

© Коллектив авторов, 2020

Ю.А. ДЕРГУНОВА<sup>1</sup>, В.К. БОЖЕНКО<sup>2,3</sup>, В.В. РОДИОНОВ<sup>2</sup>,  
В.В. КОМЕТОВА<sup>2</sup>, М.В. МАКАРОВА<sup>3</sup>, Л.А. АШРАФЯН<sup>2</sup>

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА МЕТАСТАТИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ РЕГИОНАРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

<sup>1</sup>ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер», Ульяновск, Россия

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова», Москва, Россия

<sup>3</sup>ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России, Москва, Россия

**Цель.** Выявить молекулярно-генетические факторы прогноза метастатического поражения регионарных лимфатических узлов при раке молочной железы (РМЖ) на основании анализа профиля экспрессии генов первичной опухоли.

**Материалы и методы.** В исследование включены 200 пациенток с морфологически верифицированным уницентрическим инвазивным РМЖ T1-4N0-3M0, прошедшие лечение в ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер» г. Ульяновска в период с 2012 по 2015 г. Молекулярно-генетическое исследование опухолевой ткани проводили с применением методики полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР); диагностическая панель состояла из 28 функциональных генов.

**Результаты.** Первичная опухоль молочной железы в группе пациенток с метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов характеризуется повышенной пролиферативной активностью с учетом экспрессии гена Ki-67 ( $p=0,028$ ), а также повышенным уровнем мРНК генов NAT ( $p=0,039$ ) и CD68 ( $p<0,001$ ) на фоне снижения экспрессии PTEN ( $p<0,001$ ) и пониженной экспрессии гена ESR1 ( $p=0,043$ ). По результатам дискриминантного анализа точность предсказания наличия или отсутствия метастатического поражения регионарных лимфатических узлов на основании молекулярно-генетического исследования первичной опухоли с применением экспрессионной панели из 7 генов составила 91,9 и 78,8% соответственно.

**Заключение.** Проведение молекулярно-генетического исследования ткани первичной опухоли молочной железы с включением набора из 7 генов (PTEN, CD68, CCNB1, MGB1, MYC, BCL2, ESR1) может стать дополнительным диагностическим инструментом для оценки наличия метастатического поражения лимфатических узлов при планировании объема аксиллярной лимфодиссекции у пациенток с РМЖ.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, молекулярно-генетические факторы прогноза, профиль экспрессии генов, мРНК, лимфодиссекция, локальный рецидив, лимфогенное метастазирование, дискриминантный анализ.

**Вклад авторов.** Родионов В.В., Боженко В.К., Ашрафян Л.А.: концепция и дизайн исследования; Дергунова Ю.А.: сбор и обработка материала; Боженко В.К., Дергунова Ю.А., Макарова М.В.: статистическая обработка данных; Дергунова Ю.А.: написание текста; Родионов В.В., Кометова В.В., Боженко В.К., Ашрафян Л.А.: редактирование.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания «Персонификация хирургического лечения больных раком молочной железы с использованием математической модели оценки индивидуального риска регионарного метастазирования» (номер государственного учёта НИОКТР АААА-А18-118053190016-7 от 31.05.2018 г.).

Для цитирования: Дергунова Ю.А., Боженко В.К., Родионов В.В., Кометова В.В., Макарова М.В., Ашрафян Л.А. Молекулярно-генетические факторы прогноза метастатического поражения регионарных лимфатических узлов у больных раком молочной железы. Акушерство и гинекология. 2020; 3:141-7. <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.3.141-147>

YU.A. DERGUNOVA<sup>1</sup>, V.K. BOZHENKO<sup>2,3</sup>, V.V. PODIONOV<sup>2</sup>,  
V.V. KOMETOVA<sup>2</sup>, M.V. MAKAROVA<sup>3</sup>, L.A. ASHRAFYAN<sup>2</sup>

## MOLECULAR GENETIC PROGNOSTIC FACTORS FOR METASTATIC REGIONAL LYMPH NODE INVOLVEMENT IN BREAST CANCER PATIENTS

<sup>1</sup>Regional Clinical Oncology Dispensary, Ulyanovsk, Russia

<sup>2</sup>Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

<sup>3</sup>Russian Research Center of Roentgenology and Radiology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

**Objective.** To identify molecular genetic prognostic factors for metastatic regional lymph node involvement in breast cancer (BC) on the basis of the gene-expression profiling analysis of primary tumors.

