

На правах рукописи

Шатохина Алина Станиславовна

**ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОХИМИЧЕСКИХ
И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ
И РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

1.5.4. Биохимия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Краснодар – 2026

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России).

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Быков Илья Михайлович

Официальные оппоненты:

Абаленихина Юлия Владимировна, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра биологической химии, заведующая кафедрой;

Селезнева Инна Александровна, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой, профессор кафедры.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится 01 декабря 2026 года в 12.00 час. на заседании диссертационного совета 21.2.014.02 на базе ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (350063, Краснодар, ул. Митрофана Седина, 4, тел. (861) 2627375).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и официальном сайте (<http://www.ksma.ru>) ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Автореферат разослан " ____ " _____ 2026 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета 21.2.014.02
доктор медицинских наук,
профессор



Лапина Наталья Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В структуре онкологических заболеваний значительная часть представлена злокачественными опухолями молочной железы. В 2021 году рак молочной железы (РМЖ) стал наиболее часто диагностируемым злокачественным новообразованием у женщин во всем мире и основной причиной смерти от рака среди женщин [Ferlay J., Colombet M., Soerjomataram I. et al., 2021; Sung H., Ferlay J., Siegel R.L. et al., 2021]. Заболеваемость РМЖ быстро растет в развитых странах [Sharma R., 2019]. За последние годы отмечен неуклонный рост РМЖ в России, который является одним из самых частых онкологических заболеваний, диагностируемых у женщин [Поддубная И.В., Колядина И.В., Калашников Н.Д. и др., 2015; Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В., 2017]. РМЖ представляет собой группу неопластических заболеваний, для которых характерна высокая внутриопухолевая и межопухолевая гетерогенность [C. Rossi, I. Cicalini, M.C. Cufaro et al., 2022]. В последние годы наблюдается рост знаний о раке, сопровождаемый развитием подходов, позволяющих реализовать персонифицированные терапевтические стратегии. Заболеваемость и смертность от РМЖ можно снизить, если население имеет доступ к ранней диагностике и эффективному лечению. Раннее выявление и диагностика в сочетании с эффективным лечением РМЖ является решающим фактором в улучшении выживаемости пациентов и не только улучшает терапевтические результаты, но и положительно влияет на психологические, экономические и социальные осложнения этого заболевания [Barba D., León-Sosa A., Lugo P. et al., 2021]. Современным трендом в диагностике РМЖ является разработка неинвазивных/малоинвазивных диагностических процедур. Чувствительный анализ, который легко и точно идентифицирует биомаркеры с использованием неинвазивно собранных клинических образцов, в том числе ротовой жидкости, оптимален для выявления и скрининга РМЖ.

Степень разработанности темы. Слюна или ротовая жидкость, содержащая большое количество биохимических и генетических биомаркеров, в сочетании с простотой сбора считается многообещающим биологическим материалом для раннего выявления заболеваний [Porto-Mascarenhas E.C., Assad D.X., Chardin H. et al., 2017]. Сообщается о широком спектре слюнных биомаркеров для выявления РМЖ [Streckfus C.F., Bigler L., Dellinger T. et al., 2019]. Bel'skaya L.V. et al., (2022) проанализировали более 30 биохимических показателей слюны при РМЖ и оценили их потенциальную значимость [Bel'skaya L.V., Sarf E.A., Solomatin D.V., Kosenok V.K., 2022]. Это исследование было одним из крупнейших и включало пациентов с ранними стадиями РМЖ. У пациентов с РМЖ зафиксировано снижение содержания общего белка в слюне (–40,7 %) с одновременным повышением уровня α -аминокислот. Отмечено увеличение активности метаболических ферментов ЛДГ, ЩФ, ГГТ и α -амилазы. На фоне снижения активности каталазы и содержания мочевой кислоты увеличилась доля токсичных продуктов перекисного окисления липидов и МДА. Assad D.X. et al. (2020) проанализировали концентрации СА15-3 в слюне и крови у пациенток с РМЖ с целью оценки новых диагностических подходов путем исследования СА15-3 в слюне [Assad D.X., Mascarenhas E.C.P., de Lima C.L., 2020]. Результаты показали,

что определение СА15-3 подтверждает присутствие данного онкомаркера в слюне и этот факт может быть полезен для будущих исследований [Assad D.X., Mascarenhas E.C.P., Normando A.G.C. et al., 2020]. Важность таких исследований устанавливает базовую основу и осуществимость саливадиагностики рака, а также устанавливает основу для продолжения исследований биомаркеров. Безусловно, не следует ожидать, что тесты на онкомаркеры на основе крови или слюны заменят стандартный скрининговый физический осмотр и маммографию. Тем не менее, можно полагать, что использование новых биохимических тестов потенциально может повысить способность обнаруживать РМЖ на ранней стадии, когда он все еще излечим с помощью существующих методов лечения.

Цель исследования – определить диагностическую ценность онкомаркеров и биомаркеров окислительного стресса в крови и ротовой жидкости при раке молочной железы в их взаимосвязи с генетическими изменениями, характерными для этой патологии.

Задачи исследования:

1. Исследовать взаимосвязь биохимических показателей сыворотки крови и ротовой жидкости у больных раком молочной железы, рассматриваемых в качестве маркеров заболевания, а также охарактеризовать содержание и корреляционную взаимосвязь сывороточного и слюварного паратгормон-родственного протеина в сравнении с данными контрольной группы в контексте потенциальной возможности его использования для диагностики рака молочной железы.
2. Исследовать состояние прооксидантно-антиоксидантной системы крови и ротовой жидкости для определения особенностей изменений показателей окислительного гомеостаза у пациенток с раком молочной железы.
3. Исследовать наличие генетических мутаций генов BRCA1 и BRCA2 методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени и проанализировать их взаимосвязь с особенностями изменений показателей окислительного гомеостаза у пациенток с раком молочной железы.
4. Определить корреляционные связи изученных биохимических показателей крови и ротовой жидкости и данных исследований генетических мутаций BRCA1 и BRCA2 в тех же биологических жидкостях с целью установления возможных новых лабораторных диагностических подходов при данной патологии.
5. Предложить алгоритм прогнозирования и лабораторной диагностики рака молочной железы на основании оценки корреляционной взаимосвязи профиля онкомаркеров, биохимических показателей окислительного гомеостаза и наличия генетически ассоциированных признаков исследуемой онкопатологии.

Научная новизна исследования. В исследовании впервые:

1. Изучены особенности диагностической значимости взаимосвязи биохимических онкомаркеров, в том числе паратгормон-родственного протеина в крови и ротовой жидкости при раке молочной железы.
2. Изучены особенности взаимосвязи онкомаркеров и генетических предикторов рака молочной железы в крови и ротовой жидкости.
3. Исследовано состояние баланса прооксидантно-антиоксидантной системы крови и ротовой жидкости при раке молочной железы и их взаимосвязь с наличием у пациенток генетических мутаций BRCA1 и BRCA2.

4. На основании анализа прямых маркеров окислительного стресса и наличия генетических мутаций предложен коэффициент, позволяющий прогнозировать 2-летнюю выживаемость больных раком молочной железы.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Теоретическая значимость работы заключается в выявлении особенностей биохимических изменений при раке молочной железы и взаимосвязи ряда диагностических показателей крови и ротовой жидкости. Практическая значимость работы заключается в выявлении состояния ряда биохимических показателей крови и слюны в их взаимосвязи с генетическими мутациями при раке молочной железы, которые позволяют обосновать дополнение стандартного перечня лабораторных исследований при данной патологии и внедрение в клинико-лабораторную практику разрабатываемого алгоритма диагностических исследований путем применения биохимического анализа состава ротовой жидкости. Это позволит повысить эффективность раннего выявления рака молочной железы и качество ведения больных с этим заболеванием.

Методология и методы исследования. Диссертационная работа имеет очевидную практическую направленность на получение научно обоснованных результатов, обобщение которых позволяет достигнуть цели и решить поставленные задачи. В качестве методологической основы данного исследования применен системный метод научного познания, отвечающий принципам комплексности, целостности, объективности, достоверности. Методология динамического, проспективного исследования, основанного на первичной информации, включала следующие зоны приложения: постановка проблемы (оценка взаимосвязи биохимических характеристик крови и ротовой жидкости у пациентов с РМЖ); интерпретация полученных результатов, характеризующая законченность и цельность исследования, с формированием новых подходов решения изучаемой проблемы.

