGF-1R від класичних параметрів первинного вогнища пМРГЗ. Відсутність значущого зв'язку між рівнем експресії та величиною новоутворення, ступенем його диференціювання чи рецепторним статусом (наявність ER/PR-рецепторів) свідчить про те, що активація інсулінової осі стає незалежним драйвером прогресії метастатичних форм захворювання. Зокрема, рівень IGF-1R дозволив чітко простежити специфіку генералізації процесу залежно від метастатичної топології. Найнижчий рівень експресії було зафіксовано при ізольованому

ураженні кісток скелету ($106,7 \pm 54,4$ балів H-Score), що традиційно вважається прогностично кращим варіантом. Натомість комбінований варіант метастазування (одночасне ураження вісцеральних органів та кісток) супроводжувався зростанням показника майже вдвічі — до $190,4 \pm 52,9$ балів H-Score, $p < 0,001$. Окрім того, рівень експресії IGF-1R виявився найбільш чутливим індикатором масштабу дисемінації: його показники прямо корелювали з переходом від солітарного до множинного метастазування ($p < 0,001$) та вісцеральною генералізацією ($p = 0,012$). Таким чином, гіперактивація IGF-1R детермінує втрату пухлиною здатності до обмеженого росту, що пояснює виявлені попередньо особливості множинного метастазування у хворих з MetC.

Патогенетичне обґрунтування виявленої диференційованої експресії IGF-1R залежно від характеру метастазування базується на механізмах метаболічної адаптації пухлинних клітин.

Згідно з даними літератури, метастатичне поширення пухлинних клітин у віддалені органи супроводжується великою кількістю рецепторів IGF-1R, оскільки вони беруть участь у формуванні стійкості неопластичних клітин до виживання в системному кровотоці [214].

Натомість, відносно низький рівень IGF-1R за умови ізольованого ураження кісток може бути пояснений специфікою кісткової тканини. Кістковий матрикс — це найбільше депо факторів росту, активне вивільнення яких у процесі остеолізу створює умови для активації сигнальних шляхів PI3K/Akt та MAPK/ERK навіть за наявності помірної щільності рецепторного апарату [110, 174].

Поряд із перебудовою інсулін-залежного рецепторного профілю, системний метаболічний дисбаланс модулює стан пухлинного мікрооточення через зміну експресії МЦБ (OPN та ON), які виступають безпосередніми інструментами ремоделювання ПКМ та підготовки метастатичних ніш [9, 150, 196].

Як зазначалось раніше, МЦБ виконують роль регуляторів, що координують взаємодію між пухлинною клітиною та її стромальним оточенням. З огляду на функціональні особливості МЦБ за умов розвитку метаболічного дисбалансу, OPN та ON виконують роль медіаторів, які трансформують системні метаболічні сигнали у ремоделювання ПКМ.

З літературних джерел відомо, що OPN у взаємодії з рецепторами інтегринів ($\alpha v \beta 3$) та CD44 запускає внутрішньоклітинні каскади PI3K/Akt та MAPK/ERK, які стимулюють ЕМП та пригнічують апоптоз клітин [24, 96]. Крім того, через активацію транскрипційного фактора NF- κ B, OPN підтримує прозапальний фон у пухлинному мікрооточенні, стимулюючи секрецію ММП, що безпосередньо полегшує інвазію та вихід пухлинних клітин у судинне русло [46, 81, 184]. Такі дані узгоджуються з отриманими результатами дослідження [138]. Доведено наявність прямого кореляційного зв'язку між рівнем експресії OPN та наявністю MetC (коефіцієнт- γ = 0,351, $Z=1,872$, $p = 0,05$) та обернений зв'язок із рецепторами стероїдних гормонів (коефіцієнт- γ = -0,522, $Z=-2,06$, $p = 0,039$), що додатково підкреслює роль цього білка у підтримці більш агресивного гормон-негативного профілю пМРГЗ. Підтверджено залежність між показниками експресії OPN та статусу ураження лімфатичних вузлів: найвищі рівні визначались у пацієток з категорію ураження N2 ($242,9 \pm 64,1$ балів H-Score, $p = 0,033$).

Функціональне значення ON полягає у модуляції біомеханічних властивостей ПКМ та регуляції біодоступності факторів росту. Кислий секретований білок, збагачений цистеїном здатний взаємодіяти з сигнальним шляхом TGF- β та модулювати активність фокальної адгезійної кінази, що визначає міграційну здатність неопластичних клітин та їхню тропність до певних органів-мішеней [113]. Якщо зазвичай на ранніх стадіях він сприяє структурній цілісності матриксу, то при системній метастатичній генералізації зміна його експресії стає одним з доведених факторів

ремоделювання мікрооточення, що полегшує метастатичну колонізацію віддалених органів [21, 169].

Результати проведеного дослідження узгоджуються із описаною в літературі біологічною роллю ON, що продемонструвало асоціацію із метастатичним органотропізмом пМРГЗ. Суттєве зниження експресії ON при метастатичному ураженні кісток ($p = 0,002$), може виступати адаптивним механізмом, необхідним для успішної колонізації кісткової тканини. Оскільки в нормальній кістковій тканині ON бере участь у процесах мінералізації та стримуванні надмірної активності остеокластів [177], дефіцит його рецепторів у метастатичних клітинах ініціює посилення остеокласт-опосередкованої резорбції кісткової тканини, що створює сприятливе мікрооточення для подальшого виживання клітин пМРГЗ [169, 197, 202].

Завершальним етапом аналізу стала оцінка сукупного внеску виявлених молекулярних та соматичних порушень у формування прогнозу виживаності пацієнток на пМРГЗ. Побудована багатофакторна регресійна модель Кокса дозволила ідентифікувати незалежні предиктори виживаності, що визначають швидкість прогресування захворювання. Згідно з результатами моделювання, найбільш критичний вплив на тривалість життя мають проліферативний потенціал пухлини та соматичний ресурс організму. Рівень Ki-67 продемонстрував найвищу статистичну значущість ($p < 0,001$): встановлено, що кожне зростання індексу проліферації на 1% асоціюється з підвищенням миттєвого ризику смерті на 4,1% (BP=1,041). Вік пацієнток у постменопаузальному періоді виявився другим за вагою чинником ($p = 0,004$). Особливу наукову цінність має підтвердження незалежної прогностичної ролі ON ($p = 0,028$), що свідчить про значення патологічного ремоделювання ПКМ як самостійного драйверу летальності, незалежно від темпів поділу клітин чи віку хворої. Включення IGF-1R до прогностичних моделей попри наявність лише тенденції до статистичної значущості ($p = 0,084$) пояснюється доведеним на попередніх етапах дослідження зв'язком із системною генералізацією пухлинного процесу. OPN не виявив самостійного впливу на виживаність,

однак його роль у регіонарній інвазії, дозволила включити його у прогностичну модель на рівні з іншими маркерами.

Грунтуючись на отриманих статистичних та імуноморфологічних даних, нами було розроблено цілісний клініко-лабораторний алгоритм (Metabol-Aggressive Score – MAS-шкала), що базується на інтегральній оцінці найбільш вагомих параметрів дозволяє здійснювати об'єктивну стратифікацію пацієток за групами ризику вже на етапі первинної діагностики метастатичного процесу. Впровадження даного алгоритму в практику забезпечує можливість переходу від стандартного підходу до персоналізованого клініко-інструментального моніторингу, що є критично важливим для оптимізації допомоги пацієнткам із метаболічно-асоційованим пМРГЗ.

ВИСНОВКИ

Удосконалення методів прогнозування перебігу метастатичних форм РГЗ на основі комплексного оцінювання молекулярно-біологічного профілю пухлини та соматичного статусу пацієнтки є одним з ключових напрямків розвитку персоналізованої медицини. На сьогодні встановлено, що MetC здатен модифікувати біологічну поведінку пМРГЗ, проте перелік наявних діагностично-прогностичних маркерів не враховували повноцінно роль системних чинників. Дослідження останніх років спрямовані на виявлення нових молекулярних індикаторів агресивності, впровадження яких дозволить підвищити точність прогнозу перебігу пухлинного процесу, забезпечить індивідуалізований клініко-інструментальний моніторинг та в подальшому вплине на ефективність лікування пацієток з розповсюдженими формами пМРГЗ.

1. За результатами аналізу клініко-анамнестичних показників встановлено, що частота метаболічного синдрому у хворих на пМРГЗ становить 48,4%. У 60% хворих на пМРГЗ з метаболічним синдромом діагностовано комбінований (кістково-вісцеральний) патерн метастатичного ураження віддалених органів, порівняно з пацієтками без ознак метаболічних порушень ($p=0,013$). Доведено, що наявність метаболічного синдрому у хворих на пМРГЗ є незалежним предиктором множинного метастазування (ВШ=3.59; 95% ДІ 1.34–9.61; $p=0.011$).

2. Визначено, що характерною ознакою тканини пМРГЗ за наявності метаболічного синдрому є висока частота гіалінової дегенерації стромальної компоненти ($p=0,002$) та формування перитуморальних зон ретракції ($p=0,014$). Виявлено достовірний зв'язок між наявністю множинного метастазування та утворенням зон ретракції у тканині пМРГЗ (коефіцієнт- $\gamma =0,378$, $Z=2,434$, $p=0,015$).

