

Молекулярно-генетические кластеры трижды негативного рака молочной железы и их прогностическая значимость

И.С. Панченко^{1,2*}, В.В. Родионов³, О.В. Бурменская³,
В.В. Кометова³, В.К. Боженко⁴

¹Ульяновский государственный университет, г. Ульяновск, Россия;

²Областной клинический онкологический диспансер, г. Ульяновск, Россия;

³Национальный медицинский исследовательский центр акушерства,
гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова, г. Москва, Россия;

⁴Российский научный центр рентгенодиагностики, г. Москва, Россия

Реферат

Актуальность. Трижды негативный рак молочной железы — группа опухолей с разными клинико-морфологическими особенностями, прогнозом и ответом на терапию. Выделяют от 4 до 6 молекулярно-генетических разновидностей данного вида злокачественного новообразования.

Цель. Выделение отдельных кластеров трижды негативного рака молочной железы, отличавшихся по показателям общей и безрецидивной выживаемости.

Материал и методы исследования. На базе ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер» (г. Ульяновск) и ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России (г. Москва) в период с 2017 по 2021 г. проведён молекулярно-генетический анализ с использованием 45-генной сигнатуры у 246 пациентов с трижды негативным раком молочной железы, подтверждённым иммуногистохимически. Методом кластеризации K-средних удалось сформировать 4 молекулярно-генетических кластера. При сопоставлении кластеров по клинико-морфологическим признакам использовали t-критерий Стьюдента, U-критерий Манна–Уитни, точный критерий Фишера, критерий χ^2 Пирсона. Анализ выживаемости проводили с помощью построения кривых Каплана–Майера (период наблюдения составил 3 года и 8 мес). Сравнение кластеров по выживаемости осуществляли с помощью лонг-рангового критерия. При определении значимости переменных, влияющих на общую и безрецидивную выживаемость, использовали многофакторный анализ. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. В 1-й кластер вошли пациентки с ПА клинической стадией, инвазивным неспецифическим подтипом, G3, N0, Ki67 $\geq 31\%$, с гипозэкспрессией большинства генов, нестабильным прогностическим результатом: высокой выживаемостью при IV стадии (62%) и нулевой выживаемостью при IIIB стадии. Пациентки 2-го кластера ассоциировались с ПА стадией, медулярным гистологическим подтипом, G3, N0, Ki67 $\geq 31\%$, гиперэкспрессией генов гормональных рецепторов, рецепторов факторов роста и транскрипции и благоприятным прогнозом: лучшими показателями общей (100% при I стадии, 66% при IV стадии) и безрецидивной (75% при I стадии, 33% при IV стадии) выживаемости. Пациентки 3-го кластера чаще имели IA стадию, инвазивный дольковый и особые гистологические подтипы опухолей, N+, Ki67 $\leq 14\%$, высокую экспрессию генов, ответственных за регуляцию пролиферации, митоза, формирование веретена деления и регуляцию клеточного цикла, генов, регулирующих клеточный транспорт, процессы репликации и репарации дезоксирибонуклеиновой кислоты, маркёров дифференцировки опухолевых клеток и генов, регулирующих иммунные процессы, и имели закономерный прогноз — с ростом клинической стадии происходило снижение выживаемости. Пациентки 4-го кластера коррелировали с IV стадией, инвазивным неспецифическим подтипом, G1–G2, N0, Ki67=15–30%, средними значениями большинства генов и худшими показателями общей и безрецидивной выживаемости (64% при I стадии, 0% при IV стадии).

*Для переписки: pan91ch@yandex.ru

Поступила 06.04.2022; принята в печать 05.09.2022;

опубликована: 02.02.2023.

© Эко-Вектор, 2023. Все права защищены.

*For correspondence: pan91ch@yandex.ru

Submitted 06.04.2022; accepted 05.09.2022;

published: 02.02.2023.

© Eco-Vector, 2023. All rights reserved.

Вывод. На основании данных молекулярно-генетического профилирования трижды негативного рака молочной железы возможно выделение отдельных кластеров, статистически значимо отличающихся друг от друга по показателям выживаемости.

Ключевые слова: кластеры, трижды негативный рак молочной железы, общая выживаемость, безрецидивная выживаемость, молекулярно-генетическое исследование.

Для цитирования: Панченко И.С., Родионов В.В., Бурменская О.В., Кометова В.В., Боженко В.К. Молекулярно-генетические кластеры трижды негативного рака молочной железы и их прогностическая значимость. *Казанский мед. ж.* 2023;104(2):198–206. DOI: 10.17816/KMJ104784.