**Subjects and methods.** The investigation enrolled 200 patients with morphologically verified unicentric invasive BC ( $T_{1-4}N_{0-3}M_0$ ) who had been treated at the Ulyanovsk Regional Clinical Oncology Dispensary in 2012 to 2015. A tumor tissue molecular genetic study was performed using reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) assay; a diagnostic panel consisted of 28 functional genes.

**Results.** In the metastatic regional lymph node involvement group, the primary breast tumor was characterized by enhanced proliferative activity in terms of the expression of the Ki-67 gene ( $p = 0.028$ ) and by the higher mRNA levels of the NAT ( $p = 0.039$ ) and CD68 ( $p < 0.001$ ) genes with a reduction in PTEN expression ( $p < 0.001$ ) and with decreased ESR1 gene expression ( $p = 0.043$ ). A discriminant analysis showed that the accuracy in predicting the presence or absence of metastatic regional lymph node involvement on the basis of a primary tumor molecular genetic study using a 7-gene expression panel was 91.9 and 78.8%, respectively.

**Conclusion.** The primary breast tumor tissue molecular genetic study involving a set of 7 genes (PTEN, CD68, CCNB1, MGB1, MYC, BCL2, and ESR1) can become an additional diagnostic tool for assessing the presence of metastatic lymph node involvement when planning the volume of axillary lymph node dissection in BC patients.

**Keywords:** breast cancer, molecular genetic prognostic factors, gene expression profiling, mRNA, lymph node dissection, local recurrence, lymphogenous metastasis, discriminant analysis.

**Author contributions.** Podionov V.V., Bozhenko V.K., Ashrafyan L.A.: concept and design of the investigation; Dergunova Yu.A.: material collection and processing; Bozhenko V.K., Dergunova Yu.A., Makarova M.V.: statistical data processing; Dergunova Yu.A.: writing the text; Podionov V.V., Kometova V.V., Bozhenko V.K., Ashrafyan L.A.: editing.

**Conflict of interests.** The author declares that there are conflicts of interest.

**Financing.** The investigation has been conducted within the state assignment «Personification of surgical treatment in breast cancer patients, by using a mathematical model for assessing an individual risk for regional metastasis» (Nationwide R&D registration number AAAA-A18-118053190016-7 dated May 31, 2018).

For citation: Dergunova Yu.A., Bozhenko V.K., Podionov V.V., Kometova V.V., Makarova M.V., Ashrafyan L.A. Molecular genetic prognostic factors for metastatic regional lymph node involvement in breast cancer patients. *Akusherstvo i Ginekologiya/ Obstetrics and gynecology*. 2020; 3: 141-7. (In Russian). <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2020.3.141-147>

Современные тенденции в лечении рака молочной железы (РМЖ) стремятся к сокращению объема хирургического вмешательства, как на молочной железе, так и на регионарных лимфатических коллекторах у пациенток с ранними стадиями. С одной стороны, это продиктовано высоким процентом послеоперационных осложнений (5–50%), сопровождающих аксиллярную лимфодиссекцию [1, 2]; с другой — отсутствием метастатического поражения подмышечных лимфатических узлов (ЛУ) у 70% пациенток с РМЖ по результатам проведенного патоморфологического исследования [3]. Одновременно с этим, данные ряда крупных исследований показывают, что отказ от подмышечной лимфодиссекции не влияет ни на общую, ни на безрецидивную выживаемость больных РМЖ [4–7]. В такой ситуации возникает вопрос о необходимости максимально достоверной неинвазивной оценки состояния подмышечных ЛУ на дооперационном этапе. В настоящее время изучение молекулярного «портрета» опухоли выходит на ведущую позицию в понимании опухолевой

прогрессии, что делает актуальным выявление молекулярно-генетических маркеров, коррелирующих со статусом регионарных ЛУ [8–10].

Целью нашего исследования стал поиск генов-предикторов лимфогенной диссеминации первичной опухоли, способных стать дополнительным диагностическим инструментом в планировании объема аксиллярной лимфодиссекции у пациенток с РМЖ.

### Материалы и методы

В исследование включены 200 пациенток с морфологически верифицированным уницентрическим инвазивным РМЖ T1–4N0–3M0. Всем пациенткам выполнено хирургическое вмешательство в ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер» (ГУЗ ОКОД) г. Ульяновска в период с 2012 по 2015 г. Критериями исключения определены неoadьювантная терапия и наличие злокачественных новообразований других локализаций до постановки диагноза РМЖ. В основную группу

исследования включены 100 пациенток с морфологически подтвержденным метастатическим поражением регионарных ЛУ (группа N+), в контрольную группу – 100 пациенток без метастазов (группа N0). Средний период наблюдения составил 45 месяцев (от 30 до 60 месяцев).