Следуя дизайну работы, последовательно использовалась совокупность методов научного познания: общелогические, лабораторные, анализ литературных источников. Работа выполнена с использованием современных биохимических, молекулярно-генетических, клинических и иммунохимических методов, сбор и обработка полученных результатов проводился с использованием адекватных статистических методов. Все разделы проведенного исследования выполнены в соответствии с правилами и принципами доказательной медицины.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Повышение информативности лабораторного скрининга, мониторинга и прогнозирования рака молочной железы возможно путем использования констелляции биохимических показателей одновременного тестирования в крови и ротовой жидкости в рамках комбинированной диагностической панели, включающей как общеизвестные лабораторно-диагностические критерии РМЖ, так и новые эндогенные молекулярные паттерны, обладающие потенциальными возможностями рационального усовершенствования диагностических подходов при данной патологии.

2. Выявление мутации в гене BRCA1 в качестве маркеров генетических признаков, ассоциированных с РМЖ, в 100 % случаев продемонстрировало

совпадение результатов исследования периферической венозной крови и ротовой жидкости, что может стать предпосылкой для разработки эффективных тактик скрининговых и ранних диагностических исследований, включающих сочетание параллельных исследований слюны и крови.

3. Исследование биохимических показателей крови и слюны в их взаимосвязи с генетическими мутациями при раке молочной железы, позволяет обосновать дополнение стандартного перечня лабораторных исследований при данной патологии и внедрение в клинико-лабораторную практику разработанного алгоритма диагностики заболевания путем применения сочетанного биохимического анализа состава ротовой жидкости и периферической крови.

4. Перспективным онкомаркером при раке молочной железы является паратгормон-родственный протеин, концентрация которого статистически значимо увеличена у больных с впервые выявленным заболеванием не только в периферической крови, но и в ротовой жидкости.

Степень достоверности и апробации работы

Исследования выполнены на базе лаборатории кафедры фундаментальной и клинической биохимии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и клинико-диагностической лаборатории государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Клинический онкологический диспансер № 1» министерства здравоохранения Краснодарского края (ГБУЗ КОД № 1 МЗ КК) оснащенными всем необходимым современным оборудованием. Все научные положения, выводы и практические рекомендации, представленные в диссертационном исследовании, получены на основании анализа большого клинического материала с применением адекватных методов статистического анализа с помощью компьютерных программ AnalystSoft Inc., StatPlus – программа статистического анализа, версия 7, что обеспечило обоснованность и достоверность результатов работы. Обработку данных проводили с учетом проверки нормальности распределения выборок и использования непараметрических критериев.

Диссертационное исследование выполнено в рамках комплексной темы научно-исследовательской работы кафедры фундаментальной и клинической биохимии: № 121110900082-3 (2021–2026 гг.) «Исследование молекулярных механизмов патологических процессов в условиях коморбидных форм социально значимых заболеваний» в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Основные результаты выполненной диссертационной работы доложены и обсуждены на XII Съезде онкологов России (Самара, 2023 г.), IX Ежегодном конгрессе Российского общества специалистов по опухолям головы и шеи с международным участием (Москва, 2023 г.), VII международном форуме онкологии и радиотерапии (Москва, 2024), Форуме Онкологов ЮФО 2025 (Сочи, 2025 г.), II междисциплинарной научно-практической конференции «Организация оказания помощи онкологическим пациентам» (Краснодар, 2025 г.), VI международном форуме «Инновационная онкология 2025» (Москва, 2025 г.).

Соответствие диссертации научной специальности. Основные научные положения диссертации соответствуют п. 11 «Биохимические / метаболические / энергетические процессы в тканях и органах организма в норме и при патологии. Функциональная и клиническая метаболомика в норме и при патологии», п. 13 «Клиническая биохимия человека и животных» паспорта специальности 1.5.4. Биохимия.

Внедрение результатов исследования. Основные результаты диссертационного исследования, сформулированные в качестве практических рекомендаций, внедрены в лабораторную практику ГБУЗ «КОД № 1» МЗ КК. Ключевые теоретические положения, сформулированные в результате выполнения диссертации, внедрены в учебный процесс кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России и используются для чтения лекционного материала и проведения практических занятий по дисциплине «Клиническая биохимия». Система рекомендаций по разработке алгоритмов лабораторного прогнозирования исходов онкологических заболеваний внедрена и используется в центральной научно-исследовательской лаборатории и научно-технологическом центре биомедицины ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Личный вклад автора. Диссертантом разработан дизайн исследования (87 %), выполнен информационный поиск, включающий анализ отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационной работы (91 %), самостоятельно выполнены все экспериментальные и лабораторные исследования, проведена статистическая обработка данных (86 %). Соискателем сформулированы выводы, положения, выносимые на защиту, предложения для внедрения и практические рекомендации (89 %). Диссертант принимал непосредственное участие в написании статей (73 %) и тезисов (80 %), подготовил текст, таблицы и рисунки для диссертации (96 %).

Публикации по теме диссертации. Всего по материалам диссертационной работы опубликовано 12 научных работ, из которых 3 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним.

Структура и объем диссертационной работы. Диссертация изложена на 152 страницах машинописного текста и состоит из введения, пяти глав, заключения и списка литературы, иллюстрирована 14 таблицами и 13 рисунками. Указатель литературы содержит 213 источников, из которых 17 отечественных и 196 зарубежных авторов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящее исследование было включено 100 пациенток, средний возраст $42,4 \pm 4,5$ лет. Часть исследуемых лиц ($n = 50$) имели установленный диагноз рак молочной железы, которые проходили стационарное обследование и дальнейшее лечение в плановом порядке по медицинским показаниям. В иссле-

дование были включены женщины с впервые установленным диагнозом рак молочной железы: III стадии ($n = 19$) и IV стадии ($n = 31$). Диагноз был подтвержден гистологическими исследованиями (аденокарцинома). Кроме того, часть исследуемых ($n = 25$) были отнесены к группе лиц с подозрением на вероятность последующего возникновения онкопатологии молочных желез (группа риска). В данную группу были включены женщины, являющиеся родственниками больных РМЖ из основной группы исследования.

В контрольную группу ($n = 25$) были включены лица женского пола без онкопатологии и иных выявленных на момент исследования заболеваний. Всем участникам исследования, согласно Федеральному закону «Об основах охраны здоровья граждан Российской Федерации» от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ (глава 2, статья 13, п. 3) выдавалась памятка о проводимом исследовании и ими было подписано информированное согласие.

При поступлении в стационар у всех пациентов собирали анамнез, проводили общий осмотр, общие клинические и лабораторные методы исследования, специальные методы исследования. Проведение исследований было одобрено на заседании независимого этического комитета ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (протокол № 92 от 13.10.2020 г.) и было основано на должных этических принципах.

Все исследуемые были обследованы с использованием методов биохимической идентификации специфических онкомаркеров, показателей окислительного гомеостаза и наличия признаков, генетически ассоциированных с риском развития исследуемой онкопатологии. В сыворотке крови и ротовой жидкости колориметрическими методами определяли концентрацию общего билирубина, общего белка, мочевины, креатинина, глюкозы, общего холестерина, железа, калия, натрия, хлорид-ионов, С-реактивного белка, активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), альфа-амилазы. Для биохимических исследований использовали анализатор AU480 (Beckman Coulter, США).

Количественное определение концентрации раково-эмбрионального антигена (РЭА) в сыворотке крови и ротовой жидкости было выполнено методом хемилюминисцентного иммунного анализа с использованием системы иммунооценки Access (Beckman Coulter Access Immunoassay Systems, США) и комплекта реагентов Access CEA. Концентрацию антигена CA15-3 в исследуемых образцах биоматериала, определяли методом двухсайтного хемилюминисцентного иммунного анализа с использованием системы Access BR Monitor. Использовали комплект реагентов Access BR Monitor.

Определение концентрации паратгормон-родственного протеина (ПТГрП) человека в сыворотке крови и ротовой жидкости выполняли методом ИФА с использованием набора реагентов PTHrP Elise kit (BlueGene Biotech, Китай).

Для характеристики окислительного гомеостаза в крови и ротовой жидкости были определены: общая антиоксидантная активность, активность ферментов антирадикальной защиты (каталаза, ферменты метаболизма глутатиона – глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза), содержание восстановленной формы глутатиона, уровень белковых тиоловых групп, накопление продуктов окислительных

повреждений биомолекул (ТБК-реактивные продукты или малоновый диальдегид).