ORIGINAL STUDY | DOI: 10.17816/KMJ104784

Molecular genetic clusters of triple-negative breast cancer and their prognostic significance

I.S. Panchenko^{1,2*}, V.V. Rodionov³, O.V. Burmenskaya³, V.V. Kometova³, V.K. Bozhenko⁴

¹Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia;

²Regional clinical oncological dispensary, Ulyanovsk, Russia;

³Federal State Institution “Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology” Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, Russia;

⁴Scientific Center of Roentgenoradiology, Moscow, Russia

Abstract

Background. Triple-negative breast cancer is a group of tumors with different clinical and morphological features, prognosis, and response to therapy. There are from 4 to 6 molecular genetic varieties of this type of malignant neoplasm.

Aim. Identification of individual clusters of triple-negative breast cancer that differed in terms of overall and disease-free survival.

Material and methods. On the basis of the Regional Clinical Oncological Dispensary (Ulyanovsk) and “National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov” of the Ministry of Health of Russia (Moscow) in the period from 2017 to 2021, a molecular genetic analysis using a 45-gene signature in 246 patients with triple-negative breast cancer, confirmed by immunohistochemical method, was performed. Using the K-means clustering method, it was possible to form 4 molecular genetic clusters. When comparing clusters according to clinical and morphological features, the Student's t-test, Mann–Whitney U-test, Fisher's exact test, Pearson's χ^2 test were used. Survival analysis was performed using the construction of Kaplan–Meier curves (the observation period was 3 years and 8 months). Comparison of clusters in terms of survival was carried out using a long-rank test. Multivariate analysis was used to determine the significance of variables affecting overall and disease-free survival. Differences between groups were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results. Cluster 1 included patients with clinical stage IIA, invasive nonspecific subtype, G3, N0, Ki67 $\geq 31\%$, with hypoexpression of most genes, unstable prognostic outcome: high survival rate at stage IV (62%) and zero survival rate at stage IIIB. Patients of the 2nd cluster were associated with stage IIA, medullary histological subtype, G3, N0, Ki67 $\geq 31\%$, overexpression of genes for hormone receptors, growth factor receptors and transcription factors and a favorable prognosis: the best indicators of overall (100% in stage I, 66% in stage IV) and relapse-free (75% in stage I, 33% in stage IV) survival. Patients of the 3rd cluster more often had stage IA, invasive lobular and special histological tumor subtypes, N+, Ki67 $\leq 14\%$, high expression of genes responsible for the regulation of proliferation, mitosis, spindle formation and regulation of the cell cycle, genes that regulate cell transport, the processes of replication and repair of deoxyribonucleic acid, tumor cell differentiation markers, and genes that regulate immune processes, had a regular prognosis — with an increase in the clinical stage, a decrease in survival occurred. Cluster 4 patients correlated with stage IV, invasive non-specific subtype, G1–G2, N0, Ki67=15–30%, mean values of most genes, and worse overall and recurrence-free survival (64% in stage I, 0% in stage IV).

Conclusion. Based on the data of molecular genetic profiling of triple-negative breast cancer, it is possible to identify individual clusters that are statistically significantly different from each other in terms of survival rates.

Keywords: clusters, triple-negative breast cancer, overall survival, disease-free survival, molecular genetic testing.

For citation: Panchenko IS, Rodionov VV, Burmenskaya OV, Kometova VV, Bozhenko VK. Molecular genetic clusters of triple-negative breast cancer and their prognostic significance. *Kazan Medical Journal.* 2023;104(2):198–206. DOI: 10.17816/KMJ104784.

Актуальность

Трижды негативный рак молочной железы (ТНРМЖ) объединяет большое количество опухолей с различными клинико-морфологическими особенностями, прогнозом и ответом на терапию [1]. При ТНРМЖ по сравнению с другими подтипами рака молочной железы хуже показатели выживаемости [2]. Это, в первую очередь, связано с клиническими особенностями — частым развитием отдалённых метастазов (множественное поражение лёгких, печени, головного мозга) [3] и локорегионарного рецидива [4].

В последнее время появляется всё больше сообщений, в которых ТНРМЖ рассматривают с точки зрения молекулярно-генетических характеристик [5–8]. Авторы различных исследований обнаруживают следующие молекулярные особенности ТНРМЖ: частое обнаружение мутаций BRCA 1,2, амплификация циклина E1, гиперэкспрессия АКТ3, высокая частота мутаций TP53 [9], делеций в гене PTEN [10], гиперэкспрессия MYC [11], FANCA [12]. Особого внимания заслуживают работы, в которых описывают молекулярно-генетические кластеры ТНРМЖ [5–8]. Выделение кластеров позволяет лучше прогнозировать исход лечения, а также определять чувствительность к конкретным лекарственным препаратам.