3. Встановлено асоціацію експресії IGF-1R у тканині пМРГЗ з наявністю у хворих метаболічного синдрому ($p=0,006$). Експресія IGF-1R у тканині пМРГЗ за наявності множинних метастатичних вогнищ достовірно вища, порівняно із такою у пацієнток із солітарним ураженням віддалених органів ($216,4\pm 36,1$ балів H-Score проти $135,9\pm 55,2$ балів H-Score, $p_1 < 0,001$ відповідно). З'ясовано особливості топології віддаленого метастазування в залежності від експресії IGF-1R: найнижчі показники спостерігали за умови ізольованого ураження кісткової системи ($106,7\pm 54,4$ балів H-Score), тоді як кістково-вісцеральний варіант ураження асоціювався зі зростанням експресії IGF-1R майже вдвічі ($193,8\pm 58,5$ балів H-Score, $p_1 = 0,012$).

4. Встановлено зв'язок між показниками експресії МЦБ у тканині пМРГЗ та метаболічним профілем пацієнток (OPN – коефіцієнт- $\gamma = 0,351$, $Z=1,872$, $p=0,05$; ON – коефіцієнт- $\gamma = -0,272$, $Z=-1,660$, $p=0,097$). Виявлено статистично значуще зростання експресії OPN зі збільшенням ступеня ураження регіонарних лімфатичних вузлів ($p=0,033$) та зв'язок із відсутністю експресії ER та PR (коефіцієнт- $\gamma = -0,522$, $Z=-2,06$, $p=0,039$). Достовірно меншу експресію ON зафіксовано у тканині пМРГЗ хворих із ураженням кісткової системи ($116,8\pm 77,2$ балів H-Score), порівняно з пацієнтками з наявністю метастазів у вісцеральних органах ($212,8\pm 59,3$ балів H-Score, $p_3=0,002$).

5. Встановлено, що 3-річна виживаність хворих на пМРГЗ є достовірно меншою на 9,8% за наявності високої експресії IGF-1R (> 180 балів H-Score), OPN (>200 балів H-Score) та низької експресії ON (<150 балів H-Score) у пухлинній тканині.

6. Розроблено алгоритм оцінки перебігу пМРГЗ у пацієнток із метаболічним синдромом, який може бути використаний для оптимізації тактики лікування.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для забезпечення детальної характеристики агресивності пухлинного процесу у пацієток на пМРГЗ рекомендовано доповнювати стандартний діагностичний протокол аналізом гістоархітекtonіки пухлинної тканини (виявлення перитуморальних ретракційних щілин та гіалінозу строми) та визначенням рівнів експресії рецептора інсуліноподібного фактора росту 1 (IGF-1R) та матрицелюлярних білків — OPN та ON.

2. З метою стратифікації пацієток за групами ризику доцільно використовувати розроблений інтегративний алгоритм (MAS-шкалу), що базується на сукупній оцінці соматичного статусу, морфологічних та молекулярних параметрів пухлини у пацієток з наявними ознаками метаболічного синдрому, що дозволить персоналізувати тактику клініко-інструментального моніторингу перебігу пМРГЗ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Іванкова ВС, Барановська ЛМ, Столярова ОЮ, Іванкова ОМ, Хруленко ТВ. Лікування хворих на рецидивні та метастатичні форми раку грудної залози. Клінічна онкологія. 2023;13(3):1-3. doi: 10.32471/clinicaloncology.2663-466X.51-3.31112
2. Калмикова ЮС. Поширеність ожиріння та метаболічного синдрому у осіб молодого віку: сучасний стан проблеми. Rehabilitation and Recreation. 2023;14:49–55. <https://doi.org/10.32782/2522-1795.2023.14.5>.
3. Неборець АД. Біоінформатичний аналіз особливостей експресії генів інсулінового сигнального шляху у пацієток з раком молочної залози. Онкологія. 2025;27(4):217–222. <https://doi.org/10.15407/oncology.2025.04.217>
4. Неборець АД, Налескіна ЛА. Цитоархітектоніка різних за молекулярним підтипом пухлин хворих на рак молочної залози, обтяжених метаболічним синдромом. Онкологія. 2024;26(3):172-179. <https://doi.org/10.15407/oncology.2024.03.172>.
5. Неборець АД, Чехун ВФ. Клініко-патологічні особливості метастатичного раку грудної залози в пацієток із метаболічним синдромом. Український журнал Здоров'я жінки. 2024;6(175):9-15. doi: 10.15574/HW.2024.6(175).915
6. Русин АВ, Одошевська ОМ, Барчі МІ. Частота метастазування гормонозалежного раку грудної залози. Науковий вісник Ужгородського університету, Серія «Медицина». 2019;1(59):39-44. Доступно з: <https://med-visnyk.uzhnu.uz.ua/index.php/med/article/view/62/185>
7. Солодянникова ОІ, Банковська НВ, Шипко АФ, Даниленко ВВ, Сукач ГГ. Метастатичне ураження кісток: молекулярні механізми як нові шляхи терапевтичного впливу. Огляд літератури. Клінічна онкологія. 2023;13(1). doi: 10.32471/clinicaloncology.2663-466X.49-1.30175

8. Федоренко ЗП, Сумкіна ОВ, Горох ЄЛ та ін. ; Національний Інститут раку. Рак в Україні, 2023–2024 Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. Бюлетень Національного канцер-реєстру України № 26. Київ: НКРУ; 2025; [цитовано: 2026 Березень 21] 132 с. Доступно з: http://www.ncru.inf.ua/publications/BULL_26/index.htm

9. Чехун ВФ, Лук'янова НЮ, Тодор ІМ, Налєскіна ЛА та ін. (уклад); Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України. Матрицелюлярні протеїни як маркери агресивності перебігу раку молочної залози (методичні рекомендації). Київ; 2023; 17 с. Доступно з: <https://www.iepor.site/wp-content/uploads/2024/04/3.pdf>

10. Acs G, Esposito NN, Rakosy Z, Laronga C, Zhang PJ. Invasive ductal carcinomas of the breast showing partial reversed cell polarity are associated with lymphatic tumor spread and may represent part of a spectrum of invasive micropapillary carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2010 Nov;34(11):1637-46. doi: 10.1097/PAS.0b013e3181f5539c.

11. Acs G, Khakpour N, Kiluk J, Lee MC, Laronga C. The presence of extensive retraction clefts in invasive breast carcinomas correlates with lymphatic invasion and nodal metastasis and predicts poor outcome: a prospective validation study of 2742 consecutive cases. *Am J Surg Pathol.* 2015 Mar;39(3):325-37. doi: 10.1097/PAS.0000000000000339.

12. Acs G, Paragh G, Chuang ST, Laronga C, Zhang PJ. The presence of micropapillary features and retraction artifact in core needle biopsy material predicts lymph node metastasis in breast carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2009 Feb;33(2):202-10. doi: 10.1097/PAS.0b013e318185e171.

13. Acs G, Paragh G, Rakosy Z, Laronga C, Zhang PJ. The extent of retraction clefts correlates with lymphatic vessel density and VEGF-C expression and predicts nodal metastasis and poor prognosis in early-stage breast carcinoma. *Mod Pathol.* 2012 Feb;25(2):163-77. doi: 10.1038/modpathol.2011.138.

14. Afsar B, Afsar RE, Ertuglu LA, Kuwabara M, Ortiz A, Covic A, Kanbay M. Renin-angiotensin system and cancer: epidemiology, cell signaling, genetics

and epigenetics. *Clin Transl Oncol*. 2021 Apr;23(4):682-696. doi: 10.1007/s12094-020-02488-3. Epub 2020 Sep 15. PMID: 32930920.

15. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009 Oct 20;120(16):1640-5. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644.

16. Alberty G, Zimmet P, Shaw J, et al. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. Brussels (Belgium): International Diabetes Federation 2006. 24 p. Available at: <https://international-diabetes-federation.s3.eu-west-1.amazonaws.com/media/uploads/2023/05/attachments-30.pdf>

17. Albi E, Mandarano M, Cataldi S, Ceccarini MR, Fiorani F, Beccari T, Sidoni A, Codini M. The Effect of Cholesterol in MCF7 Human Breast Cancer Cells. *Int J Mol Sci*. 2023 Mar 21;24(6):5935. doi: 10.3390/ijms24065935.

18. Albregues J, Shields MA, Ng D, Park CG, Ambrico A, Poindexter ME, Upadhyay P, Uyeminami DL, Pommier A, Küttner V, Bružas E, Maiorino L, Bautista C, Carmona EM, Gimotty PA, Fearon DT, Chang K, Lyons SK, Pinkerton KE, Trotman LC, Goldberg MS, Yeh JT, Egeblad M. Neutrophil extracellular traps produced during inflammation awaken dormant cancer cells in mice. *Science*. 2018 Sep 28;361(6409):eaao4227. doi: 10.1126/science.aao4227.

19. Annett S, Moore G, Robson T. Obesity and Cancer Metastasis: Molecular and Translational Perspectives. *Cancers (Basel)*. 2020 Dec 16;12(12):3798. doi: 10.3390/cancers12123798.

20. Arnold M, Morgan E, Rungay H, Mafra A, Singh D, Laversanne M, Vignat J, Gralow JR, Cardoso F, Siesling S, Soerjomataram I. Current and future burden of breast cancer: Global statistics for 2020 and 2040. *Breast*. 2022 Dec;66:15-23. doi: 10.1016/j.breast.2022.08.010.

