

DOI: 10.17650/1994-4098-2021-17-3-24-36



Молекулярно-генетические предикторы метастатического поражения регионарных лимфатических узлов у больных раком молочной железы

В.В. Родионов, О.В. Бурменская, В.В. Кометова, Д.Ю. Трофимов, М.В. Родионова, Л.А. Ашрафян

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Академика Опарина, 4

Контакты: Валерий Витальевич Родионов dr.valery.rodionov@gmail.com

Цель исследования – выявить молекулярно-генетические предикторы метастатического поражения регионарных лимфатических узлов у больных раком молочной железы (РМЖ) на основании анализа профиля экспрессии генов первичной опухоли.

Материалы и методы. В исследование включено 358 больных РМЖ, которым было проведено хирургическое лечение в условиях отделения патологии молочной железы ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России. Из общего числа пациенток, включенных в исследование, у 132 (36,9 %) были диагностированы метастазы как минимум в 1 подмышечный лимфатический узел. Молекулярно-генетическое исследование опухолевой ткани проводилось с применением методики полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией; диагностическая панель состояла из 45 функциональных и 3 референсных генов.

Результаты. Пациентки с метастазами в регионарные лимфатические узлы чаще характеризовались более молодым возрастом ($p = 0,006$), большими размерами опухолевого узла ($p < 0,001$) и более высоким суммарным баллом злокачественности ($p < 0,001$). Имелись также статистически значимые различия между группами по локализации опухоли ($p = 0,005$). Сравнительный анализ транскриптомного профиля опухолей выявил статистически значимые отличия между группами в уровне экспрессии 3 генов: *TMEM45A* ($p = 0,016$), *CCND1* ($p = 0,019$) и *MIA* ($p = 0,046$). С использованием математического моделирования на основании полученных данных была создана предиктивная модель, которая с высокой степенью вероятности ($AUC = 0,791$) позволяет предсказывать метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов у больных РМЖ.

Выводы. Экспрессия генов *TMEM45A*, *CCND1* и *MIA* в первичной опухоли является маркером лимфогенного метастазирования у больных РМЖ. Разработанная предиктивная генетическая сигнатура может стать дополнительным диагностическим инструментом для прогнозирования риска метастатического поражения лимфатических узлов при планировании объема аксиллярной лимфодиссекции у пациенток с РМЖ.

Ключевые слова: рак молочной железы, метастазы в регионарные лимфатические узлы, молекулярно-генетические факторы прогноза, профиль экспрессии генов, предиктивная модель

Для цитирования: Родионов В.В., Бурменская О.В., Кометова В.В. и др. Молекулярно-генетические предикторы метастатического поражения регионарных лимфатических узлов у больных раком молочной железы. Опухоли женской репродуктивной системы 2021;17(3):24–36. DOI: 10.17650/1994-4098-2021-17-3-24-36.

Molecular genetic predictors of metastatic lesions of regional lymph nodes in patients with breast cancer

V.V. Rodionov, O.V. Burmenskaya, V.V. Kometova, D. Yu. Trofimov, M.V. Rodionova, L.A. Ashrafyan

V.I. Kulakov Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia; 4 Akademika Oparina St., Moscow 117997, Russia

Contacts: Valeriy Vitalyevich Rodionov dr.valery.rodionov@gmail.com

Objective: to identify molecular genetic predictors of metastatic spread to regional lymph nodes in patients with breast cancer (BC) based on the analysis of gene expression profile of the primary tumor.

Materials and methods. The study included 358 patients with BC who underwent surgical treatment in breast cancer department of Academician V.I. Kulakov Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia. Among all included into the study patients, 132 (36.9 %) had metastases in at least one axillary lymph node. Molecular genetic examination of the tumor tissue was carried out using reverse transcription polymerase chain reaction; the diagnostic panel consisted of 45 functional and 3 reference genes.

Results. Patients with metastases to regional lymph nodes were generally younger ($p = 0.006$), had larger primary tumor ($p < 0.001$) and higher total malignancy score ($p < 0.001$). The groups were also significantly different in tumor location ($p = 0.005$). Comparative analysis of transcriptome tumor profiling revealed statistically significant differences between groups in the level of expression of three genes: *TMEM45A* ($p = 0.016$), *CCND1* ($p = 0.019$), and *MIA* ($p = 0.046$). Based on the data obtained we used mathematical modeling and created a predictive model, which with a high degree of probability (AUC = 0.791) allowed to predict the presence of regional lymph nodes metastases in patients with BC.

Conclusion. *TMEM45A*, *CCND1* and *MIA* gene expression in the primary tumor were the markers of lymph node involvement in BC. The developed predictive genetic signature can become an additional diagnostic tool to predict the risk of lymph node metastases at the point of planning the volume of axillary surgery in patients with BC.

Key words: breast cancer, regional lymph node metastases, molecular genetic prognostic factors, gene expression profile, predictive model

For citation: Rodionov V.V., Burmenskaya O.V., Kometova V.V. et al. Molecular genetic predictors of metastatic lesions of regional lymph nodes in patients with breast cancer. *Opukholi zhenskoy reproduktivnoy systemy = Tumors of female reproductive system* 2021;17(3):24–36. (In Russ.). DOI: 10.17650/1994-4098-2021-17-3-24-36.

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) является наиболее актуальной проблемой современной онкологии, что в первую очередь обусловлено высокой заболеваемостью. В Российской Федерации в 2019 г. было выявлено 73918 новых случаев РМЖ [1]. При этом именно РМЖ в нашей стране занимает 2-е место в структуре общей онкологической заболеваемости после опухолей кожи, составляя 11,6 %. В структуре женской онкологической заболеваемости данная опухоль лидирует уже на протяжении многих лет, и заболеваемость РМЖ достигает 21,2 %.

В последние десятилетия в хирургии РМЖ наметилась тенденция к сокращению объемов хирургического вмешательства не только на молочной железе, но и на зонах регионарного метастазирования. Это, с одной стороны, продиктовано высокой частотой послеоперационных осложнений (5–50 %), сопровождающих аксиллярную лимфодиссекцию [2, 3], с другой – данными о том, что до 70 % пациенток с РМЖ не имеют метастатического поражения подмышечных лимфатических узлов после проведенного патоморфологического исследования [4]. Одновременно целый ряд крупных международных исследований наглядно демонстрируют тот факт, что отказ от подмышечной лимфодиссекции не влияет ни на общую, ни на безрецидивную выживаемость больных РМЖ [5–8].

В этой ситуации клиницисты остро нуждаются в надежных прогностических критериях, определяющих вероятность регионарного метастазирования. Необходимо констатировать, что ключевую роль в процессе регионарного метастазирования играет биология опухоли. Благодаря последним достижениям в области

генетики становится возможным определить генетический профиль опухоли и использовать эти данные как факторы прогноза течения заболевания в дополнение к уже известным клинико-морфологическим критериям. В настоящее время все более активно внедряются в клиническую практику мультигенные сигнатуры: Oncotype DX [9, 10], PAM 50 [11, 12], Mamma Print [13, 14]. Однако роль генных сигнатур в прогнозировании регионарного метастазирования пока остается полностью неизученной.

Целью настоящего 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 было включено 358 больных РМЖ, получивших хирургическое лечение в условиях отделения патологии молочной железы ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России. Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России (протокол № 9 от 22.11.2018). Критерием включения был инвазивный РМЖ. Критериями исключения стали неоадьювантная терапия и наличие злокачественных новообразований других локализаций до постановки диагноза РМЖ. На базу данных, положенную в основу данного исследования, получено свидетельство о государственной регистрации

№ 2021620111 от 19.01.2021 «Морфологическая и молекулярно-генетическая база данных пациенток с инвазивным раком молочной железы с/без метастазов в регионарные лимфатические узлы».