Первой попыткой выделить подтипы ТНРМЖ была работа Lehmann и соавт., которые на примере 587 случаев (генно-экспрессионный анализ) ТНРМЖ выделили 6 подтипов: базально-подобные 1-й и 2-й подтипы (BL1, BL2), мезенхимальный (M), мезенхимально-стволоподобный (MSL), иммуномодуляторный (IM), люминальный андрогенный (LAR) [5]. Авторам удалось продемонстрировать статистически значимые различия между кластерами по безрецидивной выживаемости (БРВ). Худшую выживаемость продемонстрировал LAR-подтип, лучшую — MSL-подтип.

В другой классификации ТНРМЖ, основанной на молекулярно-генетическом анализе 198 случаев, Vurstein и соавт. выделяли в ТНРМЖ 4 подтипа: люминальный андрогенный (LAR), мезенхимальный (M), базальный иммуносупрессивный (BLIS), базальный иммуноактивированный (BLIA) [7]. Согласно результатам проведённого анализа, подтип BLIS имел худший прогноз по БРВ, в то время как подтип BLIA, напротив, характеризовался лучшими показателями БРВ. При анализе 165 случаев ТНРМЖ, используя анализ матричной рибонуклеиновой кислоты (РНК) и длинной некодирующей РНК, Lui и соавт.

выделяли также 4 подтипа: иммуномодуляторный (IM), люминальный андрогенный (LAR), мезенхимальный (MES), базально-подобный иммуносупрессивный (BLIS) [8]. В данном исследовании, статистически значимой разницы между сравниваемыми кластерами при анализе общей выживаемости (ОВ) продемонстрировано не было. Однако при сравнении показателей БРВ было показано, что при BLIS-подтипе результаты были значительно хуже, чем при других подтипах.

Цель

Цель нашего исследования — выделить на основании молекулярно-генетического анализа внутри ТНРМЖ кластеры, которые бы значительно отличались друг от друга по показателям ОВ и БРВ.

Материал и методы исследования

Настоящее исследование проведено на базе ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер» (г. Ульяновск) и ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России (г. Москва) в период с 2017 по 2021 г. В исследование вошли 246 пациенток с раком молочной железы. Критерием включения был морфологически подтверждённый ТНРМЖ T0–4N0–3M0–1, критерием исключения — другие иммуногистохимические подтипы.

Молекулярно-генетическое исследование выполняли с помощью 45-генной панели, включающей гены гормональных рецепторов (ESR1, PGR, AR), гены рецепторов ростовых факторов (ERBB2, GRB7, EGFR, FGFR4), гены, отвечающие за пролиферацию, митоз, формирование веретена деления и регуляцию клеточного цикла (MKI67, MYBL2, CCNB1, AURKA, BIRC5, MYC, CCND1, CCNE1, CDKN2A, KIF14, PPP2R2A, PTTG1, SFRP1, TMEM45B, TMEM45A, TPX2), гены, регулирующие клеточный транспорт (миграцию, инвазию, митоз, организацию цитоскелета), — MMP11, CTSL2, EMSY, PAK1, ANLN, гены апоптоза (BCL2, BAG1, PTEN), гены, участвующие в регуляции процессов репарации и репликации дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) (TYMS, EXO1, UBE2T, TPT1), гены, служащие маркерами дифференцировки клеток (SCGBA2, KRT5, MIA), гены, регулирующие транскрипцию (GATA, FOXA1, ZNF703, NAT1), а также гены, ответственные за иммунные процессы (CD68, TRA, PD-L1).

Для проведения молекулярно-генетического исследования парафиновые срезы толщиной

4,5 мкм в количестве 3 штук помещали в сухие пластиковые пробирки объемом 1,5 мл. Перед выделением тотальной РНК проводили предварительную изоляцию парафина и обработку образцов протеиназой К с помощью набора реагентов «Проба-ПК». Далее использовали наборы реагентов для выделения РНК «Проба НК-плюс», предусматривающие спиртовое осаждение нуклеиновых кислот. Полученные препараты РНК сразу использовали для постановки реакции обратной транскрипции (синтез комплементарной ДНК из РНК).

Аmplификацию комплементарной ДНК осуществляли в режиме реального времени с измерением уровня флюоресценции по каналам FAM и Cy5 (мультиплексная полимеразная цепная реакция) с использованием детектирующих амплификаторов ДТ прайм (приборное обеспечение и наборы производства ООО «НПФ ДНК-Технология», Россия).

После завершения 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 кластеризации опухолей молочной железы.