21. Arnold SA, Brekken RA. SPARC: a matricellular regulator of tumorigenesis. *J Cell Commun Signal.* 2009 Dec;3(3-4):255-73. doi: 10.1007/s12079-009-0072-4.
22. Atorrasagasti C, Onorato AM, Mazzolini G. The role of SPARC (secreted protein acidic and rich in cysteine) in the pathogenesis of obesity, type 2 diabetes, and non-alcoholic fatty liver disease. *J Physiol Biochem.* 2023 Nov;79(4):815-831. doi: 10.1007/s13105-022-00913-5. Epub 2022 Aug 26. PMID: 36018492.
23. Augustine D, Rao RS, Patil S. Hyalinization as a histomorphological risk predictor in oral pathological lesions. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2021 Jul-Sep;11(3):415-422. doi: 10.1016/j.jobcr.2021.05.002.
24. Bai RJ, Liu D, Li YS, Tian J, Yu DJ, Li HZ, Zhang FJ. OPN inhibits autophagy through CD44, integrin and the MAPK pathway in osteoarthritic chondrocytes. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022 Aug 12;13:919366. doi: 10.3389/fendo.2022.919366.
25. Bakinowska E, Krompiewski M, Boboryko D, Kielbowski K, Pawlik A. The Role of Inflammatory Mediators in the Pathogenesis of Obesity. *Nutrients.* 2024 Aug 23;16(17):2822. doi: 10.3390/nu16172822.
26. Bamberg EE, Maslanka M, Vinod-Paul K, Sams S, Pollack E, Conklin M, Kabos P, Hansen KC. Obesity-driven changes in breast tissue exhibit a pro-angiogenic extracellular matrix signature. *Matrix Biol Plus.* 2024 Sep 22;24:100162. doi: 10.1016/j.mbplus.2024.100162. Erratum in: *Matrix Biol Plus.* 2025 Jun 17;28:100178. doi: 10.1016/j.mbplus.2025.100178.
27. Bandaru VVR, Haughey NJ. Quantitative detection of free 24S-hydroxycholesterol, and 27-hydroxycholesterol from human serum. *BMC Neurosci.* 2014;15:137. <https://doi.org/10.1186/s12868-014-0137-z>
28. Baruah A, Bhuyan G, Saikia P. Histopathological categorization of desmoplastic reaction in gallbladder carcinoma: its relation to cancer invasiveness and prognostic utility. *Egypt Liver J.* 2023;13:19 <https://doi.org/10.1186/s43066-023-00253-z>

29. Belachew EB, Desta AF, Deneke DB, Gebremariam TY, Tefera DA, Atire FA, Alemayehu DH, Seyoum T, Bauer M, Girma S, Sewasew DT, Kantelhardt EJ, Tessema TS, Howe R. The expression of matrix metalloproteinase 2, 9 and 11 in Ethiopian breast cancer patients. *BMC Res Notes*. 2023 Oct 5;16(1):253. doi: 10.1186/s13104-023-06518-5.

30. Benitez Fuentes JD, Morgan E, de Luna Aguilar A, Mafra A, Shah R, Giusti F, Vignat J, Znaor A, Musetti C, et al. Global Stage Distribution of Breast Cancer at Diagnosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JAMA Oncol*. 2024 Jan 1;10(1):71-78. doi: 10.1001/jamaoncol.2023.4837.

31. Bergers G, Fendt SM. The metabolism of cancer cells during metastasis. *Nat Rev Cancer*. 2021 Mar;21(3):162-180. doi: 10.1038/s41568-020-00320-2.

32. Bhardwaj P, Au CC, Benito-Martin A, Ladumor H, Oshchepkova S, Moges R, Brown KA. Estrogens and breast cancer: Mechanisms involved in obesity-related development, growth and progression. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2019 May;189:161-170. doi: 10.1016/j.jsbmb.2019.03.002.

33. Biello F, Platini F, D'Avanzo F, Cattrini C, Mennitto A, Genestroni S, Martini V, Marzullo P, Aimaretti G, Gennari A. Insulin/IGF Axis in Breast Cancer: Clinical Evidence and Translational Insights. *Biomolecules*. 2021 Jan 19;11(1):125. doi: 10.3390/biom11010125.

34. Black MM, Barclay TH, Hankey BF. Prognosis in breast cancer utilizing histologic characteristics of the primary tumor. *Cancer*. 1975 Dec;36(6):2048-55. doi: 10.1002/cncr.2820360919.

35. Blasco MT, Espuny I, Gomis RR. Ecology and evolution of dormant metastasis. *Trends Cancer*. 2022 Jul;8(7):570-582. doi: 10.1016/j.trecan.2022.03.002.

36. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, Jemal A. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2024 May-Jun;74(3):229-263. doi: 10.3322/caac.21834.

37. Bremnes RM, Dønnem T, Al-Saad S, Al-Shibli K, Andersen S, Sirera R, Camps C, Marinez I, Busund LT. The role of tumor stroma in cancer progression and prognosis: emphasis on carcinoma-associated fibroblasts and non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2011 Jan;6(1):209-17. doi: 10.1097/JTO.0b013e3181f8a1bd.

38. Brown KA. Metabolic pathways in obesity-related breast cancer. *Nat Rev Endocrinol.* 2021 Jun;17(6):350-363. doi: 10.1038/s41574-021-00487-0.

39. Cao H, Huang Y, Wang L, Wang H, Pang X, Li K, Dang W, Tang H, Wei L, Su M, Tang C, Chen T. Leptin promotes migration and invasion of breast cancer cells by stimulating IL-8 production in M2 macrophages. *Oncotarget.* 2016 Oct 4;7(40):65441-65453. doi: 10.18632/oncotarget.11761.

40. Cao Y, Chen H, Sahgal A, Erler D, Badellino S, Biswas T, Dagan R, Foote MC, Louie AV, Poon I, Ricardi U, Redmond KJ. Volumetric burden of metastatic lesions drives outcomes in patients with extracranial oligometastatic disease. *Cancer Med.* 2021 Nov;10(22):8091-8099. doi: 10.1002/cam4.4332.

41. CDC's National Program of Cancer Registries. 2025 [cited 2026 Feb 6]. Available at: | www.cdc.gov/national-program-cancer-registries/

42. Chekhun V, Pavlova A, Zadvornyi T, Borikun T, Naleskina L, Mushii O, Bazas V, Lukianova N. Expression of SPP1 and SPARC genes in tumor tissue of patients with breast cancer. *Exp Oncol.* 2024 May 31;46(1):13-21. doi: 10.15407/exp-oncology.2024.01.013.

43. Chin KY, Wong SK, Ekeuku SO, Pang KL. Relationship Between Metabolic Syndrome and Bone Health - An Evaluation of Epidemiological Studies and Mechanisms Involved. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2020 Oct 13;13:3667-3690. doi: 10.2147/DMSO.S275560.

44. Chorna V, Khlietova, S, Hrynzovskyi A, Kalashchenko S, Kotsur O, Rybinskyi M. The impact of full-scale war on disease dynamics and public health in Ukraine. *Trauma.* 2025;26(5):322–333. <https://doi.org/10.22141/1608-1706.5.26.2025.1045>

45. Christakis MK, Hasan H, De Souza LR, Shirreff L. The effect of menopause on metabolic syndrome: cross-sectional results from the Canadian Longitudinal Study on Aging. *Menopause*. 2020 Sep;27(9):999-1009. doi: 10.1097/GME.0000000000001575.

46. Cicekli I, Saglam D, Takar N. A New Perspective on Metabolic Syndrome with Osteopontin: A Comprehensive Review. *Life (Basel)*. 2023 Jul 22;13(7):1608. doi: 10.3390/life13071608.

47. Coles CE, Earl H, Anderson BO, Barrios CH, Bienz M, Bliss JM, Cameron DA, Cardoso F, Cui W, et al. ; Lancet Breast Cancer Commission. The Lancet Breast Cancer Commission. *Lancet*. 2024 May 11;403(10439):1895-1950. doi: 10.1016/S0140-6736(24)00747-5.

48. Cronin KA, Scott S, Firth AU, Sung H, Henley SJ, Sherman RL, Siegel RL, Anderson RN, Kohler BA, Benard VB, Negoita S, Wiggins C, Cance WG, Jemal A. Annual report to the nation on the status of cancer, part 1: National cancer statistics. *Cancer*. 2022 Dec 15;128(24):4251-4284. doi: 10.1002/cncr.34479.

49. Cummings MC, Simpson PT, Reid LE, Jayanthan J, Skerman J, Song S, McCart Reed AE, Kutasovic JR, Morey AL, Marquart L, O'Rourke P, Lakhani SR. Metastatic progression of breast cancer: insights from 50 years of autopsies. *J Pathol*. 2014 Jan;232(1):23-31. doi: 10.1002/path.4288.

50. Dawood S, Broglio K, Ensor J, Hortobagyi GN, Giordano SH. Survival differences among women with de novo stage IV and relapsed breast cancer. *Ann Oncol*. 2010 Nov;21(11):2169-2174. doi: 10.1093/annonc/mdq220.

51. de Miranda FS, Guimarães JPT, Menikdiwela KR, Mabry B, Dhakal R, Rahman RL, Moussa H, Moustaid-Moussa N. Breast cancer and the renin-angiotensin system (RAS): Therapeutic approaches and related metabolic diseases. *Mol Cell Endocrinol*. 2021 May 15;528:111245. doi: 10.1016/j.mce.2021.111245.

52. De Santi M, Annibalini G, Marano G, Biganzoli G, Venturelli E, Pellegrini M, Lucertini F, Brandi G, Biganzoli E, Barbieri E, Villarini A. Association between metabolic syndrome, insulin resistance, and IGF-1 in breast

cancer survivors of DIANA-5 study. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2023 Sep;149(11):8639-8648. doi: 10.1007/s00432-023-04755-6.

53. DeClerck YA. Desmoplasia: a response or a niche? *Cancer Discov*. 2012 Sep;2(9):772-4. doi: 10.1158/2159-8290.CD-12-0348.