Для реализации поставленной цели была разработана транскрипционная панель, включающая 48 генов: *ESR1*, *PGR*, *AR* (группа рецепторов гормонов); *ERBB2*, *GRB7*, *EGFR*, *FGFR4* (группа рецепторов ростовых факторов); *MKI67*, *MYBL2*, *CCNB1*, *AURKA*, *BIRC5*, *MYC*, *CCND1*, *CCNE1*, *CDKN2A*, *KIF14*, *PPP2R2A*, *PTTG1*, *SFRP1*, *TMEM45B*, *TMEM45A*, *TPX2* (группа генов, регулирующих пролиферацию, митоз, формирование веретена деления и регуляцию клеточного цикла); *MMP11*, *CTSL2*, *EMSY*, *PAK1*, *ANLN* (группа генов, регулирующих миграцию клеток, инвазию, организацию цитоскелета); *BCL2*, *BAG1*, *PTEN* (гены апоптоза); *TYMS*, *EXO1*, *UBE2T*, *TPT1* (группа генов, регулирующих репликацию и репарацию ДНК); *SCGB2A2*, *KRT5*, *MIA* (маркеры дифференцировки клеток и коэкспрессированные с ними гены); *GATA3*, *FOXA1*, *ZNF703*, *NAT1* (факторы транскрипции); *CD68*, *TRA*, *CD274/PD-L1* (гены иммунной системы) и референсные гены *B2M*, *GUSB*, *HPRT1*.

Транскриптомный профиль генов определялся методом мультиплексной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени в соответствии с рекомендациями производителя с праймерами и флуоресцентно-мечеными зондами (Fam, Cy5), специфичными к последовательностям определяемых РНК. Использованы олигонуклеотиды, не амплифицирующие с матриц геномной ДНК и с размером ампликонов до 100–120 п. н., так как в парафинизированных образцах большая часть РНК имеет длину 100–300 оснований. Использованы реактивы и детектирующие амплификаторы в соответствии с инструкциями и рекомендациями производителя (ООО «НПФ ДНК-Технология», Россия).

Для проведения молекулярно-генетического исследования парафиновые срезы толщиной 4–5 мкм в количестве 3 штук помещали в сухие пластиковые пробирки объемом 1,5 мл. В связи с тем, что в образцах должно было присутствовать не менее 80–90 % опухолевых клеток, с целью контроля риска интерференции нормальной тканью взятие материала осуществлялось врачом-патоморфологом. Перед выделением тотальной РНК проводили предварительную изоляцию парафина и обработку образцов протеиназой К в специализированных буферах, далее использовались наборы реагентов для выделения РНК «Проба НК-плюс», предусматривающие спиртовое осаждение нуклеиновых кислот.

Полученные препараты РНК сразу использовали для постановки реакции обратной транскрипции со смесью специфичных для каждого гена олигонуклеотидов. По завершении амплификации уровень

представленности транскриптов рассчитывали методом сравнения индикаторных циклов (метод ΔCq) с нормировкой относительно референсных генов *B2M*, *GUSB*, *HPRT1*. Данные показатели были использованы для построения модели классификации опухолей молочной железы в соответствии с ранее описанной моделью [15].

Анализ данных и предиктивное моделирование проводили с использованием среды для статистических вычислений R 3.6.3 (R Foundation for Statistical Computing, Австрия) с использованием дополнительных пакетов сторонних разработчиков: *car* 3.0–7, *pROC* 1.16, *part* 3.0.8 и *epiR* 1.0–14. Описательные статистики для категориальных переменных представлены в виде абсолютных и относительных частот (доли, %), для количественных – в виде медиан, I и III квартилей. Для изучения связи категориальных переменных применяли тест χ^2 , ассоциацию считали статистически значимой при $p < 0,05$. Для сравнения количественных переменных между группами пациентов использовали тест Манна–Уитни, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для общей характеристики и разведочно-го анализа применялись иерархическая бикластеризация (совместная кластеризация образцов и показателей) и анализ главных компонент, для оценки ассоциации потенциальных предикторов наличия метастатических лимфатических узлов – простые бинарные логистические регрессионные модели с оценкой отношения шансов с соответствующими 95 % доверительными интервалами (ДИ). Отобранные предикторы включали во множественные бинарные логистические регрессионные модели без взаимодействий. Оценку коэффициентов моделей осуществляли с помощью метода максимального правдоподобия. В качестве метрики качества модели использовали AUC (с-индекс бинарной логистической модели) с соответствующим точным 95 % ДИ.

Результаты

Из общего числа пациенток, включенных в исследование, у 132 (36,9 %) были диагностированы метастазы как минимум в 1 подмышечный лимфатический узел. Клиническая характеристика пациенток и морфологические особенности опухолей наглядно представлены в табл. 1.

Как видно из представленных данных, пациентки с метастазами в регионарные лимфатические узлы чаще были молодого возраста ($p = 0,006$), с большими размерами опухолевого узла ($p < 0,001$) и более высоким суммарным баллом злокачественности ($p < 0,001$). Суммарный балл злокачественности – это интегральный морфологический прогностический индекс для оценки прогноза эпителиальных злокачественных опухолей. Этот индекс был разработан отечественными патоморфологами в 2009 г., оценивается в баллах и складывается из следующих показателей: степень дифференцировки

Таблица 1. Клинические, морфологические и иммуногистохимические характеристики исследуемых групп
Table 1. Clinical, morphological and immunohistochemical characteristics in study groups

Показатель Parameter	Все пациентки All patients	N–	N+	p
Число пациенток, n (%) Number of patients, n (%)	358 (100)	226 (63,1)	132 (36,9)	–
Возраст, лет Age, years	58,0 (48,0–65,0)	60,0 (49,0–66,8)	56,0 (45,0–62,2)	0,006
Возраст >50 лет, n (%) Age >50 years, n (%)	250 (69,8)	164 (72,6)	86 (65,2)	0,175
Длина опухоли, см Length of tumor, cm	1,8 (1,4–2,5)	1,6 (1,2–2,1)	2,1 (1,5–2,9)	<0,001
Ширина опухоли, см Width of tumor, cm	1,4 (1,0–1,8)	1,2 (1,0–1,6)	1,6 (1,1–2,0)	<0,001
Локализация, n (%): Location, n (%):				
центральный отдел central part	22 (6,1)	11 (4,9)	11 (8,3)	
верхневнутренний квадрант upper-inner quadrant	55 (15,4)	38 (16,8)	17 (12,9)	
нижневнутренний квадрант lower-inner quadrant	28 (7,8)	24 (10,6)	4 (3,0)	0,005
верхненааружный квадрант upper-outer quadrant	199 (55,6)	129 (57,1)	70 (53,0)	
нижненааружный квадрант lower-outer quadrant	44 (12,3)	20 (8,8)	24 (18,2)	
Мультифокальность (>1 опухоли), n (%) Multifocality (>1 tumor), n (%)	56 (15,6)	29 (12,8)	27 (20,5)	0,123
Гистологический вариант, n (%): Histological type, n (%):				
протоковый ductal	115 (32,1)	72 (31,9)	43 (32,6)	
смешанный mixed	128 (35,8)	74 (32,7)	54 (40,9)	0,137
дольковый lobular	54 (15,1)	34 (15,0)	20 (15,2)	
особый special	61 (17,0)	46 (20,4)	15 (11,4)	
Степень злокачественности, n (%): Grade, n (%):				
высокая (G ₃) high (G ₃)	91 (25,4)	53 (23,5)	38 (28,8)	
умеренная (G ₂) intermediate (G ₂)	218 (60,9)	139 (61,5)	79 (59,8)	0,407
низкая (G ₁) low (G ₁)	49 (13,7)	34 (15,0)	15 (11,4)	
Суммарный балл злокачественности Total malignancy score	14,0 (12,0–15,0)	13,0 (11,0–15,0)	15,0 (14,0–16,0)	<0,001
Уровень экспрессии эстрогеновых рецепторов Level of estrogen receptor expression	8,0 (7,0–8,0)	8,0 (7,0–8,0)	8,0 (7,0–8,0)	0,772
Экспрессия эстрогеновых рецепторов, n (%) Estrogen receptor expression, n (%)	51 (14,2)	37 (16,4)	14 (10,6)	0,177
Уровень экспрессии прогестероновых рецепторов Level of progesterone receptor expression	7,0 (3,0–8,0)	7,0 (2,0–8,0)	7,0 (3,0–8,0)	0,447
Экспрессия прогестероновых рецепторов, n (%) Progesterone receptor expression, n (%)	93 (26,0)	61 (27,0)	32 (24,2)	0,655