Статистический анализ проведён на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2010, Statistica 12 (StatSoft Inc., USA), MedCalc (версия 22). Для количественных переменных рассчитывали средние арифметические значения признаков (M) и стандартное отклонение (SD). Для сопоставления двух групп по клинико-морфологическим данным использовали методы статистики: t-критерий Стьюдента, U-критерий Манна–Уитни, точный критерий Фишера, критерий χ^2 Пирсона. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Формирование кластеров осуществляли на основании значения уровней экспрессии 45 генов каждого из 246 человек, вошедших в исследование. Использовали различные варианты «слепой» кластеризации, такие как метод K-средних, различные варианты метода деревьев классификации, дискриминантный метод. Анализ ОБ и БРВ проводили с помощью построения кривых Каплана–Мейера. При сравнении кривых выживаемости использован лонг-ранговый критерий. При определении значимости переменных, влияющих на ОБ и БРВ, применяли многофакторный анализ. Различия между двумя сравниваемыми группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

В анализ были включены гистологические препараты, данные историй болезней и амбулаторных карт пациенток (анамнестические, клинические, лабораторно-инструментальные). На все исследования получено разрешение этической комиссии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (протокол №12, от 23.12.2017).

Результаты

Совпадение классификации метода K-средних и дискриминантного метода составило 95% и более для всех сформированных кластеров. Объединение объектов в группы было устойчивым и воспроизводилось при использовании различных методов кластеризации с точностью более 90%. Наиболее интересным мы посчитали вариант кластеризации с формированием 4 кластеров. Описание характеристик для этого варианта кластеризации приведено в табл. 1.

В дальнейшем, с помощью дискриминантного метода определяли принадлежность генов к кластерам (табл. 2).

1-й кластер состоял из респонденток с низкими показателями экспрессии большинства генов. Пациентки данного кластера демонстрировали признаки, свойственные большинству участниц нашего исследования: старшая возрастная группа (≥ 51 лет), размер первичного очага ≥ 21 мм, ПА клиническая стадия, инвазивный неспецифический подтип, G3, N0, Ki67 $\geq 31\%$.

2-й кластер характеризовался преобладанием случаев с повышенной экспрессией генов гормональных рецепторов, рецепторов фактора роста, факторов транскрипции. Во 2-м кластере чаще встречались пациентки с ПА клинической стадией, медуллярным гистологическим вариантом опухоли, высокой степенью злокачественности (G3), отсутствием метастазов в регионарные лимфатические узлы (N0), высоким уровнем Ki67 $\geq 31\%$.

3-й кластер состоял из пациенток с высокой экспрессией генов, ответственных за регуляцию пролиферации, митоза, формирование веретена деления и клеточного цикла, генов, регулирующих клеточный транспорт, процессы репликации и репарации ДНК, маркёров дифференцировки опухолевых клеток и генов, регулирующих иммунные процессы. В 3-м кластере чаще встречались пациентки с IA клинической стадией, инвазивным дольковым раком и особыми гистологическими формами опухолей, частым вовлечением в опухолевый процесс регионарных лимфатических узлов (N+), низким уровнем Ki67 $\leq 14\%$.

Таблица 1. Характеристика кластеров

Признак	Кластеры				p
	1-й	2-й	3-й	4-й	
Количество участниц, абс.	90	87	30	39	—
Возраст, годы, M±SD	57±12	56±12	60±10	60±12	0,7129
Размер первичного очага, мм, M±SD	29±17	28±13	26±12	29±13	0,9093
IA стадия, абс. (%)	20 (22,2)	16 (18,4)	7 (23,3)	6 (15,4)	0,0086
IB стадия, абс.	—	—	—	1 (2,6)	
IIA стадия, абс. (%)	31 (34,4)	46 (52,9)	7 (23,3)	14 (35,9)	
IIIB стадия, абс. (%)	20 (22,2)	13 (14,9)	5 (16,7)	3 (7,7)	
IIIA стадия, абс. (%)	4 (4,4)	5 (5,7)	5 (16,7)	5 (12,8)	
IIIB стадия, абс. (%)	7 (7,8)	4 (4,6)	2 (6,7)	5 (12,8)	
IIIC стадия, абс. (%)	6 (6,8)	2 (2,3)	3 (10,0)	—	
IV стадия, абс. (%)	2 (2,2)	1 (1,2)	1 (3,3)	5 (12,8)	
Инвазивный неспецифический подтип, абс. (%)	73 (81,1)	29 (33,3)	13 (43,3)	25 (64,1)	
Инвазивный дольковый подтип, абс. (%)	5 (5,6)	—	5 (16,7)	3 (7,7)	
Медуллярный подтип, абс. (%)	10 (11,1)	50 (57,5)	2 (6,7)	4 (10,3)	
Особые формы, абс. (%)	2 (2,2)	8 (9,2)	10 (33,3)	7 (17,9)	
G1–G2, абс. (%)	38 (42,2)	22 (25,3)	15 (50,0)	24 (61,5)	0,0008
G3, абс. (%)	52 (57,8)	65 (74,7)	15 (50,0)	15 (38,5)	
N+, абс. (%)	27 (30,7)	19 (22,4)	16 (55,2)	14 (42,4)	0,0002
N0, абс. (%)	61 (69,3)	66 (77,6)	13 (44,8)	19 (57,6)	
Ki67 ≤14%, абс. (%)	8 (8,9)	4 (4,6)	14 (46,7)	7 (17,9)	0,0001
Ki67=15–30%, абс. (%)	24 (26,7)	9 (10,3)	7 (23,3)	18 (46,2)	
Ki67 ≥31%, абс. (%)	58 (64,4)	74 (85,1)	9 (30,0)	14 (35,9)	