54. Deng HY, Wang XR, Yue M, Zhang LL, Li F, Wang XL, Liu YP. [Extensive peritumoral retraction clefts and prognosis in invasive breast carcinomas of no specific type]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*. 2018 Mar 8;47(3):196-200. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2018.03.010.

55. Di Gregorio J, Petricca S, Iorio R, Toniato E, Flati V. Mitochondrial and metabolic alterations in cancer cells. *Eur J Cell Biol*. 2022 Jun-Aug;101(3):151225. doi: 10.1016/j.ejcb.2022.151225.

56. Dong S, Wang Z, Shen K, Chen X. Metabolic Syndrome and Breast Cancer: Prevalence, Treatment Response, and Prognosis. *Front Oncol*. 2021 Mar 25;11:629666. doi: 10.3389/fonc.2021.629666.

57. Džombeta T, Krušlin B. High Grade T1 Papillary Urothelial Bladder Cancer Shows Prominent Peritumoral Retraction Clefting. *Pathol Oncol Res*. 2018 Jul;24(3):567-574. doi: 10.1007/s12253-017-0279-2.

58. Ellis IO, Galea M, Broughton N, Locker A, Blamey RW, Elston CW. Pathological prognostic factors in breast cancer. II. Histological type. Relationship with survival in a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1992 Jun;20(6):479-89. doi: 10.1111/j.1365-2559.1992.tb01032.x.

59. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991 Nov;19(5):403-10. doi: 10.1111/j.1365-2559.1991.tb00229.x.

60. Ewertz M, Jensen MB, Gunnarsdóttir KÁ, Højris I, Jakobsen EH, Nielsen D, Stenbygaard LE, Tange UB, Cold S. Effect of obesity on prognosis after early-stage breast cancer. *J Clin Oncol*. 2011 Jan 1;29(1):25-31. doi: 10.1200/JCO.2010.29.7614.

61. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001 May 16;285(19):2486-97. doi: 10.1001/jama.285.19.2486.

62. Fang J, Zhang X, Chen X, Wang Z, Zheng S, Cheng Y, Liu S, Hao L. The role of insulin-like growth factor-1 in bone remodeling: A review. *Int J Biol Macromol*. 2023 May 31;238:124125. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.124125.

63. Fares J, Fares MY, Khachfe HH, Salhab HA, Fares Y. Molecular principles of metastasis: a hallmark of cancer revisited. *Signal Transduct Target Ther*. 2020 Mar 12;5(1):28. doi: 10.1038/s41392-020-0134-x.

64. Fávaro WJ, Hetzl AC, Reis LO, Ferreira U, Billis A, Cagnon VH. Periacinar retraction clefting in nonneoplastic and neoplastic prostatic glands: artifact or molecular involvement. *Pathol Oncol Res*. 2012 Apr;18(2):285-92. doi: 10.1007/s12253-011-9440-5.

65. Feng D, Gerarduzzi C. Emerging Roles of Matricellular Proteins in Systemic Sclerosis. *Int J Mol Sci*. 2020 Jul 6;21(13):4776. doi: 10.3390/ijms21134776.

66. Frasca F, Pandini G, Vigneri R, Goldfine ID. Insulin and hybrid insulin/IGF receptors are major regulators of breast cancer cells. *Breast Dis*. 2003;17:73-89. doi: 10.3233/bd-2003-17108.

67. Fu J, Li Y, Esangbedo IC, Li G, Feng D, Li L, Xu L, Han L, Li M, Li C, Gao S, Li M, Willi SM. Circulating Osteonectin and Adipokine Profiles in Relation to Metabolically Healthy Obesity in Chinese Children: Findings From BCAMS. *J Am Heart Assoc*. 2018 Dec 4;7(23):e009169. doi: 10.1161/JAHA.118.009169.

68. Gennari A, André F, Barrios CH, Cortés J, de Azambuja E, DeMichele A, Dent R, Fenlon D, Gligorov J, Hurvitz SA, et al. ESMO Clinical Practice Guideline for the diagnosis, staging and treatment of patients with metastatic breast

cancer. *Ann Oncol.* 2021 Dec;32(12):1475-1495. doi: 10.1016/j.annonc.2021.09.019.

69. Gerarduzzi C, Hartmann U, Leask A, Drobetsky E. The Matrix Revolution: Matricellular Proteins and Restructuring of the Cancer Microenvironment. *Cancer Res.* 2020 Jul 1;80(13):2705-2717. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-2098.

70. Giancotti FG. Mechanisms governing metastatic dormancy and reactivation. *Cell.* 2013 Nov 7;155(4):750-64. doi: 10.1016/j.cell.2013.10.029.

71. Ginsburg O, Bray F, Coleman MP, Vanderpuye V, Eniu A, Kotha SR, Sarker M, Huong TT, Allemani C, Dvaladze A, Gralow J, et al. The global burden of women's cancers: a grand challenge in global health. *Lancet.* 2017 Feb 25;389(10071):847-860. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31392-7.

72. Goodwin ML, Gladden LB, Nijsten MW, Jones KB. Lactate and cancer: revisiting the warburg effect in an era of lactate shuttling. *Front Nutr.* 2015 Jan 5;1:27. doi: 10.3389/fnut.2014.00027.

73. Han Y, Langston M, Fuzzell L, Khan S, Lewis-Thames MW, Colditz GA, Moore JX. Breast Cancer Mortality Hot Spots Among Black Women With de Novo Metastatic Breast Cancer. *JNCI Cancer Spectr.* 2020 Oct 1;5(1):pkaa086. doi: 10.1093/jncics/pkaa086.

74. Hao J, Zhang Y, Yan X, Yan F, Sun Y, Zeng J, Waigel S, Yin Y, Fraig MM, Egilmez NK, Suttles J, Kong M, Liu S, Cleary MP, Sauter E, Li B. Circulating Adipose Fatty Acid Binding Protein Is a New Link Underlying Obesity-Associated Breast/Mammary Tumor Development. *Cell Metab.* 2018 Nov 6;28(5):689-705.e5. doi: 10.1016/j.cmet.2018.07.006.

75. Hassani B, Attar Z, Firouzabadi N. The renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) signaling pathways and cancer: foes versus allies. *Cancer Cell Int.* 2023 Oct 27;23(1):254. doi: 10.1186/s12935-023-03080-9.

76. Hendrick RE, Monticciolo DL. Surveillance, Epidemiology, and End Results Data Show Increasing Rates of Distant-Stage Breast Cancer at Presentation in U.S. Women. *Radiology.* 2024 Dec;313(3):e241397. doi: 10.1148/radiol.241397.

77. Heydari S, Tajik F, Safaei S, Kamani F, Karami B, Dorafshan S, Madjd Z, Ghods R. The association between tumor-stromal collagen features and the clinical outcomes of patients with breast cancer: a systematic review. *Breast Cancer Res.* 2025 May 5;27(1):69. doi: 10.1186/s13058-025-02017-6.
78. Hillebrand LE, Söling U, Marschner N. Significance of Patient-Reported Outcomes for Metastatic Breast Cancer Patients. *Oncol Res Treat.* 2022;45(7-8):423-429. doi: 10.1159/000521826.
79. Hillers-Ziemer LE, Kuziel G, Williams AE, Moore BN, Arendt LM. Breast cancer microenvironment and obesity: challenges for therapy. *Cancer Metastasis Rev.* 2022 Sep;41(3):627-647. doi: 10.1007/s10555-022-10031-9.
80. Hunter KW, Crawford NP, Alsarraj J. Mechanisms of metastasis. *Breast Cancer Res.* 2008;10 Suppl 1(Suppl 1):S2. doi: 10.1186/bcr1988.
81. Icer MA, Gezmen-Karadag M. The multiple functions and mechanisms of osteopontin. *Clin Biochem.* 2018 Sep;59:17-24. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2018.07.003.
82. Inoue M, Shinohara ML. Intracellular osteopontin (iOPN) and immunity. *Immunol Res.* 2011 Apr;49(1-3):160-72. doi: 10.1007/s12026-010-8179-5.
83. Irie J, Manucha V, Ioffe OB, Silverberg SG. Artefact as the pathologist's friend: peritumoral retraction in in situ and infiltrating duct carcinoma of the breast. *Int J Surg Pathol.* 2007 Jan;15(1):53-9. doi: 10.1177/1066896906295690.
84. Islam MS, Wei P, Suzauddula M, Nime I, Feroz F, Acharjee M, Pan F. The interplay of factors in metabolic syndrome: understanding its roots and complexity. *Mol Med.* 2024 Dec 27;30(1):279. doi: 10.1186/s10020-024-01019-y.
85. Jain D, Tikku G, Bhadana P, Dravid C, Grover RK. The Impact of Peritumoral Retraction Clefting & Intratumoral Eosinophils on Overall Survival in Oral Squamous Carcinoma Patients. *Pathol Oncol Res.* 2019 Jan;25(1):183-189. doi: 10.1007/s12253-017-0328-x.
86. Jiang S, Sun HF, Li S, Zhang N, Chen JS, Liu JX. SPARC: a potential target for functional nanomaterials and drugs. *Front Mol Biosci.* 2023 Jul 28;10:1235428. doi: 10.3389/fmolb.2023.1235428.