Для генетических исследований крови и ротовой жидкости использовали набор реагентов «ОнкоГенетика», использующих эффект флуоресценции, производства ООО «НПО ДНК-Технология» (Россия) для выделения ДНК из периферической крови и выявления наследственных мутаций 185delAG, 2080delA, 4153delA, 5382insC, с.3700_3704delGTAAA, с.3756_3759delGTCT, T300G в гене человека BRCA1 и 6174delT в гене человека BRCA2 методом ПЦР.

Для выполнения статистической обработки результатов исследования использовали AnalystSoft Inc., StatPlus. Для сравнения показателей использовали непараметрический критерий Краскела-Уоллиса. При условии обнаружения статистически значимых различий между группами в целом проводили попарные сравнения по критерию Манна-Уитни с поправкой на число попарных сравнений. Оценку взаимосвязи между признаками осуществляли через определение корреляции методом Пирсона. Для оценки диагностической значимости лабораторных тестов использовали ROC-анализ. Различия считали статистически значимыми при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение маркеров белкового (общий белок, мочевины, креатинин, билирубин), углеводного (глюкоза) и липидного (общий холестерин) обмена в сыворотке крови и ротовой жидкости больных РМЖ продемонстрировало практически полное соответствие нормальным значениям аналогичных показателей, характерных для контрольной группы. Концентрация общего холестерина в сыворотке крови была увеличена на 23 %, а содержание мочевины было увеличено на 55 % в смешанной слюне больных основной группы относительно контрольной группы.

На основе стандартных биохимических исследований может быть приведена интегральная оценка окислительного стресса. Chen L. и соавторами (2025) предложен коэффициент, основанный на измерении концентрации альбумина (ЧСА), прямого билирубина (ПБил) и мочевины (Моч) в крови:

$$\begin{aligned} \text{BCIOSS (breast cancer integrated oxidative stress score)} &= \\ &= 0,074 \times \text{ЧСА (г/л)} - 0,094 \times \text{ПБил (мкмоль/л)} - 0,099 \times \text{Моч (ммоль/л)}. \end{aligned}$$

На основе данного уравнения был оценен уровень окислительного стресса и в настоящем исследовании. Для здоровых пациентов контрольной группы коэффициент составил 2,88, для больных основной группы – 2,28. Согласно данным Chen L. и соавт., которые провели регрессионный анализ по фактору выживаемости пациентов с раком молочной железы, пациенты с уровнем $\text{BCIOSS} \leq 2,54$ могут быть отнесены к группе с низким уровнем интегративного показателя и худшими показателями 5-ти летней выживаемости. Таким образом, в настоящем исследовании средний уровень BCIOSS пациентов соответствует неблагоприятному прогнозу.

Определение минерального состава ротовой жидкости женщин с РМЖ оказалось более информативным, чем сыворотки крови, и продемонстрировало увеличенное значение концентрации ионов железа на 33 % и калия на 17 % в сравнении с аналогичными показателями контрольной группы. Это свидетельствует о деструктивных процессах в ротовой полости с высвобождением содержимого из разрушенных клеток в слюну.

Более интересные данные были получены в ходе определения активности ферментов в сыворотке крови и ротовой жидкости больных РМЖ. В крови больных основной группы активность ЛДГ была увеличена на 69 % в сравнении с контрольной группой, активность альфа-амилазы – на 65 %. В ротовой жидкости больных РМЖ активность ЛДГ была увеличена даже в большей степени, чем в крови – в 2,2 раза, активность аминотрансфераз была увеличена в 2,2–2,3 раза, ЩФ – в 4,7 раза. Прослеживается преобладание изменений в смешанной слюне над системными перестройками в крови. Наглядно зафиксировать изменения ферментов сыворотки крови больных основной группы можно сравнением коэффициента соотношения их значений с контрольной группой. Так, для ЛДГ соотношение активности в крови и слюне в контрольной группе составило 1,5 единицы, для АЛТ и АСТ – 2,9 и 3,5 соответственно, для ЩФ – 4,2. В основной группе пациенток соотношение активности ЛДГ на системном и местном уровнях составило 1,2 единицы, АЛТ – 1,2, АСТ – 1,5, ЩФ – 1,1.

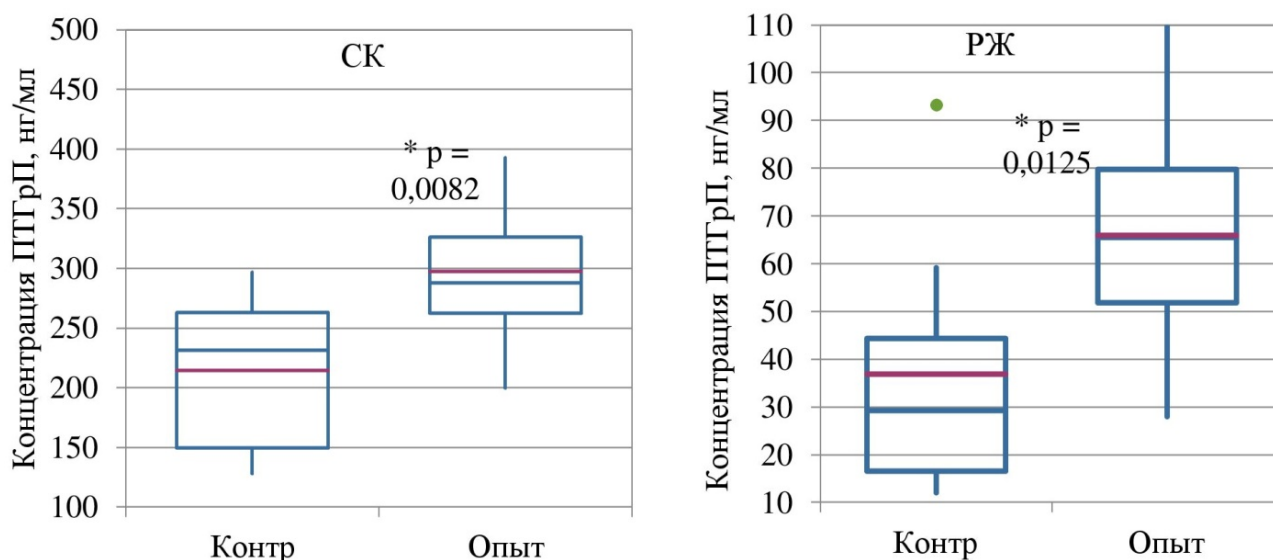
С учетом выявленных изменений ферментов цитолитического синдрома и в сыворотке крови, и в смешанной слюне, был проведен анализ корреляционных взаимосвязей показателей между этими двумя биологическими жидкостями. В основной группе женщин с РМЖ было установлено наличие положительной корреляции умеренной силы ($r = 6058$, $p < 0,001$) для активности ЛДГ и корреляции слабой силы ($r = 2430$, $p = 0,0245$) для активности ЩФ. ЛДГ, аминотрансферазы и ЩФ не являются специфическими маркерами онкопатологии, однако анализ активности ферментов-маркеров цитолиза в крови больных РМЖ имеет цель оценки общей тяжести патологического процесса, состояния внутренних органов и прогнозирования дальнейшего прогрессирования болезни и эндогенной интоксикации. Из литературных данных известно, что устойчиво высокий уровень внезапное повышение уровня ЛДГ в сыворотке после операции в течение шести месяцев или в течение длительного периода может указывать на плохой результат или метастазы (Agrawal A. et al., 2016). Анализ изменений активности этого фермента в ротовой жидкости потенциально может упростить задачу лабораторного мониторинга при аналогичной для сыворотки крови диагностической ценности.

В крови и ротовой жидкости больных раком молочной железы были определены следующие онкомаркеры: РЭА, СА125 (карбогидрат-антиген-125-онкомаркер яичников, СА15-3 (карбогидрат-антиген-15-3-онкомаркер молочной железы). Оценка изменений сывороточного уровня вышеперечисленных онкомаркеров показала слабо выраженную тенденцию к увеличению их концентрации. Так концентрация РЭА в крови больных раком молочной железы была увеличена на 47 % относительно контрольной группы, содержание СА125 было выше контрольного уровня на 58 %, а СА15-3 – на 39 %. Определение аналогичных биомаркеров в ротовой жидкости также показало увеличенные на

40–91 % их значения. Значимой корреляции между уровнем РЭА, СА125 или СА15-3 в сыворотке крови и ротовой жидкости выявлено не было, что при высоком уровне этих маркеров в слюне существенно ограничивает их диагностическое значение. Полученные данные согласуются с общепринятыми представлениями, широко обсуждаемыми в литературе [Zhan C.H., Liu G.J., 2023]. Так известно, что только 36–70 % случаев рака молочной железы имеют повышенный уровень РЭА в сыворотке крови. Имеет перспективу совместное определение нескольких показателей при раке молочной железы на ранней стадии, в частности показано повышение диагностической значимости параллельного определения сывороточного уровня α -гидроксибутиратдегидрогеназы, РЭА и СА125. Однако такой подход также имеет ограничения по интерпретации увеличенного количества данных и роста стоимости диагностики. Поэтому поиск новых более информативных онкомаркеров является актуальной задачей современной медицины и настоящего исследования.