4-й кластер был представлен женщинами со средними значениями большинства генов. Пациентки этого кластера чаще имели IV клиническую стадию заболевания, инвазивный неспецифический подтип опухоли, низкую и умеренную степень злокачественности (G1–2), умеренный уровень Ki67=15–30%.

Необходимо отметить, что по результатам молекулярно-генетического тестирования подтипов рака молочной железы, ранее представленного в публикации О.В. Бурменской [13], 91,8% опухолей оказались истинно трижды негативными, 6,5% имели люминальный B Her2/неу-негативный, 1,21% — Erbb2-позитивный, 0,4% — люминальный A подтип.

Анализ ОБ и БРВ пациенток проведён на 12.06.2021.

При анализе ОБ медиана наблюдения во всех группах не достигнута. За период наблюдения в 1-м кластере умерли 18 (20%) человек, во 2-м кластере — 7 (8,04%), в 3-м — 5 (16,6%),

в 4-м — 14 (35,89%). Как видно из рис. 1, лучшая ОБ была представлена во 2-м кластере, худшая — в 4-м кластере (log rank test p=0,0007).

При многофакторном анализе независимых переменных, влияющих на ОБ, наиболее значимыми факторами оказались стадия заболевания (p=0,0001), принадлежность пациентки ко второму кластеру (p=0,0512), а также гистологический вариант опухоли (p=0,0212). Поскольку стадия оказывала наибольшее влияние на общую выживаемость, она была нами рассмотрена отдельно.

Было показано, что пациентки из 2-го кластера имели лучшую ОБ при всех стадиях заболевания (от 100% при I стадии, до 66% при IV стадии). Пациентки из 4-го кластера характеризовались худшими показателями ОБ: зарегистрировано снижение выживаемости с 64% (при I стадии) до 0% (при IV стадии). Пациентки из 1-го кластера показали нестабильный результат: высокую выживаемость при IV стадии

Таблица 2. Распределение генов по кластерам

Ген	Значение	Уровень экспрессии генов			
		max	med	min	
ESR1	Группа рецепторов гормонов	2	1,3	4	
PGR		2	1,3	4	
AR		2	1,3	4	
ERBB2	Группа рецепторов ростовых факторов	2	3	1=4	
GRB7		3	2,4	1	
EGFR		2	3,4	1	
FGFR4		2	1,3	4	
MKI67	Группа генов, регулирующих пролиферацию, митоз, формирование веретена деления и регуляцию клеточного цикла	3	2,4	1	
MYBL2		3	2,4	1	
CCNB1		3	2,4	1	
AURKA		3	2,4	1	
BIRC5		3	2,4	1	
MYC		3	2,4	1	
CCND1		3	2,4	1	
CCNE1		3	2,4	1	
CDKN2A		3	2,4	1	
KIF14		3	2,4	1	
PPP2R2A		3	2,4	1	
PTTG1		3	2,4	1	
SFRP1		3	2,4	1	
TMEM45B		2	1	3=4	
TMEM45A		3	1,2	4	
TPX2		3	2,4	1	
MMP11		Группа генов, регулирующих миграцию клеток, инвазию, организацию цитоскелета	2	3,4	1
CTSL2			3	2,4	1
EMSY			3	2,4	1
PAK1	3		2,4	1	
ANLN	3		2,4	1	
BCL2	Гены апоптоза	2=3	4	1	
BAG1		3	2,4	1	
PTEN		3	2,4	1	
TYMS	Группа генов, регулирующих репликацию и репарацию ДНК	3	2,4	1	
EXO1		3	2,4	1	
UBE2T		3	2,4	1	
TPT1		2=3	4	1	
SCGB2A2	Маркёры дифференцировки клеток и коэкспрессированные с ними гены	2	1,3	4	
KRT5		3	2,4	1	
MIA		3	2,4	1	
GATA3	Факторы транскрипции	2	1,3	4	
FOXA1		2	1,3	4	
ZNF703		2	1,3	4	
NAT1		2	1,3	4	
CD68	Гены иммунной системы	3	2,4	1	
TRA		3=4	1	2	
PD-L1		3	4	1=2	