87. Jin X, Mu P. Targeting Breast Cancer Metastasis. *Breast Cancer (Auckl)*. 2015 Sep 1;9(Suppl 1):23-34. doi: 10.4137/BCBCR.S25460.
88. Kabat GC, Kim MY, Lee JS, Ho GY, Going SB, Beebe-Dimmer J, Manson JE, Chlebowski RT, Rohan TE. Metabolic Obesity Phenotypes and Risk of Breast Cancer in Postmenopausal Women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2017 Dec;26(12):1730-1735. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-17-0495.
89. Kalupahana NS, Moustaid-Moussa N. Beyond blood pressure, fluid and electrolyte homeostasis - Role of the renin angiotensin aldosterone system in the interplay between metabolic diseases and breast cancer. *Acta Physiol (Oxf)*. 2024 Jul;240(7):e14164. doi: 10.1111/apha.14164.
90. Kang SU, Cho SY, Jeong H, Han J, Chae HY, Yang H, Sung CO, Choi YL, Shin YK, Kwon MJ. Matrix metalloproteinase 11 (MMP11) in macrophages promotes the migration of HER2-positive breast cancer cells and monocyte recruitment through CCL2-CCR2 signaling. *Lab Invest*. 2022 Apr;102(4):376-390. doi: 10.1038/s41374-021-00699-y.
91. Kato N, Takeda J, Fukase M, Motoyama T. Alternate mucoid and hyalinized stroma in clear cell carcinoma of the ovary: manifestation of serial stromal remodeling. *Mod Pathol*. 2010 Jun;23(6):881-8. doi: 10.1038/modpathol.2010.75.
92. Khalid M, Petroianu G, Adem A. Advanced Glycation End Products and Diabetes Mellitus: Mechanisms and Perspectives. *Biomolecules*. 2022 Apr 4;12(4):542. doi: 10.3390/biom12040542.
93. Kim E, Moy L. Distant-Stage Breast Cancer Incidence Is Increasing in U.S. Women across Age Groups and Race and Ethnicity Groups. *Radiology*. 2024 Dec;313(3):e242716. doi: 10.1148/radiol.242716.
94. Kim J. In silico analysis of differentially expressed genesets in metastatic breast cancer identifies potential prognostic biomarkers. *World J Surg Oncol*. 2021 Jun 25;19(1):188. doi: 10.1186/s12957-021-02301-7.
95. Kim S, Lee SB, Hong YJ, Kim Y, Han K, Park JW. The influence of endogenous and exogenous hormonal factors on migraine in spontaneous

postmenopausal women: A nationwide population-based study in South Korea. *Cephalalgia*. 2022 Apr;42(4-5):376-384. doi: 10.1177/03331024211044441.

96. Klement JD, Paschall AV, Redd PS, Ibrahim ML, Lu C, Yang D, Celis E, Abrams SI, Ozato K, Liu K. An osteopontin/CD44 immune checkpoint controls CD8⁺ T cell activation and tumor immune evasion. *J Clin Invest*. 2018 Dec 3;128(12):5549-5560. doi: 10.1172/JCI123360.

97. Ko SH, Kim HS. Menopause-Associated Lipid Metabolic Disorders and Foods Beneficial for Postmenopausal Women. *Nutrients*. 2020 Jan 13;12(1):202. doi: 10.3390/nu12010202.

98. Kotsifaki A, Maroulaki S, Karalexis E, Stathaki M, Armakolas A. Decoding the Role of Insulin-like Growth Factor 1 and Its Isoforms in Breast Cancer. *Int J Mol Sci*. 2024 Aug 27;25(17):9302. doi: 10.3390/ijms25179302.

99. Koual M, Tomkiewicz C, Guerrero IC, Sherr D, Barouki R, Coumoul X. Aggressiveness and Metastatic Potential of Breast Cancer Cells Co-Cultured with Preadipocytes and Exposed to an Environmental Pollutant Dioxin: An *in Vitro* and *in Vivo* Zebrafish Study. *Environ Health Perspect*. 2021 Mar;129(3):37002. doi: 10.1289/EHP7102.

100. Krieg S, Fernandes SI, Kolliopoulos C, Liu M, Fendt SM. Metabolic Signaling in Cancer Metastasis. *Cancer Discov*. 2024 Jun 3;14(6):934-952. doi: 10.1158/2159-8290.CD-24-0174.

101. Kruslin B, Tomas D, Rogatsch H, Novosel I, Cupić H, Belicza M, Kraus O, Mikuz G. Periacinar retraction clefting in the prostatic needle core biopsies: an important diagnostic criterion or a simple artifact? *Virchows Arch*. 2003 Oct;443(4):524-7. doi: 10.1007/s00428-003-0862-7.

102. Kruslin B, Tomas D, Rogatsch H, Reljić A, Vucić M, Balicević D, Belicza M, Mikuz G. Correlation of periacinar retraction clefting in needle core biopsies and corresponding prostatectomy specimens of patients with prostatic adenocarcinoma. *Int J Surg Pathol*. 2005 Jan;13(1):67-72. doi: 10.1177/106689690501300109.

103. Leitner L, Jürets A, Itariu BK, Keck M, Prager G, Langer F, Grablowitz V, Zeyda M, Stulnig TM. Osteopontin promotes aromatase expression and estradiol production in human adipocytes. *Breast Cancer Res Treat.* 2015 Nov;154(1):63-9. doi: 10.1007/s10549-015-3603-0.
104. Leong AS, Zhuang Z. The changing role of pathology in breast cancer diagnosis and treatment. *Pathobiology.* 2011;78(2):99-114. doi: 10.1159/000292644.
105. Lepucki A, Orlińska K, Mielczarek-Palacz A, Kabut J, Olczyk P, Komosińska-Vassev K. The Role of Extracellular Matrix Proteins in Breast Cancer. *J Clin Med.* 2022 Feb 25;11(5):1250. doi: 10.3390/jcm11051250.
106. Li F, Wei Y, Li L, Chen F, Bao C, Bu H, Zhang Z. Collagen Density Is Associated With Pathological Complete Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Triple-Negative Breast Cancer Patients. *J Surg Oncol.* 2025 May;131(6):1024-1034. doi: 10.1002/jso.28046.
107. Li W, Jia H, Wang S, Guo X, Zhang X, Zhang L, Wen HY, Fu L. The presence of retraction clefts correlates with lymphovascular invasion and lymph node metastasis and predicts poor outcome: Analysis of 2497 breast cancer patients. *Ann Diagn Pathol.* 2022 Dec;61:152047. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2022.152047.
108. Liang Y, Zhang H, Song X, Yang Q. Metastatic heterogeneity of breast cancer: Molecular mechanism and potential therapeutic targets. *Semin Cancer Biol.* 2020 Feb;60:14-27. doi: 10.1016/j.semcancer.2019.08.012.
109. Lindner JL, Loibl S, Denkert C, Ataseven B, Fasching PA, Pfitzner BM, Gerber B, Gade S, Darb-Esfahani S, Sinn BV, Huober J, Engels K, Tesch H, Karn T, Pommerenke F, Liedtke C, Untch M, Müller V, Rack B, Schem C, von Minckwitz G. Expression of secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) in breast cancer and response to neoadjuvant chemotherapy. *Ann Oncol.* 2015 Jan;26(1):95-100. doi: 10.1093/annonc/mdu487.
110. Liu Q, Guan JZ, Sun Y, Le Z, Zhang P, Yu D, Liu Y. Insulin-like growth factor 1 receptor-mediated cell survival in hypoxia depends on the

promotion of autophagy via suppression of the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Mol Med Rep.* 2017 Apr;15(4):2136-2142. doi: 10.3892/mmr.2017.6265.

111. Liu X, Du Y, Zhao Z, Zou J, Zhang X, Zhang L. The multiple regulatory effects of white adipose tissue on bone homeostasis. *J Cell Physiol.* 2023 Jun;238(6):1193-1206. doi: 10.1002/jcp.31025. Epub 2023 Apr 30. PMID: 37120830.

112. Lobbezoo DJ, van Kampen RJ, Voogd AC, Dercksen MW, van den Berkmortel F, Smilde TJ, van de Wouw AJ, et al. Prognosis of metastatic breast cancer: are there differences between patients with de novo and recurrent metastatic breast cancer? *Br J Cancer.* 2015 Apr 28;112(9):1445-51. doi: 10.1038/bjc.2015.127.

113. López-Moncada F, Torres MJ, Lavanderos B, Cerda O, Castellón EA, Contreras HR. SPARC Induces E-Cadherin Repression and Enhances Cell Migration through Integrin $\alpha\beta 3$ and the Transcription Factor ZEB1 in Prostate Cancer Cells. *Int J Mol Sci.* 2022 May 24;23(11):5874. doi: 10.3390/ijms23115874.

114. Luey BC, May FE. Insulin-like growth factors are essential to prevent anoikis in oestrogen-responsive breast cancer cells: importance of the type I IGF receptor and PI3-kinase/Akt pathway. *Mol Cancer.* 2016 Jan 22;15:8. doi: 10.1186/s12943-015-0482-2.

115. Lukianova N, Mushii O, Borikun T, Zadvornyi T, Bazas V, Krotevych M, Sivak L, Lyalkin S, Martynyuk O, Hrybach S, Chekhun V. Pattern of MMP2 and MMP9 expression depends on breast cancer patients' age. *Exp Oncol.* 2023 Jun 26;45(1):17-27. doi: 10.15407/exp-oncology.2023.01.017. PMID: 37417285.

116. Lukianova N, Zadvornyi T, Kashuba E, Borikun T, Mushii O, Chekhun V. Expression of markers of bone tissue remodeling in breast cancer and prostate cancer cells in vitro. *Exp Oncol.* 2022 May;44(1):39-46. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-44-no-1.17354.

117. Ma Z, Wang S, Liu S, Yang W, Hu J, Lv L, Yu Q, Lu Y. Metabolic syndrome in colorectal cancer liver metastasis: metabolic reprogramming and

microenvironment crosstalk. *Front Immunol.* 2025 Oct 14;16:1653442. doi: 10.3389/fimmu.2025.1653442.