Одним из наиболее перспективных направлений поиска новых онкомаркеров является анализ диагностической ценности паратгормон-родственного протеина (ПТГрП), в том числе при определении его концентрации в смешанной слюне. В опытной группе больных уровень анализируемого белка в сыворотке крови был на 25 % выше, чем в контрольной ($p = 0,0082$), в ротовой жидкости также были определены увеличенные его значения в 2,2 раза относительно контроля ($p = 0,0125$). Оценка уровня взаимосвязи между концентрацией ПТГрП в крови и ротовой жидкости у здоровых испытуемых лиц показала наличие положительной корреляционной связи, коэффициент корреляции составил 0,8011 ($p = 0,0303$), в опытной группе коэффициент корреляции составил 0,53 ($p = 0,0019$). Соотношение содержания ПТГрП на системном и местном уровнях в контрольной группе составила 7,9. Для основной группы больных этот коэффициент составил 4,4, что наглядно демонстрирует возрастание роли смешанной слюны в определении данного биомаркера при злокачественных новообразованиях молочной железы (рисунок 1).

Дополнительно были проведены молекулярно-генетические исследования мутаций в генах BRCA1 и BRCA2. Оригинальность исследования заключалась в использовании не только крови, но и ротовой жидкости в качестве биоматериала. В настоящей работе нами были получены данные, свидетельствующие о наличии следующих типов мутаций у испытуемых лиц основной группы: гетерозигота BRCA1:5382insC (12 % больных), гетерозигота BRCA1:2080delA (4 %), Гетерозигота T/G (Cys61Gly) BRCA1:300T>G (8 %), BRCA1:4153delA (4 %). Таким образом всего у 28 % больных РМЖ, включенных в исследование, были определены те или иные типы мутаций гена BRCA1 при анализе периферической крови. Лабораторные молекулярно-генетические исследования цельной смешанной слюны полностью подтвердили данные, полученные при анализе крови. Совпадение результатов анализа 2-х биологических жидкостей составило 100 %. С одной стороны, полученные результаты были вполне ожидаемы ввиду высокой специфичности и чувствительности молекулярно-генетических тестов. С другой стороны, любые аналитические лабораторные технологии не лишены погрешности и риска ошибок. Слюна имеет существенное преимущество в качестве источника ДНК, связанное с высокой стабильностью материала при хранении и транспортировке.



* – статистически значимые различия ($p < 0,05$) при сравнении со значением аналогичного маркера контрольной группы. Обозначения: СК – сыворотка крови, РЖ – ротовая жидкость.

Рисунок 1 – Концентрация паратгормон-родственного протеина в сыворотке крови и ротовой жидкости больных раком молочной железы ($Me(p_{0,25}/p_{0,75})$)

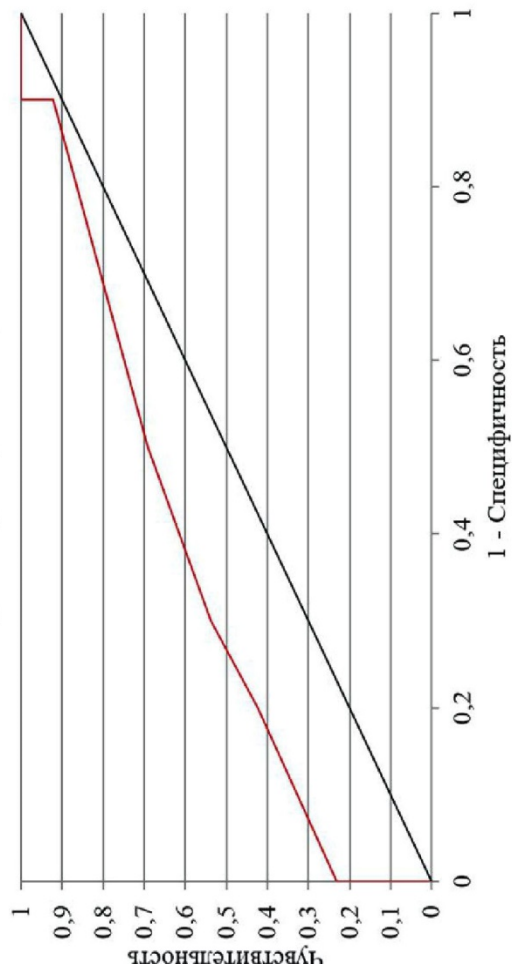
Для оценки диагностической ценности онкомаркеров был проведен анализ ROC-кривых, включая данные, полученные в группе больных и их родственников, которые обозначены как лица с высоким риском развития злокачественного новообразования молочной железы (рисунок 2). Высокая диагностическая ценность была показана для содержания всех 4-х изученных онкомаркеров в смешанной слюне и только для ПТГрП в сыворотке крови. Показатель AUC для РЭА в слюне составил 0,66 (70 % специфичность и 54 % чувствительность), для СА125 – 0,88 (100 % специфичность и 73 % чувствительность), для СА15-3 – 0,69 (100 % специфичность и 46 % чувствительность).

В случае анализа ПТГрП показатель AUC в слюне составил 0,80 (75 % специфичность и 82 % чувствительность), в сыворотке крови 0,82 (88 % специфичность и 64 % чувствительность). Традиционно требованиями к диагностическим тестам на опухолевые маркеры являются исключительно высокая специфичность ($> 95 \%$) и высокая чувствительность ($> 50 \%$), которым неидеально, но соответствуют показатели СА 125 в слюне и ПТГрП в сыворотке крови (рисунок 2).

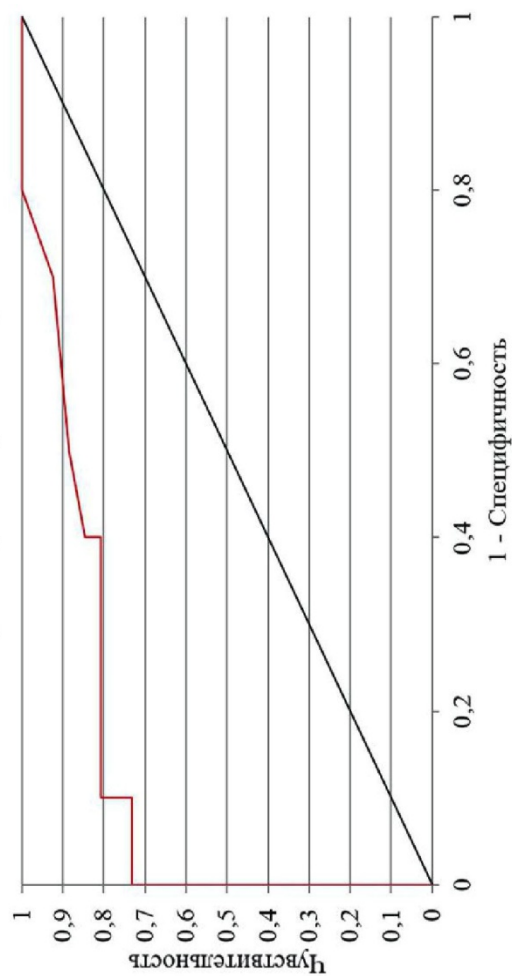
Метаболические нарушения, развивающиеся при злокачественных новообразованиях, характеризуются дисбалансом прооксидантно-антиоксидантной системы, что обуславливает направление анализа использования маркеров окислительного стресса в крови и слюне в лабораторном мониторинге РМЖ.