Окончание таблицы 1
End of the table 1

Показатель Parameter	Все пациентки All patients	N–	N+	p
Экспрессия HER2, n (%): HER2-expression, n (%):				
отрицательная negative	313 (87,4)	197 (87,2)	116 (87,9)	0,503
неопределенная equivocal	10 (2,8)	8 (3,5)	2 (1,5)	
положительная positive	35 (9,8)	21 (9,3)	14 (10,6)	
Уровень Ki-67, % Level of Ki-67, %	18,0 (12,0–37,0)	17,0 (12,0–37,8)	22,0 (14,5–35,0)	0,559
Биологический подтип, n (%): Biological subtype, n (%):				
люминальный А luminal A	202 (56,4)	130 (57,5)	72 (54,5)	0,159
люминальный В HER2-отрицательный luminal B HER2-negative	89 (24,9)	49 (21,7)	40 (30,3)	
люминальный В HER2-положительный luminal B HER2-positive	18 (5,0)	11 (4,9)	7 (5,3)	
HER2-положительный HER2-positive	15 (4,2)	9 (4,0)	6 (4,5)	
трижды негативный triple negative	34 (9,5)	27 (11,9)	7 (5,3)	

Примечание. N– — пациентки без метастазов в регионарные лимфатические узлы; N+ — пациентки с метастазами в регионарные лимфатические узлы.

Note. N– — patients without metastases to regional lymph nodes; N+ — patients with metastases to regional lymph nodes.

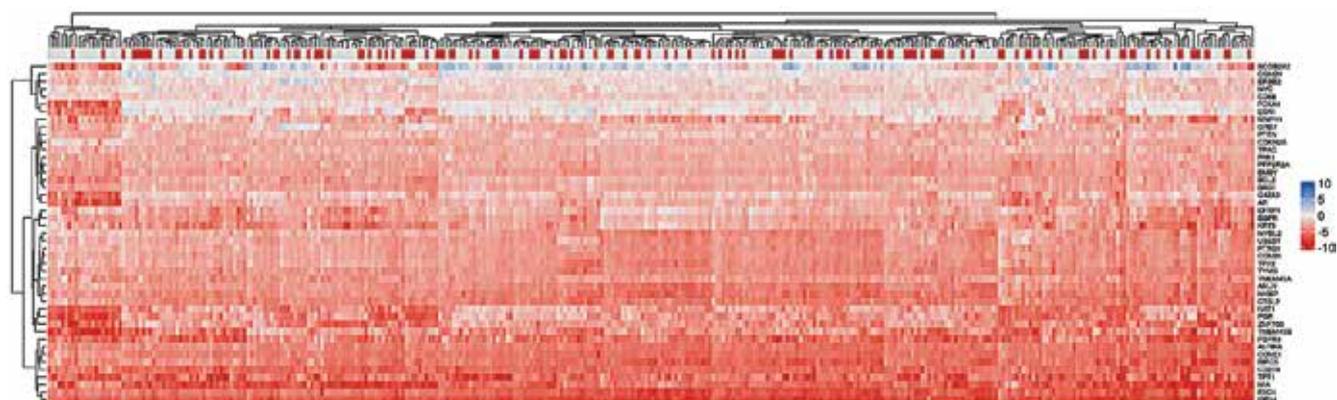
опухоли (наличие в опухолевой ткани структур с отчетливым просветом) (1–3 балла); полиморфизм опухолевых клеток (1–3 балла); митотическая активность опухолевых клеток (1–3 балла); инфильтративный компонент (1–5 баллов); лимфоидная инфильтрация стромы опухолевого узла (0–3 балла); опухолевые эмболы в сосудах стромы (0–3 балла). Сумма колеблется в пределах значений от 6 до 20 баллов. Как видно из табл. 1, имелись также статистически значимые различия между группами по локализации опухоли ($p = 0,005$). Одновременно необходимо отметить, что статистически значимых различий между пациентками с наличием и отсутствием метастазов в регионарные лимфатические узлы по таким показателям, как гистологический вариант опухоли, мультифокальность, экспрессия рецепторов эстрогена и прогестерона, HER2-статус, уровень Ki-67 и, соответственно, биологический подтип опухоли, получено не было.

Общая характеристика транскриптомного профиля ткани опухолей, полученных от пациенток, и результаты иерархической бикластеризации матрицы экспрессии представлены на рисунке.

Сравнительный анализ транскриптомного профиля опухолей выявил статистически значимые отличия между группами в уровне экспрессии 3 генов: *TMEM45A* ($p = 0,016$), *CCND1* ($p = 0,019$) и *MIA* ($p = 0,046$) (табл. 2).

В однофакторных моделях была выявлена статистически значимая ассоциация уровня экспрессии *FOXAI*, *CCND1*, *MIA* и *TMEM45A* с наличием метастазов. При этом ассоциация уровня экспрессии генов *PTTG1*, *UBE2T*, *CCNB1* и *AR* была статистически значимой при добавлении в базовую регрессионную модель в качестве предикторов (табл. 3).

Результаты пошагового отбора генетических маркеров — потенциальных предикторов наличия метастазов в регионарные лимфатические узлы представлены в табл. 4. В итоговую модель были включены следующие гены: *MKI67*, *GRB7*, *KRT5*, *SFRP1*, *NAT1*, *PTEN*, *EXO1*, *PPP2R2A*, *TPX2*, *CCNB1*, *ERBB2*, *EGFR*, *MIA*, *BIRC5*, *TRAC*, *AR*, *ZNF703*, *TPT1* и *TMEM45A*. Однако в результате проведенного анализа коллинеарности (коэффициенты корреляции Спирмена) и мультиколлинеарности предикторов было выявлено, что внесение в предиктивную модель *GRB7*, *TPX2*, *CCNB1* и *ERBB2* является избыточным. Полученная в результате применения пошагового отбора предикторов модель характеризовалась высоким качеством и дискриминативной способностью: $R^2 = 0,354$, площадь под кривой операционных характеристик (AUC) = 0,803 (95 % ДИ 0,755–0,850). Удаление маркеров *GRB7*, *TPX2*, *CCNB1* и *ERBB2* из итоговой модели не оказало существенного влияния на ее качество ($R^2 = 0,328$, AUC = 0,791 (95 % ДИ 0,742–0,840)).