Для анализа профиля экспрессии генов в опухолевой ткани применяли полимеразную цепную реакцию с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), диагностическая панель включала 31 ген – 28 функциональных и 3 референсных. В состав панели включены гены, контролирующие процесс клеточной пролиферации: *EGFR*, *HER2*, *KI67*, *STK15*, *MYC*, *CCNB1*, *CCND1*, *PTEN*, *P16INK4A*, *MYBL2*, *TMEM45B*, *SFRP1*; гены, контролирующие апоптоз: *BIRC5*, *BCL2*, *BAG1*, *TERT*, *MIA*, *NDRG*; гены клеточной дифференцировки: *ESR*, *PGR*, *MGB1*, *FOXA1*, *NAT*; гены межклеточных взаимодействий, межклеточные протеазы: *MMP11*, *CTSL2*; а также *CD45* и *CD68*. В качестве референсных использовали гены *GUSB*, *HPRT1* и *B2M*.

Процедура молекулярно-генетического анализа состояла из следующих этапов: выделение мРНК из образца опухолевой ткани, проведение обратной транскрипции и собственно РВ-ПЦР (ПЦР в «реальном времени» или количественная ПЦР). На этапе выделения мРНК использовали коммерческие наборы RNeasy (Qiagen, США). Обработку исследуемого материала проводили в соответствии с протоколом компании-производителя. Объем конечного раствора составлял 60 мкл со средней концентрацией РНК в нем 35–40 мкг/мл. После получения РНК немедленно проводили этап обратной транскрипции. Постановку реакции осуществляли с использованием наборов НПФ «ДНК Технология» согласно технической инструкции при температуре 40 °С в течение 30 мин, с последующей инактивацией обратной транскриптазы при 95 °С в течение 5 мин. Для увеличения объемов образцов после ОТ кДНК подвергали 10-кратному разведению в ТЕ-буфере. Полученный раствор кДНК использовался для ОТ-ПЦР либо хранился при температуре -20 °С с учетом максимально допустимого срока.

Для постановки ПЦР применяли реактивы «НПФ ДНК-Технология». Контроль отсутствия реакции на геномной ДНК проводили с образцами, не прошедшими реакцию обратной транскрипции, которые подвергались разведению в ТЕ-буфере в конечной концентрации, эквивалентной конечной концентрации кДНК. ДНК-зонды, используемые для детекции продуктов амплификации исследуемых и нормировочных генов, помечались FAM. Постановка реакции амплификации генов проводилась в разных пробирках в двух повторах. Амплификацию осуществляли в режиме «реального времени» в объеме 35 мкл по следующей программе: 1 цикл – 80 °С 30 с, 94 °С 1 мин; 50 циклов – 94 °С 10 с, 64 °С 20 с с использованием приборов «ДТ-322» и «ДТ-964» производства ЗАО «НПФ ДНК-Технология». Измерение уровня флуоресценции проводили на каждом цикле при температуре 64 °С.

Относительную экспрессию исследованных генов определяли согласно методике, предложен-

ной Vandesompele и соавт., используя в качестве нормировочных гены *GUSB*, *HPRT1* и *B2M* [11, 12].

Полученные данные обрабатывали с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel 2010 и Statistica for Windows 8.0. (StatSoft Inc., USA). Распределение большинства количественных признаков соответствовало закону нормального распределения (критерий Колмогорова–Смирнова,  $p > 0,05$ ). Для сравнения двух независимых групп по количественным признакам применяли t-критерий Стюдента и критерий Манна–Уитни.

Расчет достаточности размера выборки оценивали по формуле, используемой при неизвестной численности генеральной совокупности для количественных признаков:  $n = (s^2 \times Z^2) / \Delta^2$ ; где  $s$  – дисперсия признака,  $Z=1,96$  – критическое значение нормального распределения при уровне значимости 0,05 и двустороннем тесте,  $\Delta=10\%$ .

Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Для построения модели прогноза метастазирования на основании анализа экспрессии генов в первичной опухоли применен дискриминантный многофакторный анализ. На наш взгляд, среди различных методов классификации, таких как кластерный, факторный анализ, деревья классификации, нейронные сети, именно дискриминантный анализ дает наилучшие результаты при анализе лабораторных показателей.