Определение концентрации ТБК-реактивных продуктов показало увеличенные значения данного маркера окислительного стресса в крови больных раком молочной железы на 25 %, а в ротовой жидкости – в 2,9 раза относительно значений показателя контрольной группы (рисунок 3). В плазме крови концентрация 8-OHdG была увеличена в 1,9 раза относительно контроля ($p < 0,001$), в

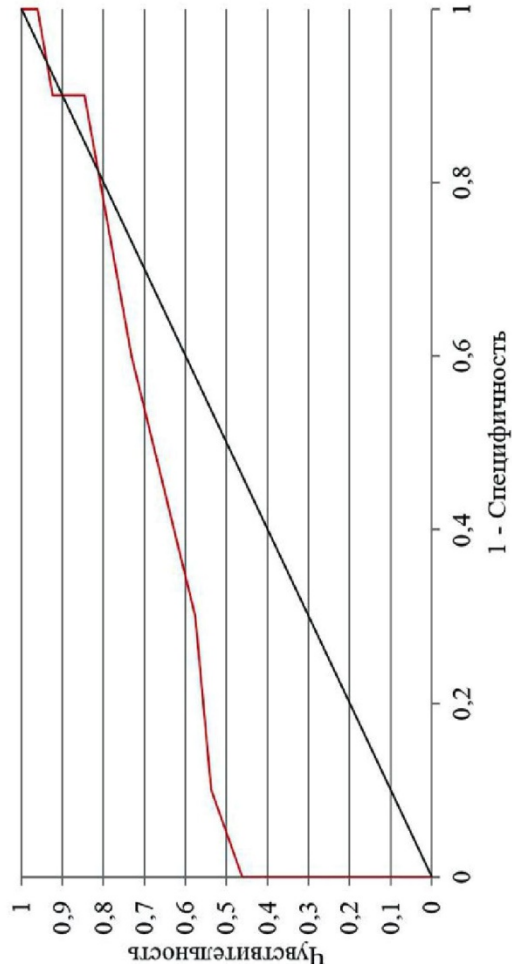
ROC-кривая (РЭА) AUC=0,660



ROC-кривая (CA125) AUC=0,879



ROC-кривая (CA15-3) AUC=0,688



ROC-кривая (ПГРП) AUC=0,803

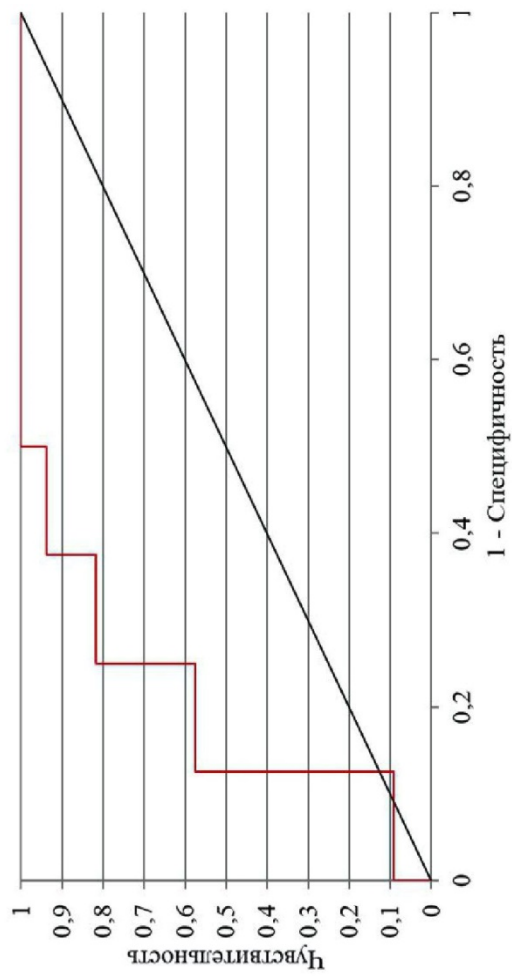
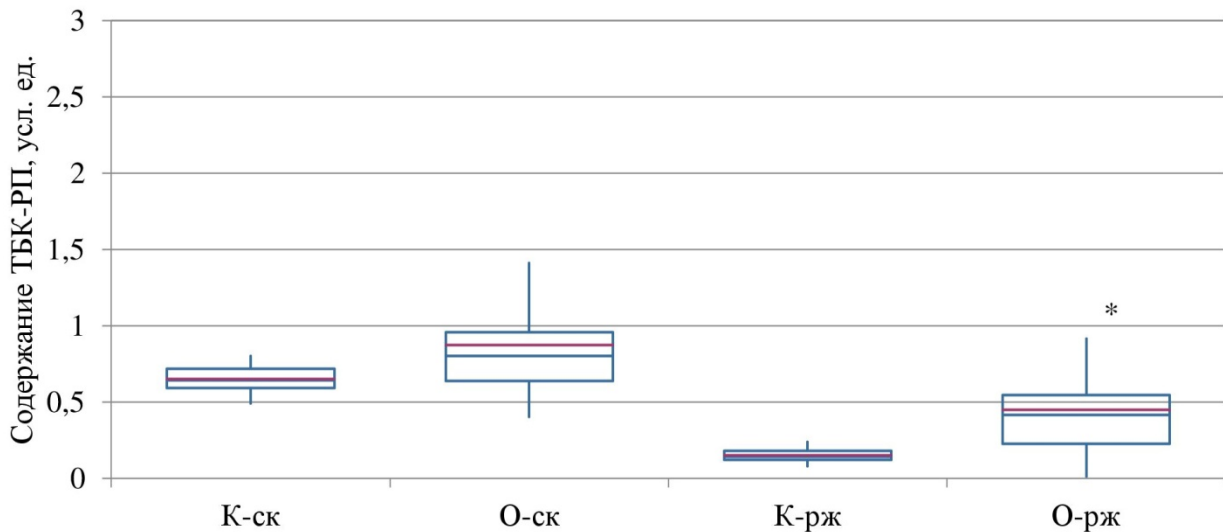


Рисунок 2 – ROC-кривые содержания онкомаркеров в ротовой жидкости испытуемых лиц подгрупп больных раком молочной железы и их здоровых родственников



* – статистически значимые различия ($p < 0,05$) при сравнении со значением аналогичного маркера контрольной группы. Сокращения: СК – сыворотка крови, РЖ – ротовая жидкость.

Рисунок 3 – Концентрация продуктов оксидативных модификаций биомолекул в эритроцитарной взвеси и ротовой жидкости больных раком молочной железы ($Me(p_{0,25}/p_{0,75})$)

ротовой жидкости анализируемый показатель превышал контрольные цифры всего на 14 % ($p = 0,1412$). В основной группе больных РМЖ интенсивное образование ТБК-реактивных продуктов и 8-OHdG способствовало увеличению их проникновения в жидкости полости рта, что отразилось на коэффициентах корреляции. Для ТБК-реактивных продуктов липопероксидации: $r = 0,3407$ ($p = 0,0430$), для 8-OHdG коэффициент составил $r = 0,4550$ ($p = 0,0215$), что характеризует связь умеренной силы.

Предполагается, что BRCA1 также участвует в регуляции окислительно-восстановительного гомеостаза клеток, поэтому отдельно были проанализированы маркеры в крови и ротовой жидкости больных РМЖ с мутациями BRCA1 или без. Оценка различий содержания ТБК-реактивных продуктов показала наличие статистически значимых различий данного маркера в крови больных основной группы, тогда как в смешанной слюне такой особенности выявлено не было. В эритроцитарной взвеси BRCA-положительных больных содержание ТБК-реактивных продуктов составило 0,93 (0,85/1,11) усл. ед., что на 46 % превышало значение аналогичного маркера больных, у которых мутаций в рассматриваемом гене выявлено не было. Определение в аналогичных подгруппах содержания продукта оксидативных повреждений ДНК продемонстрировало наличие различий в крови, но не в ротовой жидкости. Концентрация 8-OHdG в крови BRCA-положительных пациенток составила 51,7 (44,8/57,3) нг/мл и была на 38 % выше, чем в подгруппе больных РМЖ без мутаций в гене BRCA1. Полученные данные объясняют сравнительно небольшую разницу уровня продуктов липопероксидации в крови больных РМЖ и испытуемых добровольцев контрольной группы гетерогенностью основной группы. Детальный анализ с учетом молекулярно-генетических факторов в группе больных РМЖ уже позволяет получить более объективную информацию.

В эритроцитарной взвеси больных раком молочной железы были определены маркеры функционального состояния эндогенной системы антиоксидантной защиты. Оценка общей антиоксидантной активности, определяемой железо-восстанавливающим способом, показала сниженные ее значения в биологических жидкостях больных РМЖ. В сыворотке крови женщин основной группы данный показатель был снижен в 2,2 раза, в ротовой жидкости – на 61 % при сравнении с контрольными значениями соответствующих показателей. Антирадикальная способность сыворотки крови больных РМЖ была снижена на 25 % на системном уровне, а в ротовой жидкости – в 2,4 раза.