Тепловые карты экспрессии генов в тканях опухолей пациенток без метастазов (серые столбцы верхней аннотации) и с метастазами (красные столбцы верхней аннотации)

Heat maps of gene expression in tumor tissues of patients without metastases (gray columns of top annotation) and with metastases (red columns of the top annotation)

Таблица 2. Транскриптомный профиль опухолей в исследуемых группах

Table 2. Transcriptomic profile of tumors in study groups

Ген Gene	Все пациентки All patients	N–	N+	P
ANLN	–4,4 (–5,1–(–3,8))	–4,4 (–5,2–(–3,8))	–4,4 (–5,0–(–3,8))	0,631
AR	–3,0 (–3,7–(–2,4))	–3,0 (–3,8–(–2,4))	–3,0 (–3,4–(–2,4))	0,145
AURKA	–5,1 (–5,6–(–4,6))	–5,1 (–5,6–(–4,6))	–5,0 (–5,6–(–4,6))	0,756
BAG1	–3,3 (–3,7–(–2,9))	–3,3 (–3,7–(–3,0))	–3,2 (–3,7–(–2,8))	0,249
BCL2	–3,1 (–3,7–(–2,6))	–3,1 (–3,8–(–2,6))	–3,1 (–3,5–(–2,6))	0,609
BIRC5	–5,6 (–6,3–(–4,8))	–5,6 (–6,3–(–4,8))	–5,5 (–6,3–(–4,8))	0,877
CCNB1	–3,9 (–4,3–(–3,3))	–3,9 (–4,3–(–3,3))	–3,8 (–4,3–(–3,3))	0,936
CCND1	–0,6 (–1,1–(–0,2))	–0,7 (–1,2–(–0,3))	–0,6 (–1,1–0)	0,019
CCNE1	–5,4 (–5,8–(–4,9))	–5,4 (–5,8–(–4,9))	–5,4 (–5,7–(–4,9))	0,946
CD274	–5,8 (–6,2–(–5,4))	–5,8 (–6,2–(–5,4))	–5,8 (–6,2–(–5,4))	0,756
CD68	–1,6 (–1,9–(–1,3))	–1,6 (–1,9–(–1,3))	–1,6 (–2,0–(–1,3))	0,506
CDKN2A	–2,7 (–3,1–(–2,4))	–2,7 (–3,1–(–2,4))	–2,8 (–3,1–(–2,4))	0,519
CTSL2	–4,8 (–5,3–(–4,3))	–4,8 (–5,3–(–4,3))	–4,8 (–5,2–(–4,4))	0,980
EGFR	–3,5 (–4,1–(–3,0))	–3,5 (–4,1–(–2,9))	–3,6 (–4,0–(–3,1))	0,458
EMSY	–3,5 (–3,8–(–3,2))	–3,5 (–3,8–(–3,2))	–3,5 (–3,9–(–3,2))	0,664
ERBB2	–1,2 (–1,7–(–0,7))	–1,2 (–1,8–(–0,7))	–1,2 (–1,7–(–0,7))	0,626
ESR1	–0,8 (–2,0–(–0,2))	–0,8 (–2,0–(–0,2))	–0,9 (–2,0–(–0,2))	0,942
EXO1	–6,2 (–7,0–(–5,4))	–6,2 (–7,0–(–5,4))	–6,1 (–6,9–(–5,5))	0,873
FGFR4	–5,6 (–6,3–(–4,7))	–5,7 (–6,3–(–4,8))	–5,3 (–6,3–(–4,5))	0,216
FOXA1	–0,9 (–1,4–(–0,5))	–0,9 (–1,5–(–0,5))	–0,8 (–1,3–(–0,4))	0,136
GATA3	–2,1 (–2,9–(–1,6))	–2,1 (–2,9–(–1,6))	–2,1 (–2,9–(–1,6))	0,288

Окончание таблицы 2
End of the table 2

Ген Gene	Все пациентки All patients	N–	N+	p
GRB7	–2,6 (–2,9–(–2,1))	–2,6 (–2,9–(–2,1))	–2,5 (–3,0–(–2,0))	0,858
KIF14	–6,9 (–7,3–(–6,2))	–6,9 (–7,3–(–6,3))	–6,8 (–7,4–(–6,1))	0,955
KRT5	–3,8 (–4,7–(–2,9))	–3,8 (–4,8–(–2,9))	–3,8 (–4,7–(–3,0))	0,985
MIA	–6,4 (–7,3–(–5,6))	–6,3 (–7,2–(–5,4))	–6,5 (–7,5–(–5,9))	0,046
MKI67	–4,9 (–5,4–(–4,2))	–4,9 (–5,5–(–4,3))	–4,7 (–5,2–(–4,2))	0,101
MMP11	–2,6 (–3,7–(–1,8))	–2,7 (–3,7–(–1,8))	–2,5 (–3,7–(–1,7))	0,552
MYBL2	–3,6 (–4,5–(–2,8))	–3,7 (–4,5–(–2,8))	–3,4 (–4,5–(–2,7))	0,485
MYC	–1,4 (–1,9–(–1,0))	–1,5 (–1,9–(–1,0))	–1,4 (–2,0–(–0,9))	0,458
NAT1	–4,1 (–5,4–(–2,8))	–3,9 (–5,3–(–2,8))	–4,2 (–5,4–(–3,0))	0,360
PAK1	–3,0 (–3,4–(–2,7))	–3,0 (–3,3–(–2,6))	–3,1 (–3,4–(–2,8))	0,444
PGR	–4,2 (–5,6–(–2,9))	–4,3 (–5,5–(–3,0))	–4,1 (–5,7–(–2,9))	0,7134
PPP2R2A	–3,1 (–3,6–(–2,8))	–3,1 (–3,6–(–2,8))	–3,1 (–3,6–(–2,8))	0,363
PTEN	–2,4 (–3,0–(–1,8))	–2,5 (–3,0–(–1,8))	–2,4 (–2,8–(–1,8))	0,386
PTTG1	–3,7 (–4,3–(–3,2))	–3,8 (–4,3–(–3,2))	–3,7 (–4,3–(–3,1))	0,703
SCGB2A2	–0,4 (–2,2–1,4)	–0,5 (–2,8–1,4)	0,0 (–1,8–1,6)	0,160
SFRP1	–3,0 (–3,8–(–2,2))	–3,0 (–3,8–(–2,1))	–3,0 (–3,9–(–2,4))	0,471
TMEM45A	–3,9 (–4,3–(–3,4))	–3,8 (–4,2–(–3,3))	–4,0 (–4,5–(–3,5))	0,016
TMEM45B	–4,4 (–5,6–(–3,5))	–4,4 (–5,8–(–3,6))	–4,5 (–5,4–(–3,4))	0,536
TPT1	–5,8 (–7,0–(–5,1))	–5,8 (–7,0–(–5,2))	–5,7 (–6,9–(–5,0))	0,362
TPX2	–3,9 (–4,6–(–3,2))	–4,0 (–4,6–(–3,2))	–3,9 (–4,6–(–3,2))	0,392
TRAC	–2,7 (–3,1–(–2,4))	–2,7 (–3,1–(–2,3))	–2,8 (–3,1–(–2,5))	0,067
TYMS	–4,3 (–4,7–(–3,9))	–4,3 (–4,7–(–3,9))	–4,3 (–4,8–(–3,8))	0,827
UBE2T	–3,7 (–4,4–(–3,0))	–3,7 (–4,4–(–3,0))	–3,7 (–4,4–(–3,1))	0,945
ZNF703	–4,3 (–5,4–(–3,5))	–4,4 (–5,4–(–3,6))	–4,2 (–5,3–(–3,4))	0,149

Примечание. N– – пациентки без метастазов в регионарные лимфатические узлы; N+ – пациентки с метастазами в регионарные лимфатические узлы.