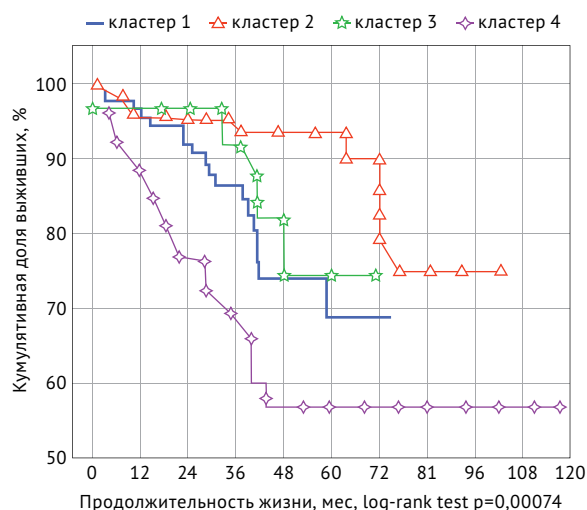


Рис. 1. Общая выживаемость пациенток с трижды негативным раком молочной железы 4 кластеров (метод Каплана–Мейера, log-rank test $p=0,00074$)

(62%) и нулевую выживаемость при ПШВ стадии (0%). Закономерные показатели выживаемости были выявлены у представительниц 3-го кластера — постепенное снижение выживаемости от I (100%) до IV стадий (0%).

Прогрессирование заболевания произошло в 1-м кластере у 20 (22,2%) пациенток, во 2-м — у 13 (14,9%), в 3-м — у 7 (23,3%), в 4-м — у 18 (46,1%) (см. табл. 3). Медиана срока безрецидивного периода достигнута только в 4-м кластере, составив 46,8 мес. Из полученных данных мы можем выделить 4-й кластер, который отличается значимо большей частотой рецидивов (log rank test $p=0,002$). Подробное изображение указанных закономерностей представлено на рис. 2.

Таким образом, до 2 лет пациентки 1-го, 2-го и 3-го кластеров показали схожие результаты по БРВ. При дальнейшем сроке наблюдения в 4-м кластере зарегистрировано ухудшение результатов лечения (примерно на 20% хуже прогноз по сравнению с 1-м и 3-м кластерами). После 3-летнего периода наблюдения различия между 4-м и 2-м кластерами составляли уже около 40% (log-rank test $p=0,0021$). Факторами, влияющими на срок рецидива заболевания, оказались клиническая стадия ($p=0,0001$), принадлежность пациентки ко 2-му кластеру ($p=0,0120$) и гистологический вариант опухоли ($p=0,0100$).

Обсуждение

На основании молекулярно-генетического профилирования 246 случаев ТНРМЖ с использованием данных о 45 генах с помощью дискриминантного анализа методом К-средних

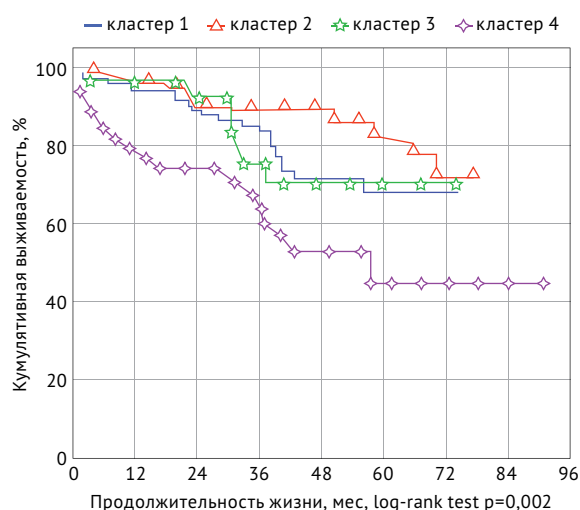


Рис. 2. Безрецидивная выживаемость пациенток с трижды негативным раком молочной железы 4 кластеров (метод Каплана–Мейера, log rank test $p=0,0021$)

нам удалось выделить 4 кластера, с достоверными различиями по показателям ОБ (log-rank test $p=0,0007$) и БРВ (log-rank test $p=0,0021$). Наиболее благоприятным оказался 2-й кластер, худшие показатели были зафиксированы в 4-м кластере (см. рис. 1, 2). В работе М.А. Пасько и соавт. показано, что профили экспрессии генов служат высокоэффективными источниками информации для прогноза рецидивирования различных вариантов рака молочной железы [14]. При исследовании тройного негативного рака в работе Lehmann и соавт. продемонстрированы лучшие показатели БРВ при MSL-подтипе, а худшие — при LAR-подтипе. Учитывая, что MSL-подтип характеризуется преобладанием сигнальных путей, ответственных за способность клетки к передвижению, процессы дифференцировки и роста, эпителиально-мезенхимальный переход, этот подтип был сопоставим со 2-м кластером, предложенным нами, в котором отмечена повышенная экспрессия генов рецепторов фактора роста.