Корреляционный анализ лабораторных показателей основной группы больных РМЖ подтвердил высокую информативность саливадиагностики функционального состояния системы антиоксидантной защиты. Коэффициент корреляции при сравнении общей антиоксидантной активности (железо-восстанавливающий способ определения) плазмы крови и слюны составил $r = 0,6082$ ($p = 0,0078$). Для антирадикальной активности в основной группе женщин был определен коэффициент корреляции умеренной силы $r = 0,5206$ ($p = 0,0090$).

Определение железо-восстанавливающей способности плазмы крови больных РМЖ не продемонстрировало какого-то значимого влияния наличия мутаций в гене BRCA. Как в крови, так и в ротовой жидкости обеих подгрупп основной группы статистически значимых различий значений анализируемого показателя выявлено не было. Оценка антирадикальной активности плазмы крови методом с поглощением радикала ABTS оказалась более чувствительной к наличию мутаций в гене BRCA. Для плазмы крови BRCA-положительных пациентов с РМЖ был характерен уровень антирадикальной активности (0,45 (0,34/0,52) мМ), сниженный на 62 % относительно данных (0,72 (0,58/0,74) мМ) подгруппы больных, у которых мутаций выявлено не было.

Было установлено сниженное содержание глутатиона в эритроцитарной взвеси женщин с РМЖ на 22 % относительно нормального значения, определенного у практически здоровых женщин. В ротовой жидкости женщин основной группы содержание глутатиона было снижено на 16 %. Определение концентрации глутатиона у больных подгрупп, разделенных по принципу наличия / отсутствия мутаций гена BRCA, подтвердило влияние этого фактора на показатель эритроцитарной взвеси. В ситуации наличия мутаций в гене BRCA концентрация глутатиона в крови (1,84 (1,74/2,01) мкмоль/л) была на 22 % ниже, чем в подгруппе больных РМЖ без мутаций соответствующего гена. В ротовой жидкости больных основной группы различий выявлено не было.

Установлено сниженное общее содержание SH-групп в плазме крови женщин основной группы на 40 %. В контрольной группе распределение легко- и труднодоступных тиоловых групп составило 0,35 (0,32/0,42) при расчете их соотношения. В основной группе больных РМЖ данный коэффициент был статистически значимо увеличен в 6,1 раза и составил 2,15 (1,54/2,78). Внутригрупповых различий в содержании тиоловых групп в плазме крови больных РМЖ в зависимости от наличия мутаций в гене BRCA выявлено не было.

Каталазная активность крови больных РМЖ оказалась увеличенной на 19 % относительно контрольных значений, полученных у практически здоровых жен-

щин 1 группы. В ротовой жидкости женщин основной группы наоборот активность каталазы была снижена в 2,5 раза. Высокая вариабельность ферментативного звена позволила выявить разнонаправленные изменения в биологических жидкостях больных РМЖ, что может быть характерно для разных стадий или степеней компенсации окислительного стресса. Изменения активности глутатионпероксидазы были противоположны изменениям каталазной активности: в крови женщин основной группы было зарегистрировано снижение активности фермента в 4,4 раза, в ротовой жидкости активность глутатионпероксидазы была увеличена в 1,9 раза относительно контрольной группы. Оценка активности ферментов антиоксидантной защиты (каталазы и глутатионпероксидазы) в крови и ротовой жидкости больных РМЖ в зависимости от наличия / отсутствия мутаций в гене BRCA не позволила выявить внутригрупповые статистически значимые различия.

Представленные данные продемонстрировали развитие окислительного стресса с дисбалансом про- / антиоксидантных факторов в крови и ротовой жидкости больных РМЖ. Сам по себе установленный патологический процесс выявлен не впервые, однако в работе доказана возможность частичной замены инвазивного забора крови неинвазивным сбором смешанной слюны. Это подтверждено наличием статистически значимых изменений общей антиоксидантной активности, содержания ТБК-реактивных продуктов и 8-OHdG на местном уровне и статистически значимой корреляцией таких изменений в слюне с дисбалансом окислительного гомеостаза в крови. Оценка тиолового звена и ферментов антиоксидантной системы при этом полностью не выпадает из диагностического процесса, но в большей степени обеспечивает уточнение степени компенсации или тяжести окислительного стресса в полости рта.

С целью создания прогностической модели выживаемости больных раком молочной железы был проведен анализ влияния на данную клиническую характеристику изученных биохимических показателей, описанных выше. Анализ был построен по классической схеме с применением однофакторного и многофакторного регрессионного метода. Включение в однофакторный анализ общеклинических биохимических показателей, а также онкомаркеров позволило установить статистически значимое влияние исходного уровня мочевины с данными двухлетней выживаемости больных. Остальные лабораторные биохимические характеристики при определении на этапе постановки диагноза не оказывали влияние на дальнейшее течение патологического процесса и его результат. Сильная зависимость была установлена между выживаемостью больных и наличием мутаций гена BRCA1.

Для анализа влияния исходного состояния окислительных нарушений на выживаемость больных раком молочной железы были проанализированы прямые маркеры состояния системы антиоксидантной защиты и свободнорадикальных повреждений биомолекул. Из всего перечня лабораторных маркеров окислительного стресса для 2-х была выявлена статистически значимая взаимосвязь с двухлетней выживаемостью больных. Эти показатели – железовосстанавливающая способность и уровень тиоловых групп плазмы крови, которые также хорошо коррелируют друг с другом.

Многофакторный анализ был основан на введении показателей, которые продемонстрировали статистически значимое влияние на двухлетнюю выжива-

емость пациенток с раком молочной железы при однофакторном анализе. Таким образом были проанализированы: мочеви́на, общая антиоксидантная активность, тиоловые группы плазмы крови и наличие мутаций гена BRCA1. Методом подбора была получена оптимальная комбинация факторов: мутации BRCA1 и общая антиоксидантная активность. Характеристики многофакторного анализа для данной комбинации представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Регрессионные модели Кокса по данным многофакторного анализа

Маркер	β	Отношение рисков (HR)	p
Наличие мутаций BRCA1	2,17	8,74	0,0069
ОАОА	-7,14	0,001	0,0339

Таким образом, для прогноза выживаемости больных раком молочной железы в течение 2 лет можно использовать уравнение (1):

$$X = -2,17 \times \text{Мутации BRCA1} + 7,14 \times \text{ОАОА}, \quad (1)$$

где наличие мутаций в гене BRCA1 кодируется «1», отсутствие «0»; уровень антиоксидантной активности выражается в mM аскорбиновой кислоты, принятой за стандарт.

Больные основной группы были стратифицированы в соответствии с уровнем риска по данным предложенного выше уравнения. Анализ ROC-кривой (рисунок 4) для больных раком молочной железы продемонстрировал высокую диагностическую ценность разработанного коэффициента, характеризующуюся показателем AUC 0,852 с высокими значениями специфичности (88 %) и чувствительности (94 %) теста при пороговом значении 3,55. Значения ниже 3,55 были приняты соответственно за высокий уровень риска летальности.