Note. N– – patients without metastases to regional lymph nodes; N+ – patients with metastases to regional lymph nodes.

Обсуждение

Эволюция хирургического лечения РМЖ привела к тому, что на сегодняшний день хирурги-онкологи стоят на рубеже полного отказа от вмешательства на регионарных лимфатических узлах, включая биопсию сигнальных лимфатических узлов. В настоящее время инициировано и выполняется сразу несколько международных исследований, результаты которых нам позволят ответить на вопрос, у какой категории

пациенток РМЖ можно избежать выполнения какой-либо аксиллярной хирургии. Это исследования SOUND (Европа), INSEMA (Германия), BOOG 13–08 (Дания), SOAPET (Китай), NAUTILUS (Корея). В связи с этим клиницисты крайне нуждаются в надежных предикторах метастазов в регионарные лимфатические узлы, знание которых позволило бы более уверенно себя чувствовать при отказе от аксиллярной хирургии.

Таблица 3. Результаты оценки эффектов предикторов, полученные в логистических регрессионных моделях
Table 3. Results of evaluating predictor effects obtained in logistic regression models

Предиктор Predictor	ОШ OR	p	ОШ (корр.) OR (adj.)	p	AUC	p _{DeLong}
<i>MKI67</i>	0,158 [-0,086; 0,405]	0,207	-0,088 [-0,368; 0,190]	0,537	68,8 [62,9; 74,8]	0,501
<i>GRB7</i>	0,041 [-0,182; 0,261]	0,714	-0,025 [-0,273; 0,216]	0,840	68,8 [62,8; 74,7]	0,246
<i>PGR</i>	0,015 [-0,114; 0,145]	0,819	0,032 [-0,110; 0,175]	0,657	68,4 [62,4; 74,4]	0,552
<i>CTSL2</i>	-0,036 [-0,302; 0,225]	0,788	-0,211 [-0,513; 0,082]	0,164	69,5 [63,6; 75,5]	0,184
<i>MYBL2</i>	0,057 [-0,124; 0,240]	0,537	-0,192 [-0,420; 0,029]	0,092	69,6 [63,7; 75,5]	0,263
<i>AURKA</i>	0,082 [-0,194; 0,359]	0,559	-0,085 [-0,388; 0,216]	0,580	68,8 [62,8; 74,8]	0,473
<i>CDKN2A</i>	-0,161 [-0,487; 0,152]	0,322	-0,295 [-0,647; 0,047]	0,094	69,2 [63,4; 75,1]	0,490
<i>KRT5</i>	0,012 [-0,135; 0,160]	0,873	-0,008 [-0,168; 0,153]	0,921	68,7 [62,7; 74,7]	0,121
<i>FOXA1</i>	0,204 [0,035; 0,398]	0,027	0,273 [0,079; 0,489]	0,009	70,4 [64,6; 76,1]	0,164
<i>SFRP1</i>	-0,041 [-0,203; 0,122]	0,622	0,045 [-0,138; 0,230]	0,629	68,6 [62,6; 74,5]	0,990
<i>NAT1</i>	-0,066 [-0,210; 0,078]	0,368	-0,073 [-0,237; 0,088]	0,374	69,0 [63,1; 74,9]	0,405
<i>PTEN</i>	0,134 [-0,137; 0,411]	0,335	0,233 [-0,075; 0,551]	0,143	69,3 [63,4; 75,2]	0,296
<i>CD68</i>	-0,236 [-0,653; 0,177]	0,263	-0,194 [-0,644; 0,254]	0,395	68,6 [62,6; 74,6]	0,943
<i>EMSY</i>	-0,115 [-0,504; 0,271]	0,557	-0,125 [-0,550; 0,298]	0,563	68,8 [62,8; 74,8]	0,543
<i>GATA3</i>	0,144 [-0,021; 0,318]	0,095	0,178 [-0,012; 0,377]	0,072	68,9 [63,0; 74,9]	0,696
<i>EXO1</i>	-0,018 [-0,231; 0,196]	0,872	-0,274 [-0,527; -0,029]	0,030	70,0 [64,2; 75,8]	0,225
<i>PPP2R2A</i>	-0,132 [-0,449; 0,186]	0,413	-0,175 [-0,525; 0,176]	0,3270	69,1 [63,1; 75,0]	0,339
<i>TPX2</i>	0,092 [-0,120; 0,305]	0,396	-0,140 [-0,387; 0,105]	0,264	69,2 [63,3; 75,1]	0,314
<i>PAK1</i>	-0,137 [-0,487; 0,204]	0,435	-0,197 [-0,577; 0,173]	0,300	68,8 [62,9; 74,8]	0,687
<i>PTTG1</i>	0,003 [-0,263; 0,268]	0,984	-0,319 [-0,634; -0,013]	0,043	69,6 [63,7; 75,5]	0,372
<i>UBE2T</i>	-0,023 [-0,247; 0,198]	0,836	-0,322 [-0,595; -0,059]	0,018	70,3 [64,5; 76,0]	0,167
<i>KIF14</i>	-0,048 [-0,281; 0,184]	0,684	-0,224 [-0,487; 0,033]	0,090	69,9 [64,0; 75,8]	0,152
<i>CCNB1</i>	0,016 [-0,288; 0,318]	0,920	-0,418 [-0,790; -0,057]	0,025	70,3 [64,4; 76,1]	0,169
<i>ERBB2</i>	0,091 [-0,120; 0,301]	0,397	0,060 [-0,170; 0,289]	0,609	68,6 [62,6; 74,6]	0,973