## Результаты

Пролиферативная активность первичной опухоли, определяемая на основании экспрессии гена *Ki67*, статистически значимо различалась в двух сравниваемых группах. В группе пациенток с метастатическим поражением регионарных ЛУ среднее значение мРНК данного гена оказалось в 1,3 раза выше, чем в группе пациенток без метастазов ( $p=0,03$ ).

Вместе с тем, отмечалась обратная зависимость уровня экспрессии *PTEN* (гена-онкосупрессора). При сравнении данных групп было выявлено, что уровень экспрессии гена *PTEN* меньше в группе пациенток с метастатическим поражением ЛУ по сравнению с группой, в которую вошли пациентки без метастазов ( $p < 0,001$ ).

Экспрессия гена *ESR1*, кодирующего рецептор эстрогена- $\alpha$ , оказалась значимо выше (в 2,1 раза) в группе пациенток «N0» по сравнению с группой пациенток «N+» ( $p=0,04$ ). Аналогичная зависимость с тенденцией к статистической значимости выявлена и для экспрессии гена *PGR* ( $p=0,06$ ).

Повышенный уровень экспрессии гена *NAT* был зафиксирован в ткани первичной опухоли пациенток с метастатическим поражением регионарных ЛУ по сравнению с уровнем экспрессии в опухолевой ткани из группы пациенток без метастазов ( $p=0,04$ ).

Среднее значение мРНК гена *CD68*, являющегося маркером макрофагов, также значимо различалось в двух сравниваемых группах. Установлено, что уровень экспрессии гена *CD68* в группе пациенток «N+» выше, чем в группе «N0» ( $p < 0,001$ ).

Детальное сравнение групп по экспрессии генов, включенных в исследование, представлено в табл. 1.

Таким образом, первичная опухоль молочной железы в группе пациенток с метастатическим поражением регионарных ЛУ по сравнению с контрольной группой характеризуется более высокой пролиферативной активностью (с учетом анализа экспрессии гена Ki-67), а также повышенным уровнем мРНК генов NAT и CD68 на фоне снижения активности ингибитора пролиферации PTEN. По результатам молекулярно-генетического экспрессионного анализа также установлено, что опухоли из группы «N+» характеризуются более низкими показателями экспрессии гена *ESR1*.

Для построения прогностической модели в отношении наличия или отсутствия метастатического

поражения регионарных ЛУ на основании экспрессии генов в первичной опухоли молочной железы нами был применен дискриминантный анализ (табл. 2).

Включение переменной в модель проводили на основании величины Лямбды Уилкса, Частной Лямбды Уилкса и величины F-исключения. При этом значение Лямбды Уилкса напротив каждой из переменных показывает, какой вклад данная переменная вносит в дискриминацию групп (после исключения ее из анализа), чем выше значение параметра, тем важнее признак. Статистика Частная Лямбда Уилкса показывает отношение Лямбды Уилкса после добавления данной переменной к Лямбде Уилкса до добавления переменной. Если переменная вносит хотя бы какой-то вклад в разделение групп, после ее добавления Лямбда Уилкса должна уменьшиться. В связи

**Таблица 1. Сравнение уровня экспрессии проанализированных генов в ткани первичной опухоли в группе пациенток с метастазами (N+) и без метастазов (N-) в регионарные лимфоузлы**