118. MacDonald IC, Groom AC, Chambers AF. Cancer spread and micrometastasis development: quantitative approaches for in vivo models. *Bioessays.* 2002 Oct;24(10):885-93. doi: 10.1002/bies.10156.

119. Magar AG, Morya VK, Kwak MK, Oh JU, Noh KC. A Molecular Perspective on HIF-1 α and Angiogenic Stimulator Networks and Their Role in Solid Tumors: An Update. *Int J Mol Sci.* 2024 Mar 14;25(6):3313. doi: 10.3390/ijms25063313.

120. Malmgren JA, Calip GS, Atwood MK, Mayer M, Kaplan HG. Metastatic breast cancer survival improvement restricted by regional disparity: Surveillance, Epidemiology, and End Results and institutional analysis: 1990 to 2011. *Cancer.* 2020 Jan 15;126(2):390-399. doi: 10.1002/cncr.32531.

121. Manescu P, Geradts J, Fernandez-Reyes D. Computational Pathology Detection of Hypoxia-Induced Morphologic Changes in Breast Cancer. *Am J Pathol.* 2025 Apr;195(4):663-670. doi: 10.1016/j.ajpath.2024.10.023.

122. Mariotto AB, Etzioni R, Hurlbert M, Penberthy L, Mayer M. Estimation of the Number of Women Living with Metastatic Breast Cancer in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2017 Jun;26(6):809-815. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-16-0889.

123. Mariotto AB, Etzioni R, Hurlbert M, Penberthy L, Mayer M. Estimation of the Number of Women Living with Metastatic Breast Cancer in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2017 Jun;26(6):809-815. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-16-0889.

124. Martínez-Ortega JI. Peritumoral Clefts in Basal Cell Carcinoma: Matrix Metabolism and Primary Cilium. *Cureus.* 2024 Apr 15;16(4):e58316. doi: 10.7759/cureus.58316.

125. Martiniakova M, Mondockova V, Kovacova V, Babikova M, Zemanova N, Biro R, Penzes N, Omelka R. Interrelationships among metabolic syndrome, bone-derived cytokines, and the most common metabolic syndrome-

related diseases negatively affecting bone quality. *Diabetol Metab Syndr*. 2024 Sep 6;16(1):217. doi: 10.1186/s13098-024-01440-7.

126. Masood S. Breast cancer subtypes: morphologic and biologic characterization. *Womens Health (Lond)*. 2016 Jan;12(1):103-19. doi: 10.2217/whe.15.99.

127. Mattar A, Antonini M, Amorim AG, Teixeira MD, de Resende CAA, Cavalcante FP, Zerwes F, Arakelian R, Millen EC, Brenelli FP, Frasson AL, Leite RM, Gebrim LH. Overall Survival and Economic Impact of Triple-Negative Breast Cancer in Brazilian Public Health Care: A Real-World Study. *JCO Glob Oncol*. 2025 Feb;11:e2400340. doi: 10.1200/GO-24-00340.

128. Mentzel J, Anderegg U, Paasch U, Simon JC, Grupp M, Grunewald S. 'Retraction artefacts' in basal cell carcinomas do not result from fixation but likely arise by degradation of extracellular matrix during tumour growth. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2022 Mar;36(3):e244-e247. doi: 10.1111/jdv.17776.

129. Mienaltowski MJ, Haddox NL, Beall JM, Pechanec MY. Basic Structure, Physiology, and Biochemistry of Connective Tissues and Extracellular Matrix Collagens. *Adv Exp Med Biol*. 2021;1348:5-43. doi: 10.1007/978-3-030-80614-9_2.

130. Mohammed AM, Hamed HB, Noaman MK, Alieldin N. Metabolic syndrome and breast cancer risk. *J Egypt Natl Canc Inst*. 2023 Dec 21;35(1):42. doi: 10.1186/s43046-023-00203-1.

131. Monteleone P, Mascagni G, Giannini A, Genazzani AR, Simoncini T. Symptoms of menopause - global prevalence, physiology and implications. *Nat Rev Endocrinol*. 2018 Apr;14(4):199-215. doi: 10.1038/nrendo.2017.180.

132. Mubtasim N, Moustaid-Moussa N, Gollahon L. The Complex Biology of the Obesity-Induced, Metastasis-Promoting Tumor Microenvironment in Breast Cancer. *Int J Mol Sci*. 2022 Feb 24;23(5):2480. doi: 10.3390/ijms23052480.

133. Mumusoglu S, Yildiz BO. Metabolic Syndrome During Menopause. *Curr Vasc Pharmacol*. 2019;17(6):595-603. doi: 10.2174/1570161116666180904094149.

134. Nagao H, Cai W, Wewer Albrechtsen NJ, Steger M, Batista TM, Pan H, Dreyfuss JM, Mann M, Kahn CR. Distinct signaling by insulin and IGF-1 receptors and their extra- and intracellular domains. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2021 Apr 27;118(17):e2019474118. doi: 10.1073/pnas.2019474118.

135. Nair PMK, Palanisamy A, Sivaranjani S, Sudarshan S, Shubhakarini S, Karthika E, Devibala M, Saranya M, R T, P S, Mahalingam M, Kumari J, Silwal K. Decoding metabolic dysfunction in cancer: foundations for early detection and personalized therapeutics. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2025 Nov 24;16:1693142. doi: 10.3389/fendo.2025.1693142.

136. Natal R de A, Pelegati VB, Bondarik C, Mendonça GR, Derchain SF, Lima CP, Cesar Cl, et al. Increased metabolic activity detected by FIIM in human breast cancer cells with desmoplastic reaction: a pilot study. In: *European Conferences on Biomedical Optics*. Germany: Munich; 2015. *Proceedings of SPIE*. 9536, *Advanced Microscopy Techniques IV*; and *Neurophotonics II*, 953601. <https://doi.org/10.1117/12.2183442>

137. Naylor C, Petri WA Jr. Leptin Regulation of Immune Responses. *Trends Mol Med*. 2016 Feb;22(2):88-98. doi: 10.1016/j.molmed.2015.12.001.

138. Neborets AD, Nikolayenko SI, Smolanka II, Krotevych MS, Med VV, Gichka SG, Chekhun VF. Expression Patterns of Matricellular Proteins in Metastatic Breast Cancer at the Background of Metabolic Syndrome. *Exp Oncol*. 2025 Feb 20;46(4):333-340. doi: 10.15407/exp-oncology.2024.04.333.

139. Nehme R, Diab-Assaf M, Decombat C, Delort L, Caldefie-Chezet F. Targeting Adiponectin in Breast Cancer. *Biomedicines*. 2022;10(11):2958. doi:10.3390/biomedicines10112958

140. Nelson ER. The significance of cholesterol and its metabolite, 27-hydroxycholesterol in breast cancer. *Mol Cell Endocrinol*. 2018 May 5;466:73-80. doi: 10.1016/j.mce.2017.09.021.

141. Olsson HL, Olsson ML. The Menstrual Cycle and Risk of Breast Cancer: A Review. *Front Oncol*. 2020 Jan 24;10:21. doi: 10.3389/fonc.2020.00021.

142. Palmiero P, Maiello M, Cecere A, Ciccone MM. Metabolic syndrome and breast cancer: a dangerous association for postmenopausal women: A postmenopausal women prevention study. *Acta Biomed.* 2021;92(4):e2021177. doi:10.23750/abm.v92i3.11335

143. Panda VK, Mishra B, Nath AN, Butti R, Yadav AS, Malhotra D, Khanra S, Mahapatra S, Mishra P, Swain B, Majhi S, Kumari K, Radharani NNV, Kundu GC. Osteopontin: A Key Multifaceted Regulator in Tumor Progression and Immunomodulation. *Biomedicines.* 2024 Jul 9;12(7):1527. doi: 10.3390/biomedicines12071527.

144. Pang X, Gong K, Zhang X, Wu S, Cui Y, Qian BZ. Osteopontin as a multifaceted driver of bone metastasis and drug resistance. *Pharmacol Res.* 2019 Jun;144:235-244. doi: 10.1016/j.phrs.2019.04.030.

145. Papadimitriou N, Dimou N, Tsilidis KK. et al. Physical activity and risks of breast and colorectal cancer: a Mendelian randomisation analysis. *Nat Commun.* 2020;11:597. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-14389-8>

146. Park J, Morley TS, Kim M, Clegg DJ, Scherer PE. Obesity and cancer--mechanisms underlying tumour progression and recurrence. *Nat Rev Endocrinol.* 2014 Aug;10(8):455-465. doi: 10.1038/nrendo.2014.94.

147. Park SY, Nam JS. The force awakens: metastatic dormant cancer cells. *Exp Mol Med.* 2020 Apr;52(4):569-581. doi: 10.1038/s12276-020-0423-z.

148. Pasanisi P, Berrino F, De Petris M, Venturelli E, Mastroianni A, Panico S. Metabolic syndrome as a prognostic factor for breast cancer recurrences. *Int J Cancer.* 2006 Jul 1;119(1):236-8. doi: 10.1002/ijc.21812.

149. Pollak M. The insulin and insulin-like growth factor receptor family in neoplasia: an update. *Nat Rev Cancer.* 2012 Feb 16;12(3):159-69. doi: 10.1038/nrc3215.

150. Popova NV, Jücker M. The Functional Role of Extracellular Matrix Proteins in Cancer. *Cancers (Basel).* 2022 Jan 4;14(1):238. doi: 10.3390/cancers14010238.