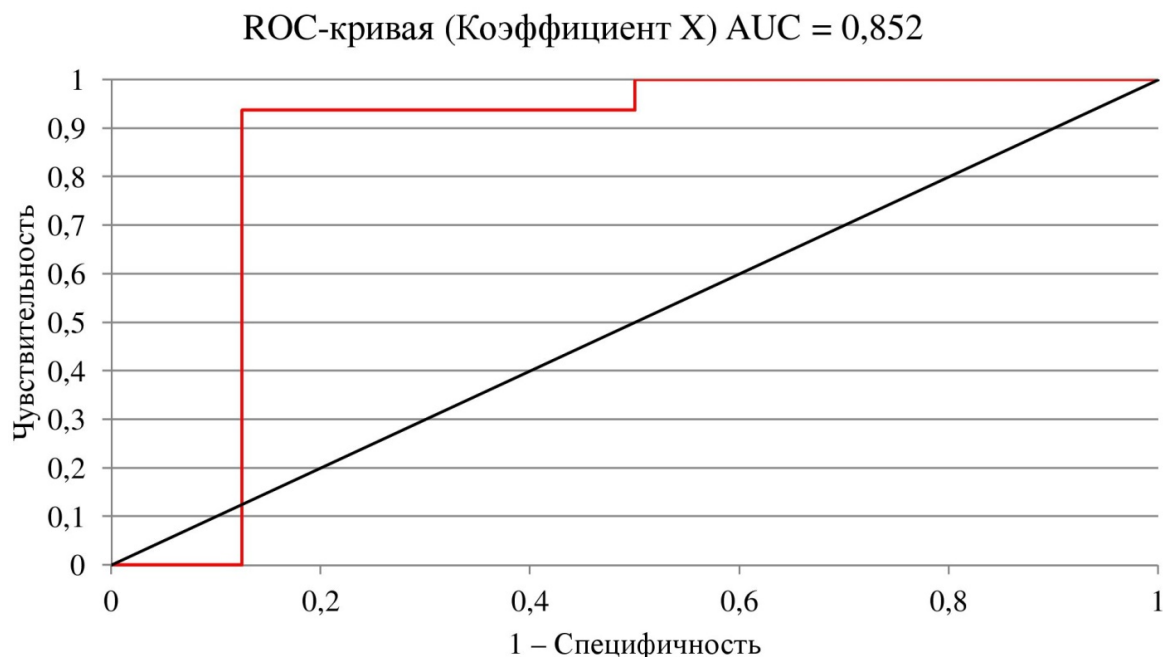


Рисунок 4 – ROC-кривая расчетного коэффициента выживаемости больных раком молочной железы в течение 2 лет (AUC = 0,852)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований были получены данные, свидетельствующие о возможности совершенствования лабораторной диагностики РМЖ на основе сочетанного применения анализа патобиохимических биомаркеров крови и ротовой жидкости как для ведения пациентов с установленным диагнозом, так и у лиц группы риска развития этой онкопатологии. Биомаркеры слюны обладают дискриминационной способностью распознавать РМЖ, обладая высокой специфичностью и чувствительностью, что прокладывает путь к проверке достоверности модели прогнозирования. Универсального диагностического показателя или комбинации дополнительных критериев выявления РМЖ не существует, что связано со значительной гетерогенностью заболевания.

Полученные результаты свидетельствуют, что исследование содержания ПТГрП в сыворотке крови и РЖ является потенциально возможным инструментом для раннего обнаружения онкопатологии молочной железы, что соответствует существующим в современной литературе представлениям о непосредственном участии этого мультипотентного белка в онкогенезе РМЖ и может предоставить потенциально значимую диагностическую и прогностическую информацию. Для оптимизации проведения лабораторного мониторинга, в частности в послеоперационном периоде для контроля ремиссии и рецидивирования, целесообразным является определение активности ЛДГ в ротовой жидкости.

Полученные данные продемонстрировали развитие окислительного стресса с дисбалансом прооксидантных и антиоксидантных факторов в крови и ротовой жидкости больных РМЖ. Сам по себе установленный патологический процесс выявлен не впервые, однако в работе доказана возможность частичной замены инвазивного забора крови неинвазивным сбором смешанной слюны. Это подтверждено наличием статистически значимых изменений общей антиоксидантной активности, содержания ТБК-реактивных продуктов и 8-OHdG и корреляцией таких изменений в слюне с дисбалансом окислительного гомеостаза в крови. Оценка тиолового звена и ферментов антиоксидантной системы при этом полностью не выпадает из диагностического процесса, но в большей степени обеспечивает уточнение степени компенсации или тяжести окислительного стресса в полости рта. Анализ маркеров окислительного стресса крови и наличия мутаций в гене BRCA1 позволил построить простую, но высокоинформативную математическую модель прогнозирования выживаемости больных раком молочной железы в течение 2 лет.

ВЫВОДЫ

1. Установлено наличие статистически значимой корреляции активности ЛДГ ($r = 0,6058$, $p < 0,001$) и ЩФ ($r = 0,2430$, $p = 0,0245$) в периферической крови и ротовой жидкости больных раком молочной железы. В смешанной слюне таких больных активность ЛДГ, ЩФ и аминотрансфераз увеличивается в большей степени, чем в крови, что особенно с учетом корреляции является ценным инструментом для лабораторного мониторинга.

2. Установлена ограниченная диагностическая ценность определения традиционных онкомаркеров (РЭА, СА125, СА15-3) в сыворотке крови у боль-

ных с впервые выявленным раком молочной железы. Более перспективным является анализ содержания ПТГрП, концентрация которого в сыворотке крови была увеличена на 22 %, а в ротовой жидкости в 2,2 раза ($r = 0,53$, $p = 0,0019$). На основании анализа ROC-кривых доказана высокая диагностическая эффективность использования ротовой жидкости в качестве неинвазивной платформы для скрининга: определение уровня СА125 в слюне обладает оптимальным балансом диагностической силы (показатель AUC = 0,88; специфичность 100 %, чувствительность 73 %), определение уровня ПТГрП в сыворотке крови характеризуется высокой воспроизводимостью и информативностью (показатель AUC = 0,82; специфичность 88 %, чувствительность 64 %).

3. Корреляционный анализ лабораторных показателей больных раком молочной железы подтвердил высокую информативность саливадиагностики функционального состояния системы антиоксидантной защиты. Изменения маркеров окислительного гомеостаза свидетельствовали о развитии окислительного стресса, а коэффициенты корреляции между показателями крови и смешанной слюны составили: для железо-восстанавливающей способности $r = 0,6082$ ($p = 0,0078$), антирадикальной активности $r = 0,5206$ ($p = 0,0090$), ТБК-реактивных продуктов $r = 0,3407$ ($p = 0,0430$), концентрации 8-OHdG $r = 0,4550$ ($p = 0,0215$).

4. Исследование мутации в генах BRCA1 и BRCA2 в качестве маркеров генетических признаков, ассоциированных с РМЖ показало в 100 % случаев совпадение результатов исследования периферической венозной крови и ротовой жидкости.

5. Мутации в гене BRCA1 оказывают одно из ведущих влияний на развитие и выраженность окислительного стресса у больных раком молочной железы. Концентрация 8-OHdG в крови BRCA-положительных пациенток была на 38 % выше, ТБК-реактивных продуктов на 46 % выше, уровень антирадикальной активности на 62 % ниже, концентрация глутатиона на 22 % ниже в сравнении со значениями соответствующих показателей в подгруппе больных без мутаций в гене BRCA1. Выявленные особенности биохимических показателей крови и ротовой жидкости при раке молочной железы позволяют обосновать целесообразность персонифицированных диагностических подходов при данной патологии.

6. При исследовании особенностей нарушений окислительного гомеостаза у больных раком молочной железы у BRCA-положительных пациентов и больных без мутаций данного гена обнаруживаются статистически значимые различия маркеров крови, тогда как ротовая жидкость обладает существенно меньшим потенциалом для персонифицированной диагностики, хотя и позволяет установить окислительный стресс в сравнении с условной нормой, характерной для здоровых добровольцев.

7. На основании регрессионного анализа разработана математическая модель прогнозирования двухлетней выживаемости больных раком молочной железы. Определена оптимальная комбинация прогностических факторов, включающая генетический показатель и маркер антиоксидантного статуса. На основе данных факторов получено прогностическое уравнение: $X = -2,17 \times \text{МутацииBRCA1} + 7,14 \times \text{ОАОА}$, где наличие мутации в гене BRCA1 кодируется как «1», отсутствие — «0»; показатель ОАОА выражается в мМ аскорбиновой кислоты. Проведенный ROC-анализ подтвердил высокую чувствительность (94 %) и специфичность (88 %) разработанной модели. Значения коэф-

фициента ниже 3,55 классифицируются как высокий риск летального исхода в течение двух лет.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При проведении лабораторного мониторинга активности ЛДГ, ЩФ, маркеров окислительного гомеостаза, онкомаркеров, в особенности ПТГрП, у больных раком молочной железы возможно использование смешанной слюны в качестве биожидкости, диагностическая ценность которой равноценна периферической крови.

2. С целью лабораторного скрининга, диагностики, прогнозирования и мониторинга рака молочной железы целесообразно использовать алгоритм, основанный на определении биохимических показателей крови и ротовой жидкости, профиля онкомаркеров, статуса прооксидантно-антиоксидантной системы и генетически ассоциированных признаков исследуемой онкопатологии. Алгоритм позволяет обосновать дополнение стандартного перечня лабораторных исследований при РМЖ путем биохимического анализа состава ротовой жидкости. Внедрение в клиничко-лабораторную практику предложенного алгоритма диагностических исследований позволит повысить эффективность раннего выявления рака молочной железы и качество ведения больных с этим заболеванием.