Ген	Группа «N-»	Группа «N+»	$p^*$	$p^{**}$
<i>MGB1</i>	585458,8 (145796)	483184,2 (875038,5)	0,57	0,54
<i>CTSL2</i>	153,4 (333)	116,7 (323,9)	0,45	0,77
<i>BCL2</i>	266,0 (687)	149,1 (406,6)	0,16	0,43
<i>MYC</i>	74,5 (179)	43,3 (177,9)	0,23	<0,001
<i>BIRC5</i>	65,3 (130)	91,2 (140,2)	0,19	0,02
<i>CCND1</i>	49,5 (69)	50,1 (74,1)	0,95	0,35
<i>NDRG1</i>	513,2 (1665)	1001,8 (3045,9)	0,17	0,01
<i>CD68</i>	7,4 (7)	11,4 (8,4)	<0,001	<0,001
<i>KI67</i>	161,6 (162)	218,3 (187,6)	0,03	0,01
<i>TERT</i>	47,1 (124)	55,0 (162,4)	0,71	0,20
<i>HER2</i>	683,6 (1778)	688,0 (1840,6)	0,99	0,09
<i>PTEN</i>	2359,2 (1351)	1628,3 (1051,9)	<0,001	<0,001
<i>BAG1</i>	9,8 (18)	6,7 (16,5)	0,22	<0,001
<i>PGR</i>	18378,5 (35323)	10454,1 (19560,3)	0,06	0,60
<i>CCNB1</i>	23,4 (64)	21,3 (42,5)	0,79	0,33
<i>ESR1</i>	2652,0 (5721)	1257,2 (3193,4)	0,04	0,19
<i>GRB7</i>	11281,1 (18088)	12620,7 (23276,5)	0,66	0,01
<i>MMP11</i>	5061,4 (10286)	4460,7 (10120,2)	0,69	0,80
<i>STK15</i>	34,6 (76)	27,4 (35,1)	0,41	0,23
<i>MYBL2</i>	6,8 (4)	7,7 (3,4)	0,13	0,06
<i>P16INK4A</i>	76,0 (140)	61,7 (118,1)	0,45	0,29
<i>EGFR</i>	76,4 (134)	66,4 (65,2)	0,65	0,21
<i>NAT</i>	106,8 (153)	173,9 (194,2)	0,04	0,03
<i>TMEM45B</i>	695,6 (1204)	1154,2 (1300,7)	0,06	0,02
<i>SFRP1</i>	162,7 (371)	126,4 (418,9)	0,63	0,96
<i>MIA</i>	362,9 (1111)	120,6 (343,8)	0,20	0,95
<i>FOXA1</i>	79,0 (72)	82,7 (57,0)	0,78	0,49
<i>CD-45</i>	134,8 (282)	160,8 (167,3)	0,58	0,09

Примечание. \* – статистическая значимость определялась по критерию Стьюдента; \*\* – критерию Манна–Уитни.

с этим, чем меньшим оказывается значение Частной Лямбды, тем ценнее данный признак. F-критерий, связанный с исключением данного признака из анализа, а *p*-level – это уровень его статистической значимости. Если исключение признака приводит к статистически значимому изменению соотношения дисперсий, значит, этот признак вносит важный вклад в дискриминацию групп. На основании результатов, приведенных в табл. 2, и были выбраны значимые переменные.

В табл. 3 приводятся значения функции классификации (коэффициенты линейных дискриминантных функций), которые могут быть использованы для вычисления вероятности метастатического поражения лимфоузлов. При этом модель работает следующим образом: в образце первичной опухоли определяется экспрессия генов, перечисленных в табл. 3, далее на основе уровня экспрессии генов-предикторов, вычисляются две линейные дискриминантные функции (ЛДФ) «0» и «+» с

Таблица 2. Переменные в модели

Ген	Лямбда Уилкса: 0,53; прил. F (21, 104)=4,2734; p< 0,001				
	Уилкса Лямбда	Частная Лямбда	F-исключ. (1, 104)	p	толерантность
<i>MGB1</i>	<b>0,56</b>	<b>0,95</b>	<b>5,21</b>	<b>0,02</b>	<b>0,64</b>
<i>CTSL2</i>	0,56	0,97	3,60	0,06	0,76
<i>BCL2</i>	<b>0,57</b>	<b>0,95</b>	<b>6,10</b>	<b>0,02</b>	0,12
<i>MYC</i>	<b>0,57</b>	<b>0,96</b>	<b>4,06</b>	<b>0,05</b>	0,23
<i>BIRC5</i>	0,54	0,99	0,07	0,79	0,25
<i>CCND1</i>	0,54	0,99	0,0	0,95	0,90
<i>NDRG1</i>	0,54	0,99	0,62	0,43	0,64
<i>CD68</i>	<b>0,56</b>	<b>0,96</b>	<b>4,61</b>	<b>0,03</b>	0,54
<i>KI67</i>	0,54	0,99	0,27	0,61	0,28
<i>TERT</i>	0,55	0,97	2,82	0,10	0,51
<i>HER2</i>	0,54	0,99	0,11	0,75	0,14
<i>PTEN</i>	<b>0,71</b>	<b>0,75</b>	<b>34,28</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,76
<i>BAG1</i>	0,55	0,98	2,53	0,11	0,36
<i>PGR</i>	0,54	0,99	0,47	0,50	0,60
<i>CCNB1</i>	<b>0,57</b>	<b>0,95</b>	<b>5,88</b>	<b>0,02</b>	0,23
<i>ESR1</i>	<b>0,57</b>	<b>0,94</b>	<b>7,25</b>	<b>0,01</b>	0,16
<i>GRB7</i>	0,54	0,99	0,00	0,95	0,14
<i>MMP11</i>	0,54	0,99	0,08	0,77	0,31
<i>STK15</i>	0,54	0,99	0,02	0,90	0,30
<i>MYBL2</i>	0,54	0,99	0,80	0,37	0,60
<i>P16INK4A</i>	0,54	0,99	0,01	0,91	0,32