В работе Burstein и соавт. лучшая ОБ и БРВ была зафиксирована в иммуноактивированном подтипе (BLIA). В нашей генной сигнатуре было представлено только 2 гена из этого кластера — CDKN2A и KIF14. Экспрессия данных генов была повышена в 3-м кластере, который продемонстрировал промежуточные результаты по ОБ и БРВ по данным нашего исследования. Худшие показатели ОБ и БРВ зафиксированы в 4-м кластере. Это может быть связано с тем фактом, что именно в этом кластере были получены самые существенные различия в сравнении с иммуногистохимическим исследованием — только 64,1% были истинно

трижды негативными, в то время остальные пациентки принадлежали к другим биологическим подтипам. Таким образом, можно предположить, что пациенткам данной группы проводили неадекватное лечение. Информация о стадии и принадлежности к определённому молекулярно-генетическому кластеру может быть полезной для онкологов, так как поможет прогнозировать течение заболевания и подбирать персонализированное лечение для каждой больной.

Вывод

Стадия, а также принадлежность к определённому молекулярно-генетическому кластеру с высокой степенью статистической значимости определяют прогноз пациенток с трижды негативным раком молочной железы. Данная информация может быть полезной для онкологов, так как поможет прогнозировать течение заболевания и подбирать персонализированное лечение для каждой больной.

Участие авторов. И.С.П. — составление черновика рукописи, ответственность за все аспекты работы; В.В.Р. — разработка концепции научной работы, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания; О.В.Б. — существенный вклад в разработку концепции научной работы; В.В.К. — анализ и интерпретация результатов работы; В.К.Б. — статистическая обработка материала, окончательное утверждение публикуемой версии рукописи.

Источник финансирования. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sporikova Z, Koudelakova V, Trojanec R, Hajduch M. Genetic markers in triple-negative breast cancer. *Clin Breast Cancer*. 2018;18(5):e841–e850. DOI: 10.1016/j.clbc.2018.07.02.
2. Li X, Yang J, Peng L, Sahin AA, Huo L, Ward KC, O'Regan R, Torres MA, Meisel JL. Triple-negative breast cancer has worse overall survival and cause-specific survival than non-triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2017;161(2):279–287. DOI: 10.1007/s10549-016-4059-6.
3. Kennecke H, Yerushalmi R, Woods R, Cheang MC, Voduc D, Speers CH, Nielsen TO, Gelmon K. Metastatic behavior of breast cancer subtypes. *J Clin Oncol*. 2010;28(20):3271–3277. DOI: 10.1200/JCO.2009.25.9820.
4. Fournier M, Fumoleau P. The paradox of triple negative breast cancer: novel approaches to treatment. *Breast J*. 2012;18(1):41–51. DOI: 10.1111/j.1524-4741.2011.01175.x.
5. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy AB, Shyr Y, Pietenpol JA. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical

models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest*. 2011;121(7):2750–2767. DOI: 10.1172/JCI45014.

6. Yin L, Duan JJ, Bian XW, Yu SC. Triple-negative breast cancer molecular subtyping and treatment progress. *Breast Cancer Res*. 2020;22(1):61. DOI: 10.1186/s13058-020-01296.

7. Burstein MD, Tsimelzon A, Poage GM, Covington KR, Contreras A, Fuqua SA, Savage MI, Osborne CK, Hilsenbeck SG, Chang JC, Mills GB, Lau CC, Brown PH. Comprehensive genomic analysis identifies novel subtypes and targets of triple-negative breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2015;21(7):1688–1698. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0432.

8. Liu YR, Jiang YZ, Xu XE, Yu KD, Jin X, Hu X, Zuo WJ, Hao S, Wu J, Liu GY, Di GH, Li DQ, He XH, Hu WG, Shao ZM. Comprehensive transcriptome analysis identifies novel molecular subtypes and subtype-specific RNAs of triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2016;18(1):33. DOI: 10.1186/s13058-016-0690-8.

9. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2012;490(7418):61–70. DOI: 10.1038/nature11412.

10. Saal LH, Holm K, Maurer M, Memeo L, Su T, Wang X, Yu JS, Malmström PO, Mansukhani M, Enoksson J, Hibshoosh H, Borg A, Parsons R. PIK3CA mutations correlate with hormone receptors, node metastasis, and ERBB2, and are mutually exclusive with PTEN loss in human breast carcinoma. *Cancer Res*. 2005;65(7):2554–2559. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3913.