Окончание таблицы 3

End of the table 3

Предиктор Predictor	ОШ OR	<i>p</i>	ОШ (корр.) OR (adj.)	<i>p</i>	AUC	<i>P</i> _{DeLong}
<i>ESR1</i>	0,047 [-0,079; 0,178]	0,470	0,141 [-0,011; 0,300]	0,075	69,2 [63,3; 75,1]	0,471
<i>MMP11</i>	0,040 [-0,109; 0,191]	0,601	0,057 [-0,110; 0,227]	0,504	68,6 [62,7; 74,6]	0,916
<i>CCND1</i>	0,349 [0,101; 0,605]	0,007	0,286 [0,022; 0,557]	0,035	69,9 [64,1; 75,8]	0,214
<i>BCL2</i>	0,058 [-0,180; 0,300]	0,634	0,142 [-0,123; 0,412]	0,296	68,8 [62,9; 74,7]	0,698
<i>BAG1</i>	0,096 [-0,229; 0,420]	0,561	0,033 [-0,313; 0,379]	0,849	68,6 [62,6; 74,6]	0,813
<i>EGFR</i>	-0,081 [-0,308; 0,146]	0,485	0,003 [-0,250; 0,259]	0,981	68,6 [62,6; 74,6]	0,426
<i>TMEM45B</i>	0,048 [-0,085; 0,183]	0,484	0,096 [-0,052; 0,248]	0,208	68,7 [62,8; 74,6]	0,901
<i>MYC</i>	0,069 [-0,234; 0,372]	0,655	-0,016 [-0,346; 0,315]	0,926	68,6 [62,6; 74,6]	0,900
<i>SCGB2A2</i>	0,058 [-0,021; 0,139]	0,155	0,082 [-0,004; 0,171]	0,065	68,9 [63,0; 74,8]	0,751
<i>MIA</i>	-0,196 [-0,371; -0,026]	0,026	-0,189 [-0,376; -0,008]	0,043	70,1 [64,2; 75,9]	0,124
<i>BIRC5</i>	0,005 [-0,184; 0,194]	0,957	-0,133 [-0,344; 0,074]	0,211	69,1 [63,2; 75,0]	0,420
<i>CD274</i>	-0,165 [-0,462; 0,128]	0,272	-0,159 [-0,478; 0,155]	0,324	68,7 [62,7; 74,7]	0,784
<i>TRAC</i>	-0,247 [-0,618; 0,118]	0,187	-0,278 [-0,679; 0,119]	0,171	68,8 [62,7; 74,8]	0,841
<i>AR</i>	0,178 [-0,002; 0,370]	0,061	0,269 [0,055; 0,497]	0,017	69,7 [63,9; 75,6]	0,311
<i>ZNF703</i>	0,115 [-0,034; 0,269]	0,135	0,147 [-0,016; 0,313]	0,079	69,4 [63,6; 75,2]	0,396
<i>TYMS</i>	-0,101 [-0,395; 0,190]	0,497	-0,302 [-0,630; 0,019]	0,068	70,1 [64,2; 75,9]	0,128
<i>CCNE1</i>	-0,069 [-0,350; 0,208]	0,626	-0,308 [-0,639; 0,010]	0,062	69,5 [63,6; 75,4]	0,321
<i>TPT1</i>	0,064 [-0,091; 0,223]	0,419	0,083 [-0,086; 0,255]	0,339	69,2 [63,3; 75,1]	0,191
<i>FGFR4</i>	0,074 [-0,092; 0,241]	0,382	0,029 [-0,149; 0,207]	0,746	68,5 [62,5; 74,5]	0,703
<i>ANLN</i>	0,024 [-0,201; 0,250]	0,833	-0,277 [-0,552; -0,008]	0,046	70,0 [64,1; 75,8]	0,186
<i>TMEM45A</i>	-0,354 [-0,662; -0,060]	0,021	-0,439 [-0,763; -0,129]	0,0065	70,6 [64,8; 76,4]	0,119

Примечание. N- — пациентки без метастазов в регионарные лимфатические узлы; N+ — пациентки с метастазами в регионарные лимфатические узлы; ОШ — отношение шансов; ОШ (корр.) — отношение шансов скорректированное.

Note. N- — patients without metastases to regional lymph nodes; N+ — patients with metastases to regional lymph nodes; OR — odds ratio; OR (adj.) — odds ratio adjusted.

Таблица 4. Эффекты предикторов в регрессионной модели, полученной с применением пошагового отбора
Table 4. Predictor effects in a regression model using stepwise selection

Предиктор Predictor	ОШ OR	<i>p</i>	ОШ (корр.) OR (adj.)	<i>p</i>
<i>MKI67</i>	1,924 [1,031; 3,688]	0,0436	1,971 [1,153; 3,421]	0,0142
<i>GRB7</i>	0,427 [0,193; 0,924]	0,0321	—	
<i>KRT5</i>	1,502 [1,070; 2,160]	0,0228	1,479 [1,065; 2,107]	0,0242
<i>SFRP1</i>	1,491 [0,995; 2,262]	0,0556	1,437 [0,974; 2,145]	0,0706
<i>NAT1</i>	0,814 [0,642; 1,028]	0,0855	0,844 [0,677; 1,049]	0,1276
<i>PTEN</i>	1,622 [1,024; 2,642]	0,0450	1,475 [0,958; 2,324]	0,0848
<i>EXO1</i>	0,602 [0,350; 1,001]	0,0549	0,701 [0,434; 1,110]	0,1311
<i>PPP2R2A</i>	0,296 [0,142; 0,600]	0,0009	0,282 [0,144; 0,528]	0,0001
<i>TPX2</i>	2,520 [1,181; 5,633]	0,0201	—	—
<i>CCNB1</i>	0,528 [0,227; 1,200]	0,1315	—	—
<i>ERBB2</i>	2,331 [1,091; 5,101]	0,0310	—	—
<i>EGFR</i>	0,579 [0,320; 1,018]	0,0632	0,703 [0,404; 1,198]	0,2007
<i>MIA</i>	0,586 [0,397; 0,849]	0,0056	0,544 [0,369; 0,787]	0,0016
<i>BIRC5</i>	0,598 [0,375; 0,942]	0,0279	0,760 [0,514; 1,120]	0,1643
<i>TRAC</i>	0,614 [0,378; 0,989]	0,0462	0,630 [0,388; 1,011]	0,0571
<i>AR</i>	1,391 [0,954; 2,061]	0,0921	1,395 [0,973; 2,030]	0,0748
<i>ZNF703</i>	1,503 [1,126; 2,026]	0,0063	1,492 [1,144; 1,967]	0,0037
<i>TPT1</i>	1,219 [0,956; 1,559]	0,1114	1,174 [0,929; 1,488]	0,1798
<i>TMEM45A</i>	0,549 [0,353; 0,836]	0,0063	0,554 [0,360; 0,836]	0,0059

Примечание. *N*– — пациентки без метастазов в регионарные лимфатические узлы; *N*+ — пациентки с метастазами в регионарные лимфатические узлы; ОШ — отношение шансов; ОШ (корр.) — отношение шансов скорректированное.
Note. *N*– — patients without metastases to regional lymph nodes; *N*+ — patients with metastases to regional lymph nodes; OR — odds ratio; OR (adj.) — odds ratio adjusted.

По данным литературы, наиболее частыми факторами, определяющими метастатическое поражение лимфатических узлов у больных РМЖ, являются возраст пациента, размер опухоли, лимфоваскулярная инвазия, гистологический вариант, мультифокальность, HER2-статус и степень злокачественности (G) [16–18]. В рамках выполненной работы мы попытались найти гены-предикторы лимфогенной диссеминации первичной опухоли. Для реализации поставленной цели была разработана транскрипционная панель, включающая 45 функциональных и 3 референсных гена.

Как показали результаты исследования, экспрессия генов *TMEM45A* ($p = 0,016$), *CCND1* ($p = 0,019$) и *MIA* ($p = 0,046$) оказалась статистически выше в группе пациенток с метастазами в регионарные лимфатические узлы.

TMEM45A (также называемый *DERP7*, *DNAPTP4* или *FLJ10134*) принадлежит к большому семейству генов, кодирующих трансмембранные (ТМЕМ) белки. В последнее время опубликовано несколько исследований, касающихся экспрессии и функции *TMEM45A* при злокачественных новообразованиях. *TMEM45A* был зарегистрирован как эпигенетически регулируемый ген клеточной линии MCF-7 РМЖ [19]. Сообщается, что высокий уровень экспрессии *TMEM45A* связан с плохим прогнозом у пациенток с РМЖ [20].

Циклин D1 — это белок из семейства циклинов, специфически регулирующий фазовый переход G1/S-фаза в клеточном цикле. У человека он кодируется геном *CCND1*, расположенным в хромосомном локусе 11q13. Члены данного семейства характеризуются резкой зависимостью содержания этих белков в клетке

от фазы клеточного цикла. Циклины функционируют как регуляторы так называемых циклинзависимых киназ (CDK). При опухолях различного генеза установлено, что повышенная продукция циклина D1 способствует инициации клеточного деления, коррелирует с большей частотой метастазирования опухолей и худшей выживаемостью больных [21]. Данные об уровне экспрессии циклина D1 и его прогностическом значении в лечении РМЖ остаются противоречивыми. Часть исследований показали, что избыточная экспрессия циклина D1 является хорошим прогностическим фактором, особенно для пациентов с эстрогеноположительными опухолями – в некоторых условиях циклин D1 может вызывать остановку роста вместо прогрессирования клеточного цикла [22]. Однако другие авторы сообщают, что избыточная экспрессия циклина D1 является предиктором плохого прогноза – циклин D1 способствует фосфорилированию белка ретинобластомы и других субстратов путем связывания с циклинзависимой киназой 4/6 (CDK4/6), что способствует быстрому размножению клеток [23, 24].