Примечание. Полужирным шрифтом выделены переменные (гены), включенные в модель классификации.

Таблица 3. Функции классификации для 2-х групп на основании дискриминантного анализа

Ген	G_1:1 p=0,41	G_2:2 p=0,59
<i>PTEN</i>	0,00278	0,00138
<i>CD68</i>	0,31892	0,45337
<i>CCNB1</i>	0,13186	0,23244
<i>MGB1</i>	-0,00001	0,00001
<i>MYC</i>	0,04977	0,00843
<i>BCL2</i>	-0,01303	-0,00616
<i>ESR1</i>	0,00017	-0,00044
Константа	-8,40928	-6,27764

Таблица 4. Матрица классификации

Ген	% правильно предсказанных значений	G_1:1 p=0,41	G_2:2 p=0,59
G_1:1	78,8	41	11
G_2:2	91,9	6	68
Всего	86,5	47	79

коэффициентами из табл. 3 (для групп N«0» и N«+» соответственно). Пациент классифицируется в ту группу, для которой значение ЛДФ является наибольшим.

Матрица классификации как результат применения линейной дискриминантной функции. составленная на основании полученного решения, представлена в табл. 4.

Разработанная нами модель прогноза метастатического поражения регионарных лимфатических узлов показала высокую точность отнесения пациентов к той или иной группе. По данным исследования чувствительность предсказания наличия метастазов в регионарных ЛУ у пациенток с РМЖ составила 91,9%. Специфичность предсказания отсутствия метастатического поражения составила 78,8%. В целом, эффективность метода классификации составил 86,5%.

## Заключение

Первичная опухоль молочной железы в группе пациенток с метастатическим поражением регио-

нарных ЛУ характеризуется повышенной пролиферативной активностью с учетом экспрессии гена Ki-67 ( $p=0,03$ ), а также повышенным уровнем мРНК генов *NAT* ( $p=0,04$ ) и *CD68* ( $p<0,001$ ) на фоне снижения экспрессии ингибитора пролиферации *PTEN* ( $p<0,001$ ) и пониженной экспрессии гена *ESR1* ( $p=0,04$ ). По результатам дискриминантного анализа точность предсказания наличия или отсутствия метастатического поражения регионарных ЛУ на основании молекулярно-генетического исследования первичной опухоли с применением экспрессионной панели из 7 генов составила 91,9 и 78,8% соответственно.

Таким образом, молекулярно-генетическое исследование ткани первичной опухоли молочной железы с включением необходимого набора генов (*PTEN*, *CD68*, *CCNB1*, *MGB1*, *MYC*, *BCL2*, *ESR1*) и применением формулы для вычисления дискриминантной функции может стать дополнительным диагностическим инструментом для прогнозирования риска метастатического поражения регионарных лимфатических узлов при планировании объема аксиллярной лимфодиссекции у пациенток с РМЖ.