11. Horiuchi D, Kusdra L, Huskey NE, Chandriani S, Lenburg ME, Gonzalez-Angulo AM, Creasman KJ, Bazarov AV, Smyth JW, Davis SE, Yaswen P, Mills GB, Esserman LJ, Goga A. MYC pathway activation in triple-negative breast cancer is synthetic lethal with CDK inhibition. *J Exp Med*. 2012;209(4):679–696. DOI: 10.1084/jem.20111512.

12. Prat A, Lluch A, Albanell J, Barry WT, Fan C, Chacón JI, Parker JS, Calvo L, Plazaola A, Arcusa A, Seguí-Palmer MA, Burgues O, Ribelles N, Rodriguez-Lescure A, Guerrero A, Ruiz-Borrego M, Munarriz B, López JA, Adamo B, Cheang MC, Li Y, Hu Z, Gulley ML, Vidal MJ, Pitcher BN, Liu MC, Citron ML, Ellis MJ, Mardis E, Vickery T, Hudis CA, Winer EP, Carey LA, Caballero R, Carrasco E, Martín M, Perou CM, Alba E. Predicting response and survival in chemotherapy-treated triple-negative breast cancer. *Br J Cancer*. 2014;111(8):1532–1541. DOI: 10.1038/bjc.2014.444.

13. Бурменская О.В., Трофимов Д.Ю., Кометова В.В., Сергеев И.В., Маерле А.В., Родионов В.В., Сухих Г.Т. Разработка и опыт использования транскрипционной сигнатуры генов в диагностике молекулярных подтипов рака молочной железы. *Акушерство и гинекология*. 2020;(2):132–140. [Burmenskaya OV, Trofimov DYU, Kometova VV, Sergeev IV, Maerle AV, Rodionov VV, Sukhikh GT. Development and experience of using the transcriptional gene signature in the diagnosis of molecular breast cancer subtypes. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2020;(2):132–140 (In Russ.)] DOI: 10.18565/aig.2020.2.132-140.

14. Пасько М.А., Захаренко М.В., Троценко И.Д., Кудинова Е.А., Чхиквадзе В.Д., Боженко В.К. Прогностические возможности профилирования экспрессии генов в определении риска рецидивирования рака молочной железы после органосохраняющего лечения. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена*. 2016;5(3):27–32. [Pas'ko MA, Zakharenko MV, Trotsenko ID, Kudinova EA, Chkhikvadze VD, Bozhenko VK. Prognostic possibilities of gene expression profiling to identify a risk for recurrent breast cancer after organ-sparing treatment. *Onkologiya. Zhurnal im PA Gertsena*. 2016;5(3):27–32 (In Russ.)] EDN: WDGBZR.

Сведения об авторах

Панченко Иван Сергеевич, аспирант, каф. онкологии и лучевой диагностики, медицинский факультет им. Т.З. Биктимирова, Ульяновский государственный университет, г. Ульяновск, Россия; врач-онколог, Государственное учреждение здравоохранения «Областной клинический онкологический диспансер», г. Ульяновск, Россия; pan91ch@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7923-4317>

Родионов Валерий Витальевич, докт. мед. наук, зав. отд., отд. патологии молочной железы, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, г. Москва, Россия; dr.valery.rodionov@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0096-7126>

Бурменская Ольга Владимировна, докт. биол. наук, зав. лаб., лаб. онкологической генетики, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, г. Москва, Россия; o_bourmenskaya@oparina4.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2842-3980>

Кометова Влада Владимировна, канд. мед. наук, зав. отд., отд. онкологической патологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, г. Москва, Россия; v_kometova@oparina4.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9666-6875>

Боженко Владимир Константинович, докт. мед. наук, проф., руководитель, отд. молекулярной биологии и экспериментальной терапии, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России, г. Москва, Россия; vbojenko@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8351-8152>

Author details

Ivan S. Panchenko, PhD Stud., Depart. of Oncology and Radiation Diagnostics, T.Z. Bictimirov's Medical Faculty, Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia; oncologist, Regional Clinical Oncology Center, Ulyanovsk, Russia; pan91ch@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7923-4317>

Valerij V. Rodionov, M.D., D. Sci. (Med.), Head, Depart. of Breast Pathology, Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia; dr.valery.rodionov@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0096-7126>

Olga V. Burmenskaya, D. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of Oncological Genetics, Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia; o_bourmenskaya@oparina4.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2842-3980>

Vlada V. Kometova, M.D., Cand. Sci. (Med.), Head, Depart. of Oncological Pathology, Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia; v_kometova@oparina4.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9666-6875>

Vladimir K. Bozhenko, M.D., D. Sci. (Med.), Prof., Head, Depart. of Molecular Biology and Experimental Therapy, Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, Moscow, Russia; vbojenko@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8351-8152>