MIA (melanoma inhibitory activity) – маркер меланомы, но его белок экспрессируется и во многих других злокачественных новообразованиях, таких как РМЖ, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак шейки матки и т.д. Экспрессия *MIA* коррелирует с повышенной миграцией, активностью опухолевых клеток, их инвазией, подавлением апоптоза и, соответственно, связана с прогрессированием злокачественной опухоли, метастазированием и плохим прогнозом при различных локализациях опухоли [25]. Взаимосвязь экспрессии *MIA* с клинико-морфологическими данными, прогнозом заболевания и метастазированием подробно описана в литературе при меланоме, раке поджелудочной железы, раке пищевода, плоскоклеточном раке ротоглотки, раке легкого, хондросаркоме [26, 27]. Несмотря на то что в ряде исследований было показано достоверное увеличение экспрессии мРНК *MIA* при РМЖ, мало данных о корреляции его экспрессии с клинико-морфологическими параметрами первичной опухоли, прогнозом заболевания и метастазированием.

В последние годы для облегчения принятия решений в клинической практике все чаще стали применяться номограммы. Номограмма представляет собой прогностический алгоритм, позволяющий оценить вероятность определенного исхода индивидуально для каждого конкретного пациента. J.L. Bevilacqua и соавт. из Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC) разработали математическую модель, пред-

сказывающую вероятность метастатического поражения сигнальных лимфатических узлов у больных РМЖ. Данная модель базируется на анализе 9 факторов: возраст, размер опухолевого узла, гистологический вариант, локализация опухоли, лимфоваскулярная инвазия, мультифокальность, степень злокачественности, статус эстрогеновых и прогестероновых рецепторов. AUC составила 0,754, что свидетельствует о достаточно хорошей прогностической ценности данной номограммы [28]. Данная номограмма была с успехом валидирована в Германии [29] и Китае [30].

Желание улучшить номограмму MSKCC заставляет искать новые прогностические факторы метастатического поражения регионарных лимфатических узлов у больных РМЖ и разрабатывать новые математические модели. Сотрудниками Ульяновского государственного университета (УлГУ) была разработана номограмма, предсказывающая метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов у больных РМЖ на основании анализа таких факторов, как возраст, размер и локализация опухолевого очага, суммарный балл злокачественности, HER2-статус. AUC в номограмме УлГУ составила 0,737, что говорит о высокой точности прогнозирования разработанной модели [31]. Валидация в проспективной группе и сравнительный анализ с номограммой MSKCC продемонстрировали, что номограмма УлГУ характеризуется равной прогностической ценностью и является более удобной в использовании [32].

В рамках настоящего исследования была создана предиктивная модель, включающая 15 генов (*MKI67*, *KRT5*, *SFRP1*, *NAT1*, *PTEN*, *EXO1*, *PPP2R2A*, *EGFR*, *MIA*, *BIRC5*, *TRAC*, *AR*, *ZNF703*, *TPT1* и *TMEM45A*), которая с высокой степенью вероятности (AUC = 0,791) позволяет предсказывать метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов у больных РМЖ. Таким образом, можно утверждать, что интеграция разработанной модели в уже существующие номограммы позволит существенно увеличить их прогностическую ценность.