## Литература/References

- Petrek J.A., Senie R.T., Peters M., Rosen P.P. Lymphedema in a cohort of breast carcinoma survivors 20 years after diagnosis. *Cancer*. 2001; 92(6):1368-77. doi: 10.1002/1097-0142(20010915)92:6<1368::aid-cnrcr1459>3.0.co;2-9
- Silberman A.W., McVay C., Cohen J.S., Altura J.F., Brackert S., Sarna G.P. et al. Comparative morbidity of axillary lymph node dissection and the sentinel lymph node technique: Implications for patients with breast cancer. *Ann Surg*. 2004; 240(1): 1-6. doi: 10.1097/01.sla.0000129358.80798.62
- Qiu S.Q., Zeng H.C., Zhang F., Chen C.A., Huang W.H., Pleijhuis R.G. A nomogram to predict the probability of axillary lymph node metastasis in early breast cancer patients with positive axillary ultrasound. *Sci Rep*. 2016; 15(6): 21196. doi: 10.1038/srep21196.
- Fisher B., Jeong J.H., Anderson S., Bryant J., Fisher E.R., Wolmark N. Twenty-Five-Year Follow-up of a Randomized Trial Comparing Radical Mastectomy, Total Mastectomy, and Total Mastectomy Followed by Irradiation. *N. Engl. Med*. 2002; 347(8): 567-75. doi: 10.1056/NEJMoa020128
- Orr R.K. The impact of prophylactic axillary node dissection on breast cancer survival: a Bayesian meta-analysis. *Ann Surg Oncol*. 1999; 6(10): 116-27. doi: 10.1007/s10434-999-0109-1
- Giuliano A.E., Hunt K.K., Ballman K.V., Beitsch P.D., Whitworth P.W., Blumentcranz P.W., et al. Axillary Dissection vs No Axillary Dissection in Women With Invasive Breast Cancer and Sentinel Node Metastasis. *JAMA*. 2011; 305(6): 569-575. doi: 10.1001/jama.2011.90.
- Shah-Khan M., Boughey J.C. Evolution of axillary nodal staging in breast cancer: clinical implications of the ACOSOG Z0011 trial. *Cancer Control*. 2012; 19: 267-276. doi: 10.1177/107327481201900403
- Каприн А.Д., Рожкова Н.И., ред. Маммология: Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 496 с. [Kaprin A.D., Rozhkova N.I., ed. *Mammology: National Leadership*. M.: GEOTAR-Media, 2016. 496 p. (In Russian)].
- Дергунова Ю.А., Родионов В.В., Боженко В.К., Кометова В.В., Дардык М.В. Клинико-морфологические и молекулярно-генетические предикторы метастатического поражения регионарных лимфатических узлов при раке молочной железы. *Успехи молекулярной онкологии*. 2018; 5(3): 8-16. [Dergunova Yu.A., Podionov V. V., Bozhenko V.K. et al. Clinical, morphological, and molecular genetic predictors of metastatic lesions in the regional lymph nodes in breast cancer. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2018; 5(3): 8-16. (In Russian)]. doi: 10.17650/2313-805X-2018-5-3-8-16
- Харченко В.П., Хмелевский Е.В., Чхиквадзе В.Д., Боженко В.К., Паньшин Г.А., Колесников Р.В. Особенности развития и факторы риска постмастэктомических местно-регионарных рецидивов рака молочной железы. *Вопросы онкологии*. 2009; 55(4): 436-42. [Kharchenko V.R., Khmelevsky Ye.V., Chkhikvadze V.D., Bozhenko V.K., Panshin G.A. Features and causative factors of post-mastectomy risk of locally-advanced breast cancer relapse. *Voprosy onkologii*. 2009; 55(4): 436-42. (In Russian)].
- Боженко В.К., Ашрафян Л.А., Антонова И.Б., Мельникова Н.В., Бурменская О.Н., Трофимов Д.Ю., Кудинова Е.А., Хунова Л.З., Слонов А.В., Близняков О.П. Анализ экспрессии генов пролиферации и апоптоза при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях и раке шейки матки. *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2011; 4: 72-6. [Bozhenko V.K., Ashrafyan L.A., Antonova I.B., Melnikova N.V., Burmenskaya O.N., Trofimov D.Yu., Kudina E.A., Khunova L.Z., Elephants A. V., Bliznyukov O.P. Analysis of the expression

- of proliferation and apoptosis genes in cervical intraepithelial neoplasias and cervical cancer. *Opukholi zhenskoy reproductivnoy sistemy*. 2011; 4: 72–6. (In Russian)].
12. *Vandesompele J., De Preter K., Pattyn F., Poppe B., Van Roy N., De Paepe A.* et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol.* 2002; 3(7): research0034.1–research0034.11. doi: 10.1186/gb-2002-3-7-research0034
- Поступила 18.09.2020  
Принята в печать 04.10.2020  
Received 18.09.2020  
Accepted 04.10.2020

**Сведения об авторах:**

*Дергунова Юлия Анатольевна*, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения ГУЗ Областной клинической онкологической диспансер.

Тел.: +79603708483. E-mail: [dergunova.yu@mail.ru](mailto:dergunova.yu@mail.ru); <https://orcid.org/0000-0002-7499-2650>

432017 Россия, Ульяновск, ул.12 Сентября, д. 90.