151. Potter M, Newport E, Morten KJ. The Warburg effect: 80 years on. *Biochem Soc Trans.* 2016 Oct 15;44(5):1499-1505. doi: 10.1042/BST20160094.
152. Pranzini E, Raugei G, Taddei ML. Metabolic Features of Tumor Dormancy: Possible Therapeutic Strategies. *Cancers (Basel).* 2022 Jan 21;14(3):547. doi: 10.3390/cancers14030547.
153. Qiu J, Zheng Q, Meng X. Hyperglycemia and Chemoresistance in Breast Cancer: From Cellular Mechanisms to Treatment Response. *Front Oncol.* 2021 Feb 25;11:628359. doi: 10.3389/fonc.2021.628359.
154. Qiu Y, Chen A, Yu R, Llevenes P, Seen M, Ko NY, Monti S, Denis GV. Insulin Resistance Increases TNBC Aggressiveness and Brain Metastasis via Adipocyte-Derived Exosomes. *Mol Cancer Res.* 2025 Jun 3;23(6):567-578. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-24-0494.
155. Qiu Y, Chen Y, Shen H, Yan S, Li J, Wu W. Triple-negative breast cancer survival prediction: population-based research using the SEER database and an external validation cohort. *Front Oncol.* 2024 Jun 10;14:1388869. doi: 10.3389/fonc.2024.1388869.
156. Rakha EA, Tse GM, Quinn CM. An update on the pathological classification of breast cancer. *Histopathology.* 2023 Jan;82(1):5-16. doi: 10.1111/his.14786.
157. Ratnayake GM, Laskaratos FM, Mandair D, Caplin ME, Rombouts K, Toumpanakis C. What Causes Desmoplastic Reaction in Small Intestinal Neuroendocrine Neoplasms? *Curr Oncol Rep.* 2022 Oct;24(10):1281-1286. doi: 10.1007/s11912-022-01211-5.
158. Revell CK, Jensen OE, Shearer T, Lu Y, Holmes DF, Kadler KE. Collagen fibril assembly: New approaches to unanswered questions. *Matrix Biol Plus.* 2021 Jul 13;12:100079. doi: 10.1016/j.mbplus.2021.100079.
159. Ribatti D, Mangialardi G, Vacca A. Stephen Paget and the 'seed and soil' theory of metastatic dissemination. *Clin Exp Med.* 2006 Dec;6(4):145-9. doi: 10.1007/s10238-006-0117-4.

160. Riggio AI, Varley KE, Welm AL. The lingering mysteries of metastatic recurrence in breast cancer. *Br J Cancer*. 2021 Jan;124(1):13-26. doi: 10.1038/s41416-020-01161-4.
161. Rodrigues LR, Teixeira JA, Schmitt FL, Paulsson M, Lindmark-Månsson H. The role of osteopontin in tumor progression and metastasis in breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007 Jun;16(6):1087-97. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-06-1008.
162. Rybinska I, Agresti R, Trapani A, Tagliabue E, Triulzi T. Adipocytes in Breast Cancer, the Thick and the Thin. *Cells*. 2020 Feb 27;9(3):560. doi: 10.3390/cells9030560.
163. Saltiel AR. Insulin signaling in health and disease. *J Clin Invest*. 2021 Jan 4;131(1):e142241. doi: 10.1172/JCI142241.
164. Sankofi BM, Valencia-Rincón E, Sekhri M, Ponton-Almodovar AL, Bernard JJ, Wellberg EA. The impact of poor metabolic health on aggressive breast cancer: adipose tissue and tumor metabolism. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023 Sep 20;14:1217875. doi: 10.3389/fendo.2023.1217875.
165. Schaeffer EM, Srinivas S, Adra N, An Y, Barocas D, Bitting R, Bryce A, Chapin B, Cheng HH, et al. Prostate Cancer, Version 4.2023, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2023 Oct;21(10):1067-1096. doi: 10.6004/jnccn.2023.0050.
166. Seo BR, Bhardwaj P, Choi S, Gonzalez J, Andresen Eguiluz RC, Wang K, Mohanan S, Morris PG, Du B, Zhou XK, Vahdat LT, Verma A, Elemento O, Hudis CA, Williams RM, Gourdon D, Dannenberg AJ, Fischbach C. Obesity-dependent changes in interstitial ECM mechanics promote breast tumorigenesis. *Sci Transl Med*. 2015 Aug 19;7(301):301ra130. doi: 10.1126/scitranslmed.3010467.
167. Shah TS, Kaag M, Raman JD, Chan W, Tran T, Kunchala S, Shuman L, DeGraff DJ, Chen G, Warrick JI. Clinical significance of prominent retraction clefts in invasive urothelial carcinoma. *Hum Pathol*. 2017 Mar;61:90-96. doi: 10.1016/j.humpath.2016.10.021.

168. Shang C, Xu D. Epidemiology of Breast Cancer. *Oncologie*. 2022;24(4):649–663. <https://doi.org/10.32604/oncologie.2022.027640>
169. Shi S, Ma HY, Han XY, Sang YZ, Yang MY, Zhang ZG. Prognostic Significance of SPARC Expression in Breast Cancer: A Meta-Analysis and Bioinformatics Analysis. *Biomed Res Int*. 2022 Feb 15;2022:8600419. doi: 10.1155/2022/8600419.
170. Sis B, Sarioglu S, Sokmen S, Sakar M, Kupelioglu A, Fuzun M. Desmoplasia measured by computer assisted image analysis: an independent prognostic marker in colorectal carcinoma. *J Clin Pathol*. 2005 Jan;58(1):32-8. doi: 10.1136/jcp.2004.018705.
171. Siwach P, Joy T, Tupkari J, Thakur A. Controversies in Odontogenic Tumours: Review. *Sultan Qaboos Univ Med J*. 2017 Aug;17(3):e268-e276. doi: 10.18295/squmj.2017.17.03.003.
172. Skorupa A, Ciszek M, Turska-d'Amico M, Stobiecka E, Chmielik E, Szumniak R, d'Amico A, Boguszewicz Ł, Sokół M. The Relationship between Histological Composition and Metabolic Profile in Breast Tumors and Peritumoral Tissue Determined with ¹H HR-MAS NMR Spectroscopy. *Cancers (Basel)*. 2023 Feb 17;15(4):1283. doi: 10.3390/cancers15041283.
173. Sumaily KM, Dahman LSB, Sabi EM, Mujamammi AH, Mugibel MA, et al. Metabolic syndrome components: Obesity, dyslipidemia and hypertension as plausible biomarkers for breast cancer risk in Yemeni women: A cross-sectional study. *OUCI*. Springer Science and Business Media LLC; 2024. doi: 10.21203/rs.3.rs-4446037/v1.
174. Świdarska E, Strycharz J, Wróblewski A, Szemraj J, Drzewoski J, Śliwińska A. Role of PI3K/AKT Pathway in Insulin-Mediated Glucose Uptake. In: L. Szablewski (ed). *Blood Glucose Levels*. IntechOpen. 2018. doi: 10.5772/intechopen.80402.
175. Szablewski L. Changes in Cells Associated with Insulin Resistance. *Int J Mol Sci*. 2024 Feb 18;25(4):2397. doi: 10.3390/ijms25042397.

176. Tan PH, Ellis I, Allison K, Brogi E, Fox SB, Lakhani S, Lazar AJ, Morris EA, Sahin A, Salgado R, et al.; WHO Classification of Tumours Editorial Board. The 2019 World Health Organization classification of tumours of the breast. *Histopathology*. 2020 Aug;77(2):181-185. doi: 10.1111/his.14091.
177. Termine JD, Kleinman HK, Whitson SW, Conn KM, McGarvey ML, Martin GR. Osteonectin, a bone-specific protein linking mineral to collagen. *Cell*. 1981 Oct;26(1 Pt 1):99-105. doi: 10.1016/0092-8674(81)90037-4.
178. Ulamec M, Džombeta T, Cupić H, Leniček T, Tomas D, Krušlin B. Periacinar retraction clefting and d2-40 expression in prostatic adenocarcinoma. *Pathol Oncol Res*. 2012 Apr;18(2):365-70. doi: 10.1007/s12253-011-9453-0.
179. Underwood CIM, Cardona DM, Bentley RC, Shen G, Feng X, Jour G, Al-Rohil RN. Epithelioid Hyalinizing Sarcoma With MGA-NUTM1 Fusion. *Am J Clin Pathol*. 2020 Nov 4;154(6):859-866. doi: 10.1093/ajcp/aqaa113.
180. United-States Cancer Statistics. 2025 [cited 2026 Feb 2]. Available at: www.cdc.gov/united-states-cancer-statistics/
181. Valastyan S, Weinberg RA. Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms. *Cell*. 2011 Oct 14;147(2):275-92. doi: 10.1016/j.cell.2011.09.024.
182. Verret B, Bottosso M, Hervais S, Pistilli B. The Molecular Predictive and Prognostic Biomarkers in Metastatic Breast Cancer: The Contribution of Molecular Profiling. *Cancers (Basel)*. 2022 Aug 30;14(17):4203. doi: 10.3390/cancers14174203.
183. Wang J, Li B, Luo M, Huang J, Zhang K, Zheng S, Zhang S, Zhou J. Progression from ductal carcinoma in situ to invasive breast cancer: molecular features and clinical significance. *Signal Transduct Target Ther*. 2024 Apr 3;9(1):83. doi: 10.1038/s41392-024-01779-3.
184. Wang L, Niu X. Immunoregulatory Roles of Osteopontin in Diseases. *Nutrients*. 2024 Jan 20;16(2):312. doi: 10.3390/nu16020312.