3. Для персонализированной стратификации больных и своевременной коррекции терапии больных с первично выявленным раком молочной железы целесообразно прогнозирование 2-летней выживаемости с использованием предложенной математической модели (чувствительность 94 %, специфичность 88 %): $X = -2,17 \times \text{МутацииBRCA1} + 7,14 \times \text{ОАОА}$, где наличие мутации в гене BRCA1 кодируется как «1», отсутствие – «0»; показатель ОАОА выражается в мМ аскорбиновой кислоты.

Значения коэффициента ниже 3,55 классифицируются как высокий риск летального исхода в течение двух лет.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Полученные в ходе диссертационного исследования результаты открывают ряд перспективных направлений для дальнейших фундаментальных и прикладных разработок в области молекулярной онкологии, биологической химии, молекулярной генетики и персонализированной терапии:

1. Разработка и валидация неинвазивных диагностических тест-систем на основе саливадиагностики. Учитывая стопроцентную конкордантность результатов детекции мутаций генов BRCA1 и BRCA2 в крови и ротовой жидкости, а также высокую диагностическую ценность саливарного CA125 (показатель AUC 0,88) и ПТГрП, перспективной задачей является создание мультимаркерных диагностических панелей на основе ротовой жидкости. Разработка стандартизированных тест-систем для неинвазивного скрининга РМЖ позволит существенно снизить лучевую и инвазивную нагрузку на пациенток, а также сделать массовый скрининг в группах высокого риска более доступным.

2. Лабораторный мониторинг эффективности терапии. Выявленная сильная корреляция активности ЛДГ и ЩФ в крови и слюне больных РМЖ обосновывает целесообразность проведения лонгитюдных исследований. Перспективным направлением является изучение динамики ферментативного профиля и маркеров окислительного стресса в ротовой жидкости в процессе химиотерапии, лучевой и таргетной терапии. Это позволит оценивать метаболический ответ опухоли на лечение, прогнозировать развитие резистентности и выявлять ранние признаки системной токсичности (например, кардио- и гепатотоксичности химиопрепаратов) неинвазивным способом.

3. Фундаментальные исследования связи мутаций гена BRCA1 и системного окислительного стресса. Обнаруженные выраженные различия в интенсивности свободнорадикальных процессов у BRCA-положительных и BRCA-отрицательных пациенток определяют направление фундаментальных исследований. Перспективным является изучение молекулярных путей, связывающих дефекты репарации ДНК (обусловленные мутацией гена BRCA1) с митохондриальной дисфункцией и истощением пула глутатиона. Понимание этих механизмов позволит разработать новые схемы персонализированной антиоксидантной терапии для пациенток с наследственными формами РМЖ.

4. Цифровизация и масштабирование прогностической модели. Разработанное прогностическое уравнение двухлетней выживаемости, обладающее высокой чувствительностью и специфичностью, имеет высокий потенциал для клинического внедрения. Дальнейшая разработка темы предполагает: 1) валидацию данной математической модели в рамках многоцентровых клинических исследований на более крупных выборках пациенток; 2) интеграцию уравнения в цифровые системы поддержки принятия врачебных решений в виде программных модулей или мобильных приложений для практикующих онкологов, что позволит проводить автоматическую стратификацию больных по группам риска сразу при постановке диагноза; 3) модификацию модели путем включения дополнительных клинико-лабораторных параметров для прогнозирования пятилетней и десятилетней выживаемости.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Случай первично-множественного метакронного рака молочной железы и рака маточной трубы при наличии герминальной мутации BRCA1 / А.И. Стукань, **А.С. Шатохина**, Е.М. Мамаева [и др.] // Сборник научных работ III Петербургского Международного онкологического форума «Белые ночи 2017», Санкт-Петербург, 22–24 июня 2017 года / ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России. – Санкт-Петербург : АННМО «Вопросы онкологии», 2017. – С. 76b–76.

2. Эффективность и безопасность эрибулина при HER2-отрицательном метастатическом раке молочной железы: данные многолетнего опыта из реальной клинической практики в России / В.А. Горбунова, И.В. Колядина, **А.С. Шатохина** [и др.] // Современная онкология. – 2019. – Т. 21. – № 1. – С. 12–23. – URL : <https://doi.org/10.26442/18151434.2019.1.190250>

3. Существующие и потенциальные возможности саливадиагностики рака молочной железы / **А.С. Шатохина**, И.М. Быков, Е.Ф. Филиппов, А.Н. Курзанов // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2021. – Т. 11. – № 2. – С. 106–114. – URL : <https://doi.org/10.37279/2224-6444-2021-11-2-106-114>
4. Значение герминальной BRCA-мутации при формировании опухолевого микроокружения. Эффективность PARP-ингибирования в поздней линии терапии метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы / А.И. Стукань, А.Ю. Горяйнова, **А.С. Шатохина** [и др.] // Онкоурология. – 2021. – Т. 17. – № 3. – С. 85–94. (**МБД Scopus**)
5. Современные представления о взаимосвязи паратгормон-родственного протеина и рака молочной железы / А.Н. Курзанов, И.М. Быков, **А.С. Шатохина** [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2021. – № 6. – С. 144. – URL : <https://doi.org/10.17513/spno.31284>
6. Роль паратгормон-родственного протеина в диагностике и прогнозировании развития рака молочной железы / **А.С. Шатохина**, И.М. Быков, Е.Ф. Филиппов [и др.] // Инновационная медицина Кубани. – 2022. – Т. 7. – № 3. – С. 79–86. – URL : <https://doi.org/10.35401/2541-9897-2022-25-3-79-86>
7. Роль гена BRCA1, ассоциированного с раком молочной железы в модуляции оксидативного гомеостаза / **А.С. Шатохина**, И.М. Быков, К.А. Попов [и др.] // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2023. – Т. 13. – № 3. – С. 73–80. (**Перечень ВАК**)
8. Возможности и перспективы генетических исследований слюны для скрининга и ранней диагностики рака молочной железы / **А.С. Шатохина**, И.М. Быков, К.А. Попов [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2024. – № 3. – С. 108. – URL : <https://doi.org/10.17513/spno.33406>
9. Гуморальная гиперкальциемия злокачественных новообразований / А.А. Опацкий, **А.С. Шатохина**, Н.В. Смоленская [и др.] // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2024. – № 5. – С. 17–26.
10. Опыт использования генетических исследований слюны для ранней диагностики рака молочной железы / **А.С. Шатохина**, И.М. Быков, К.А. Попов, М.Г. Леонов // Эффективная фармакотерапия. – 2024. – Т. 20. – № 36. – С. 6–11. – URL : <https://doi.org/10.33978/2307-3586-2024-20-36-6-11>
11. Генетические исследования крови и ротовой жидкости у женщин с BRCA-мутацией, больных раком молочной железы, и их родственников / **А.С. Шатохина**, М.Г. Леонов, С.Д. Белоусова [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2025. – Т. 21. – № 9. – С. 36–38. – URL : <https://doi.org/10.33978/2307-3586-2025-21-9-36-38>
12. **Шатохина, А.С.** Анализ биохимического профиля для прогнозирования клинических результатов у больных раком молочной железы / **А.С. Шатохина**, Е.Ф. Филиппов, Д.А. Любченко // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2025. – Т. 15. – № 4. – С. 70–75. – URL : <https://doi.org/10.29039/2224-6444-2025-15-4-70-75>. (**Перечень ВАК, К3**)

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ	– аланинаминотрансфераза
АСТ	– аспартатаминотрансфераза
ЛДГ	– лактатдегидрогеназа
ОАОА	– общая антиоксидантная активность
ПТГрП	– паратгормон-родственный протеин
РМЖ	– рак молочной железы
РЭА	– раково-эмбриональный антиген
СА125	– карбогидрат-антиген-125
СА15-3	– карбогидрат-антиген-15-3
ТБКРП	– продукты реакции с тиобарбитуровой кислотой
ЩФ	– щелочная фосфатаза
8-OHdG	– 8-ОН-дезоксигуанозин
AUC	– площадь под кривой
BRCA	– ген рака молочной железы

Научное издание

Шатохина Алина Станиславовна

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Подписано в печать 25.09.2026.

Печать трафаретная. Формат 60×84 ¹/₁₆

Усл. печ. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ № 2687

Отпечатано в ООО «Издательский Дом – Юг».

350010, г. Краснодар, ул. Зиповская, 9, литер «Г», оф. 41/3,

Тел. +7(918) 41-50-571

e-mail: id-yug@id-yug.com Сайт: <https://id-yug.com>