*Боженко Владимир Константинович*, д.м.н., профессор, консультант директора ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России. руководитель отдела молекулярной биологии и экспериментальной терапии ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России. Тел.: +79037996484. E-mail: [vbojenko@mail.ru](mailto:vbojenko@mail.ru); <https://orcid.org/0000-0001-8351-8152>

117997 Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4; 117997 Россия, ГСП-7, Москва, ул. Профсоюзная, д. 86.

*Родионов Валерий Витальевич*, д.м.н., заведующий отделением патологии молочной железы ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. Академика В.И. Кулакова» Минздрава России. Тел.: +79266293400. E-mail: [dr.valery.rodionov@gmail.com](mailto:dr.valery.rodionov@gmail.com); <https://orcid.org/0000-0003-0096-7126>

117997 Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д.4.

*Макарова Мария Владимировна*, аспирант кафедры Онкологии и рентгенодиагностики МИ РУДН на базе ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава России. Тел.: +79269381956, E-mail: [maria.makarova.work@gmail.com](mailto:maria.makarova.work@gmail.com)

117997 Россия, ГСП-7, Москва, ул. Профсоюзная, д. 86.

*Кометова Влада Владимировна*, к.м.н., старший научный сотрудник патологоанатомического отделения ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. Академика В.И. Кулакова» Минздрава России. Тел.: +79051837783.

E-mail: [vladakometova@gmail.com](mailto:vladakometova@gmail.com); <https://orcid.org/0000-0001-9666-6875>

117997 Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д.4.

*Ашрафян Лев Андреевич*, д.м.н. профессор, академик РАН, заместитель директора ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России; директор Института онкогинекологии и маммологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России. Тел.: +79257402745. E-mail: [info@oparina4.ru](mailto:info@oparina4.ru) 117997 Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д.4.

**About the authors:**

*Julia A. Dergunova*, pathologist at the pathological department of the State Health Institution Regional Clinical Oncology Center. Tel.: +79603708483.

E-mail: [dergunova.yu@mail.ru](mailto:dergunova.yu@mail.ru); <https://orcid.org/0000-0002-7499-2650>

432017 Russia, Ulyanovsk, st. 12 September, d. 90.

*Vladimir K. Bozhenko*, MD, professor, consultant to the director of the National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakova Ministry of Health of Russia. Head of the Department of Molecular Biology and Experimental Therapy, Federal State Budgetary Institution Russian Scientific Center for X-ray Radiology, Ministry of Health of Russia. Phone: + 79037996484. E-mail: [vbojenko@mail.ru](mailto:vbojenko@mail.ru); <https://orcid.org/0000-0001-8351-8152>

117997 Russia, Moscow, ul. Academician Oparin, d. 4; 117997 Russia, GSP-7, Moscow, ul. Profsoyuznaya, 86.

*Valery V. Rodionov*, MD, Head of the Department of Breast Pathology, Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakova Ministry of Health of Russia. Tel.: +79266293400. E-mail: [dr.valery.rodionov@gmail.com](mailto:dr.valery.rodionov@gmail.com); <https://orcid.org/0000-0003-0096-7126>

117997 Russia, Moscow, ul. Academician Oparin, d.4.

*Maria V. Makarova*, graduate student of the Department of Oncology and X-ray Radiology MI RUDN University on the basis of the Federal State Budgetary Institution Russian Scientific Center for Radiological Radiology of the Ministry of Health of Russia. Phone: +79269381956. E-mail: [maria.makarova.work@gmail.com](mailto:maria.makarova.work@gmail.com)

117997 Russia, GSP-7, Moscow, ul. Profsoyuznaya, 86.

*Vlada V. Kometova*, candidate of medical sciences, senior researcher of the pathology department of the Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakova Ministry of Health of Russia. Tel.: +79051837783.

E-mail: [vladakometova@gmail.com](mailto:vladakometova@gmail.com); <https://orcid.org/0000-0001-9666-6875>

117997 Russia, Moscow, ul. Academician Oparin, d.4.

*Lev A. Ashrafyan*, MD Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director of the National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology Academician V.I. Kulakova Ministry of Health of Russia; Director of the Institute of Oncogynecology and Mammology, Federal State Budgetary Institution National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakova Ministry of Health of Russia. Tel.: +79257402745. E-mail: [info@oparina4.ru](mailto:info@oparina4.ru). 117997 Russia, Moscow, ul. Academician Oparin, d.4.