185. Wang L, Zhang S, Wang X. The Metabolic Mechanisms of Breast Cancer Metastasis. *Front Oncol.* 2021 Jan 7;10:602416. doi: 10.3389/fonc.2020.602416.
186. Wang R, Zhu Y, Liu X, Liao X, He J, Niu L. The Clinicopathological features and survival outcomes of patients with different metastatic sites in stage IV breast cancer. *BMC Cancer.* 2019 Nov 12;19(1):1091. doi: 10.1186/s12885-019-6311-z.
187. Wang Y, Liu Q, Sun Y, Wu W, Cheng X, Chen X, Ren F. Association between metabolic disorders and clinicopathologic features in endometrial cancer. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2024 Aug 26;15:1351982. doi: 10.3389/fendo.2024.1351982.
188. Werner H. New Insights into the Role of the Insulin-Like Growth Factors in Breast Cancer. *Med. Res. Arch.* 2023;11 doi: 10.18103/mra.v11i4.3634.
189. WHO Classification of Tumours. Breast Tumours. 5th ed. Vol. 2. Lyon (France): IARC; 2019.
190. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Diet, Nutrition, Physical Activity and Cancer: a Global Perspective. Continuous Update Project Expert Report 2018. [cited 2024 Nov 6]. Available at: <https://www.wcrf.org/wp-content/uploads/2024/10/Breast-cancer-report.pdf>
191. World Health Organization. Breast cancer: fact sheet. Geneva: WHO; 2024 [cited 2025 Nov 20] Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer> .
192. Wright N, Xia J, Cantuaria G, Klimov S, Jones M, Neema P, Il'yasova D, Krishnamurti U, et al. Distinctions in Breast Tumor Recurrence Patterns Post-Therapy among Racially Distinct Populations. *PLoS One.* 2017 Jan 13;12(1):e0170095. doi: 10.1371/journal.pone.0170095.
193. Xu YY, Zhang YY, Lu WF, Mi YJ, Chen YQ. Prognostic value of osteopontin expression in breast cancer: A meta-analysis. *Mol Clin Oncol.* 2015 Mar;3(2):357-362. doi: 10.3892/mco.2014.480.

194. Yee LD, Mortimer JE, Natarajan R, Dietze EC, Seewaldt VL. Metabolic Health, Insulin, and Breast Cancer: Why Oncologists Should Care About Insulin. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020 Feb 20;11:58. doi: 10.3389/fendo.2020.00058.
195. Yu L, Wei W, Lv J, Lu Y, Wang Z, Cai C. FABP4-mediated lipid metabolism promotes TNBC progression and breast cancer stem cell activity. *Cancer Lett*. 2024 Nov 1;604:217271. doi: 10.1016/j.canlet.2024.217271.
196. Yuan Z, Li Y, Zhang S, Wang X, Dou H, Yu X, Zhang Z, Yang S, Xiao M. Extracellular matrix remodeling in tumor progression and immune escape: from mechanisms to treatments. *Mol Cancer*. 2023 Mar 11;22(1):48. doi: 10.1186/s12943-023-01744-8.
197. Zadvornyi T, Lukianova N, Borikun T, Gogol S, Virych P, Lykhova O, Chekhun V. Expression of osteopontin and osteonectin in breast and prostate cancer cells with different sensitivity to doxorubicin. *Exp Oncol*. 2022 Aug;44(2):107-112. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-44-no-2.17886.
198. Zeltza C, Primacc I, Erusappana P, Alama J, Noelc A, Gullberg D. Cancer-associated fibroblasts in desmoplastic tumors: emerging role of integrins. *Seminars in Cancer Biology*. 2020;62: 166-181. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.08.004>
199. Zeng J, Sauter ER, Li B. FABP4: A New Player in Obesity-Associated Breast Cancer. *Trends Mol Med*. 2020 May;26(5):437-440. doi: 10.1016/j.molmed.2020.03.004.
200. Zhang F, Ma Y, Li D, Wei J, Chen K, Zhang E, Liu G, Chu X, Liu X, Liu W, Tian X, Yang Y. Cancer associated fibroblasts and metabolic reprogramming: unraveling the intricate crosstalk in tumor evolution. *J Hematol Oncol*. 2024 Sep 2;17(1):80. doi: 10.1186/s13045-024-01600-2.
201. Zhang H, Wang M, Xu Y. Understanding the mechanisms underlying obesity in remodeling the breast tumor immune microenvironment: from the perspective of inflammation. *Cancer Biol Med*. 2023 Mar 8;20(4):268–86. doi: 10.20892/j.issn.2095-3941.2022.0547.

202. Zhao H, Chen Q, Alam A, Cui J, Suen KC, Soo AP, Eguchi S, Gu J, Ma D. The role of osteopontin in the progression of solid organ tumour. *Cell Death Dis.* 2018 Mar 2;9(3):356. doi: 10.1038/s41419-018-0391-6.

203. Zheng L, Zeng A, Liu L, Tian W, Wang R, Zhang L, Hua H, Zhao J. Metabolic syndrome: molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Mol Biomed.* 2025 Aug 26;6(1):59. doi: 10.1186/s43556-025-00303-5.

204. Zhou X, Zhang L, Qierang C, Huang M, Yang X, Li L, Jiang J. Investigating the relationship between secreted protein acidic and rich in cysteine expression level and therapeutic efficacy of nab-paclitaxel: a meta-analysis. *Transl Cancer Res.* 2021 Feb;10(2):876-885. doi: 10.21037/tcr-20-3045.

205. Zhu YS, Gu Y, Jiang C, Chen L. Osteonectin regulates the extracellular matrix mineralization of osteoblasts through P38 signaling pathway. *J Cell Physiol.* 2020 Mar;235(3):2220-2231. doi: 10.1002/jcp.29131.

ДОДАТОК А

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Неборець АД, Налєскіна ЛА. Цитоархітектоніка різних за молекулярним підтипом пухлин хворих на рак молочної залози, обтяжених метаболічним синдромом. Онкологія. 2024;26(3):172-179. <https://doi.org/10.15407/oncology.2024.03.172> (Особистий внесок здобувача: проведення відбору та мікроскопії препаратів, підготовка статті до публікації)
2. Неборець АД, Чехун ВФ. Клініко-патологічні особливості метастатичного раку грудної залози в пацієток із метаболічним синдромом. Український журнал Здоров'я жінки. 2024;6(175):9-15. doi: 10.15574/HW.2024.6(175).915 (Особистий внесок здобувача: проведення збору та статистичної обробки даних, підготовка статті до публікації)
3. Неборець АД. Біоінформатичний аналіз особливостей експресії генів інсулінового сигнального шляху у пацієток з раком молочної залози. Онкологія. 2025;27(4):217–222. <https://doi.org/10.15407/oncology.2025.04.217> (Особистий внесок здобувача: підготовка концепції та дизайну роботи, збору та статистичної обробки даних, виконання аналізу отриманих результатів, підготовка статті до публікації).
4. Neborets AD, Nikolayenko SI, Smolanka II, Krotevych MS, Med VV, Gichka SG, Chekhun VF. Expression Patterns of Matricellular Proteins in Metastatic Breast Cancer at the Background of Metabolic Syndrome. Exp Oncol. 2025 Feb 20;46(4):333-340. doi: 10.15407/exp-oncology.2024.04.333. (Особистий внесок здобувача: проведення збору та статистичної обробки даних, підготовка статті до публікації)
5. Неборець АД, Мед ВВ, Чехун В. Цитоморфологічні особливості перебігу раку грудної залози на тлі метаболічного синдрому у жінок в постменопаузальному періоді. В: Можливості морфологічних методів у верифікації пухлинних і непухлинних захворювань на сучасному рівні : II

З'їзд ГО «Українська асоціація цитопатологів», м. Київ 6-7 листопада 2023. Київ: Національний інститут раку; 2023, с. 261-262.

6. Неборець АД. Роль матрицелюлярних білків асоційованих з впливом метаболічного синдрому у пацієток з метастатичним раком грудної залози. В: Сучасні погляди на лікування гінекологічної та онкогінекологічної патології: матеріали Міжнародної науково-практичної конференції, 22-23 березня 2025. Київ; 2025, с.18-19.

7. Неборець АД, Чехун ВФ. Особливості експресії остеопонтину у пацієток з метастатичним раком грудної залози, обтяжених метаболічним синдромом. В: Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю до Всесвітнього дня здоров'я 2025 р. Клінічна та профілактична медицина. 2025; 4:174. Доступно з: <https://cp-medical.com/index.php/journal/issue/view/41/4-2025-pdf>

8. Neborets AD. The role of matricellular proteins in the prediction of breast cancer aggressiveness in patients with metabolic syndrome. The International Conference on Cancer Science and Breast Cancer Therapy, Dubai, UAE, 12-13 May 2025, pp. 36.

Відомості про апробацію результатів дисертації

1. II З'їзді ГО «Українська асоціація цитопатологів»: Можливості морфологічних методів у верифікації пухлинних і непухлинних захворювань на сучасному рівні (6-7 листопада 2023, м. Київ, Україна) – усна доповідь, тези.

2. Всеукраїнській міждисциплінарній фаховій школі «Здоров'я жінки. Сучасні перинатальні стратегії» (21-22 березня 2025, м. Чернівці, Україна) – постерна доповідь.

3. Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні погляди на лікування гінекологічної та онкогінекологічної патології» (22-23 березня 2025, м. Івано-Франківськ, Україна) – тези.

4. Ukraine Onco Global-2025. Season 3 (26 березня 2025, м. Київ, Україна) – усна доповідь.
5. Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Здоровий початок життя – запорука благополучного майбутнього» (4 квітня 2025, м. Київ, Україна) – тези.
6. The International Conference on Cancer Science and Breast Cancer Therapy (12-13 травня 2025, Dubai, UAE) – усна доповідь, тези.