Выводы

Экспрессия генов *TMEM45A*, *CCND1* и *MIA* в первичной опухоли является маркером лимфогенного метастазирования у больных РМЖ. Разработанная предиктивная генетическая сигнатура может стать дополнительным диагностическим инструментом для прогнозирования риска метастатического поражения лимфатических узлов при планировании объема аксиллярной лимфодиссекции у пациенток с РМЖ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Злокачественные заболевания в России в 2019 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П.А.Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020. 252 с. [Malignant tumors in Russia in 2019. Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, A.O. Shachzadova. Moscow: P.A. Herzen Moscow Oncology Research Institute — a branch of the National Medical Research Center of Radiology, Ministry of Health of Russia, 2020. 252 p. (In Russ.).]
2. 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<3C1368::AID-CNCR1459>3E3.0.CO;2–9.
3. Silberman A.W., McVay C., Cohen J.S. 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.
4. Qiu S.Q., Zeng H.C., Zhang F. et al. 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.
5. Fisher B., Jeong J.H., Anderson S. et al. Twenty-five-year follow-up of a randomized trial comparing radical mastectomy, total mastectomy, and total mastectomy followed by irradiation. *N Engl J Med* 2002;347(8):567–75. DOI: 10.1056/NEJMoa020128.
6. 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.
7. Giuliano A.E., Hunt K.K., Ballman K.V. et al. Axillary dissection vs no axillary dissection in women with invasive breast cancer and sentinel node metastasis. *JAMA* 2011;305(6):569–75. DOI: 10.1001/jama.2011.90.
8. Shah-Khan M., Boughey J.C. Evolution of axillary nodal staging in breast cancer: clinical implications of the ACOSOG Z0011 trial. *Cancer Control* 2012;19:267–76. DOI: 10.1177/107327481201900403.
9. Sparano J.A., Gray R.J., Makower D.F. et al. Prospective validation of a 21-gene expression assay in breast cancer. *N Engl J Med* 2015;373(21):2005–14. DOI: 10.1056/NEJMoa1510764.
10. Sparano J.A., Gray R.J., Makower D.F. et al. Adjuvant chemotherapy guided by a 21-gene expression assay in breast cancer. *N Engl J Med* 2018;379(2):111–21. DOI: 10.1056/NEJMoa1804710.
11. Nielsen T.O., Parker J.S., Leung S. et al. A comparison of PAM50 intrinsic subtyping with immunohistochemistry and clinical prognostic factors in tamoxifen-treated estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res* 2010;16(21):5222–32. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-1282.
12. Bastien R.R., Rodriguez-Lescure A., Ebbert M.T. et al. PAM50 breast cancer subtyping by RT-qPCR and concordance with standard clinical molecular markers. *BMC Med Genomics* 2012;4(5):44. DOI: 10.1186/1755-8794-5-44.
13. Tian S., Roepman P., Van't Veer L.J. et al. Biological functions of the genes in the Mamma Print breast cancer profile reflect the hallmarks of cancer. *Biomark Insights* 2010;28(5):129–38. DOI: 10.4137/BMI.S6184.
14. Cardoso F., van't Veer L.J., Bogaerts J. et al. 70-Gene signature as an aid to treatment decisions in early-stage breast cancer. *N Engl J Med* 2016;375(8):717–29. DOI: 10.1056/NEJMoa1602253.
15. Бурменская О.В., Трофимов Д.Ю., Кометова В.В. и др. Разработка и опыт использования транскрипционной сигнатуры генов в диагностике молекулярных подтипов рака молочной железы. *Акушерство и гинекология* 2020;(2):132–40. [Burmenskaya O.V., Trofimov D.Y., Kometova V.V. et al. Development and experience of using the transcriptional signature of genes in the diagnosis of molecular subtypes of breast cancer. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics & Gynecology* 2020;(2):132–40. (In Russ.).] DOI: 10.18565/aig.2020.2.132-140.
16. Voogd A.C., Coebergh J.W., Repelaer van Driel O.J. et al. The risk of nodal metastases in breast cancer patients with clinically negative lymph nodes: a population-based analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2000;62:63–9. DOI: 10.1023/a:1006447825160.
17. Viale G., Zurrida S., Mariorano E.G. et al. Predicting the status of axillary sentinel lymph nodes in 4351 patients with invasive breast carcinoma treated in a single institution. *Cancer* 2005;103:492–500. DOI: 10.1002/cncr.20809.
18. Дергунова Ю.А., Родионов В.В., Кометова В.В. Клинико-морфологические и молекулярно-биологические предикторы метастатического поражения регионарных лимфатических узлов у больных раком молочной железы. *Злокачественные опухоли* 2019;(3):12–9. [Dergunova Y.A., Rodionov V.V., Kometova V.V. Clinical, morphological and molecular biological predictors of metastatic lesions of regional lymph nodes in patients with breast cancer. *Zlokachestvennyye opukholi = Malignant tumors* 2019;(3):12–9. (In Russ.).] DOI: 10.18027/2224-5057-2019-9-3-12-19.
19. Hsieh T.C. and Wu J.M. Differential control of growth, cell cycle progression, and gene expression in human estrogen receptor positive MCF-7 breast cancer cells by extracts derived from polysaccharopeptide Γm-Yunity and Danshen and their combination. *Int J Oncol* 2006;29:1215–22.
20. De Backer O., Arnould T., Poumay Y. and Michiels C. *TMEM45A* is essential for hypoxia-induced chemoresistance in breast and liver cancer cells. *BMC Cancer* 2012;12:391. DOI: 10.1186/1471-2407-12-391.
21. Zhuo W., Zhang L., Wang Y. et al. Cyclin D1 G870A polymorphism is a risk factor for esophageal cancer among Asians. *Cancer Invest* 2012;30(9):630–6. DOI: 10.3109/07357907.2012.726385.
22. Mylona E., Tzelepis K., Theohari I. et al. Cyclin D1 in invasive breast carcinoma: favourable prognostic significance in unselected patients and within subgroups with an aggressive phenotype. *Histopathology* 2013(62):472–80. DOI: 10.1111/his.12013.
23. Li Z., Cui J., Yu Q. et al. Evaluation of CCND1 amplification and Cyclin D1 expression: diffuse and strong staining of Cyclin D1 could have same predictive roles as CCND1 amplification in ER positive breast cancers. *Am. J Transl Res* 2016;(8):142–53.
24. Ahlin C., Lundgren C., Embretse'n-Varro E. et al. High expression of cyclin D1 is associated to high proliferation rate and increased risk of mortality in women with ER-positive but not ER-negative breast cancers. *Breast Cancer Res Treat* 2017;164:667–78. DOI: 10.1007/s10549-017-4294-5.
25. Sasahira T., Kirita T., Kurihara M. et al. *MIA*-dependent angiogenesis and lymphangiogenesis are closely associated with progression, nodal metastasis and poor prognosis in tongue squamous cell carcinoma. *Eur J Cancer*;2010(46):2285–94. DOI: 10.1016/j.ejca.2010.04.027.
26. Sasahira T., Kirita T., Nishiguchi Y. et al. A comprehensive expression analysis of the *MIA* gene family in malignancies: *MIA* gene family members are novel, useful markers of esophageal, lung, and cervical squamous cell carcinoma. *Oncotarget* 2016;24(7):31137–52. DOI: 10.18632/oncotarget.9082.
27. Gu Q.H., Li D., Xie Z.H., Shen Q.B. The clinical significance of *MIA* gene in tumorigenesis of lung cancer. *Neoplasma* 2020;67(3):660–7. DOI: 10.4149/neo_2020_190511N422.

28. Bevilacqua J.L., Kattan M.W., Fey J.V. et al. Doctor, what are my chances of having a positive sentinel node? A validated nomogram for risk estimation. *J Clin Oncol* 2007;25(24):3670–9. DOI: 10.1200/JCO.2006.08.8013.
29. Klar M., Foeldi M., Markert S. et al. Good prediction of the likelihood for sentinel lymph node metastasis by using the MSKCC nomogram in a German breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2009;16:1136–42. DOI: 10.1245/s10434-009-0399-3.
30. Qiu P., Liu J., Wang Y. et al. Risk factors for sentinel lymph node metastasis and validation study of the MSKCC nomogram in breast cancer patients. *Jpn J Clin Oncol* 2012;42(11):1002–7. DOI: 10.1093/jjco/hys150.
31. Родионов В.В., Панченко С.В., Идрисова С.Р. и др. Номограмма для прогнозирования вероятности метастатического поражения регионарных лимфатических узлов у больных раком молочной железы. *Вопросы онкологии* 2015;61(3):435–8. [Rodionov V.V., Panchenko S.V., Idrisova S.R. et al. Nomogram for predicting the regional lymph nodes metastases in breast cancer patients. *Voprosy onkologii = Problems in Oncology* 2015;61(3):435–8. (In Russ.)].
32. Родионов В.В., Кометова В.В., Идрисова С.Р. и др. Отечественная номограмма для оценки риска метастатического поражения регионарных лимфатических узлов у больных раком молочной железы. *Акушерство и гинекология* 2020;(2):76–81. [Rodionov V.V., Kometova V.V., Idrisova S.R. et al. Native nomogram for assessing the risk of regional lymph nodes metastases in breast cancer patients. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics & Gynecology* 2020;(2):76–81. (In Russ.)]. DOI: 10.18565/aig.2020.2.76-81.

Вклад авторов

В.В. Родионов: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи;
О.В. Бурменская, В.В. Кометова: получение данных для анализа, анализ полученных данных;
Д.Ю. Трофимов: анализ полученных данных;
М.В. Родионова: написание текста рукописи;
Л.А. Ашрафян: редактирование рукописи.

Authors' contributions

V.V. Rodionov: development of research design, analysis of the data obtained, writing the article;
O.V. Burmenskaya, V.V. Kometova: obtaining data for analysis, analyzing the data obtained;
D.Yu. Trofimov: analysis of the data obtained;
M.V. Rodionova: writing the article;
L.A. Ashrafyan: editing the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.В. Родионов / V.V. Rodionov: <https://orcid.org/0000-0003-0096-7126>
О.В. Бурменская / O.V. Burmenskaya: <https://orcid.org/0000-0003-2842-3980>
Д.Ю. Трофимов / D.Yu. Trofimov: <https://orcid.org/0000-0002-1569-8486>
В.В. Кометова / V.V. Kometova: <https://orcid.org/0000-0001-9666-6875>
М.В. Родионова / M.V. Rodionova: <https://orcid.org/0000-0002-0658-1454>
Л.А. Ашрафян / L.A. Ashrafyan: <https://orcid.org/0000-0001-6396-4948>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

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 учета НИОКТР АААА-А18-118053190016-7 от 31.05.2018).

Financing

The work was performed within the framework of the state assignment "Personification of surgical treatment of patients with breast cancer using a mathematical model for assessing the individual risk of regional metastasis" (state registration number NIOKTR АААА-А18-118053190016-7 dated 31.05.2018).

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России (протокол № 9 от 22.11.2018). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of V.I. Kulakov Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia (protocol No. 9 dated 22.11.2018). All patients signed informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 26.06.2021. **Принята к публикации:** 19.07.2021.

Article submitted: 26.06.2021. **Accepted for publication:** 19.07.2021.