

На правах рукописи

Васильченко Дмитрий Владимирович

**ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ФАКТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ
GATA3, FOXA1, ELF5 ПРИ ЛЮМИНАЛЬНОМ ПОДТИПЕ
РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

14.03.02 – патологическая анатомия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2020

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

Научный руководитель

доктор медицинских наук, доцент

Вторушин Сергей Владимирович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Петров Семен Венедиктович

(Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры общей патологии)

доктор медицинских наук, профессор

Красильников Сергей Эдуардович

(Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е. Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, руководитель института онкологии и нейрохирургии)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Челябинск)

Защита диссертации состоится «___» _____ 2021 г. в «___» часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.07 на базе Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52, тел.: (383) 229-10-83 <http://ngmu.ru/dissertation/490>)

Автореферат разослан «___» _____ 2021 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

С. В. Залавина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность избранной темы. Рак молочной железы (РМЖ) является не только гетерогенным заболеванием по биологической природе и клиническому течению (McGranahan N. et al., 2015; Prat A. et al., 2015; Martin-Pardillos A. et al., 2019). В Российской Федерации и во всем мире РМЖ остается лидирующей онкологической патологией у женского населения и составляет 20,9 %, имея наибольший удельный вес в возрастной группе 30–59 лет (Каприн А. Д. и др., 2018; Rebecca L. et al., 2020). Основная причина смертности при люминальном РМЖ у женщин связана не с самой первичной опухолью, а с развитием в дальнейшем рецидива в виде метастатического поражения отдаленных органов и тканей (Jemal A. et al., 2011). Помимо метастатического потенциала, основной проблемой является приобретенная лекарственная устойчивость, которая в дальнейшем также приводит к смерти женщин с РМЖ (Moiseenko F. et al., 2017).

Проблемы эффективности лечения в той или иной степени связаны из-за ограниченного понимания молекулярной биологии рака и перекрестных механизмов, реализуемых на уровне клеточных белков, которые часто корегулируются, а иногда обладают антагонистическими свойствами (Osborne C. et al., 2004; Ma C. X. et al., 2015; Yamaguchi N. et al., 2017). В настоящее время известно, что регуляция процессов взаимодействия активированных рецепторов ER с ДНК происходит за счёт так называемых факторов транскрипции, наибольшее значение придают следующим: GATA3, FOXA1 и ELF5 (Guo Y. et al., 2017; Zhang Y. et al., 2020; Piggin C. L. et al., 2020).

GATA3 выступает в качестве ключевого фактора в процессе дифференциации люминальных клеток молочной железы. Имеются указания, что GATA3 регулирует определенный набор генов, участвующих в дифференцировке и пролиферации опухолевых клеток при раке молочной железы, а также коррелирует с экспрессией рецепторов эстрогена в опухолевых клетках (Yoon N. K. et al., 2010).

FOXA1 является членом семейства ДНК-связывающих белков, известный также как гепатоцитарный ядерный фактор 3-альфа (HNF-3A). При раке молочной железы FOXA1 сильно коррелирует с позитивной экспрессией ER, GATA3 и PR, что свидетельствует об его участии в реализации эстроген-опосредованных сигналов в клетке (Ross-Innes C. S. et al., 2012). У пациентов с рецептор-негативными опухолями (ER-) FOXA1 ассоциирован с низкой степенью злокачественности карциномы и лучшими показателями выживаемости (Kouros-Mehr H. et al., 2006). Высокий уровень FOXA1 рассматривается как индикатор хорошего прогноза у пациенток с рецептор-позитивными опухолями.

Транскрипционный регулятор E74-подобный фактор 5 типа (ELF5) рассматривается как потенциальный модулятор молекулярного подтипа РМЖ (Kalyuga M. et al., 2013). В ряде исследований также было показано, что данный фактор сопряжен с процессами неоангиогенеза, эпителиально-мезенхимального перехода в опухоли (Chakrabarti R. et al 2012; Gallego-Ortegaet D. et al., 2015), а также с процессами инвазии и метастазирования (Sinha S. et al., 2013).

Несмотря на достаточное число исследований, направленных на изучение роли транскрипционных факторов в развитии резистентности к антиэстрогеновой терапии РМЖ, имеющиеся результаты не позволяют использовать в клинической практике, поскольку в своем большинстве были получены на различных клеточных линиях. Остаются недостаточно изученными особенности экспрессии ELF5, FOXA1 и GATA3 в зависимости от клинико-морфологических параметров опухоли и возможность их использования в клинической практике для оценки прогноза течения болезни у пациенток с люминальными субтипами РМЖ.

Степень разработанности темы диссертации. Несмотря на более благоприятный прогноз люминального подтипа РМЖ, основной проблемой в настоящее время является развитие различных форм опухолевой прогрессии, в основе которой могут лежать как молекулярные-биологические характеристики клеток карцином, так и развитие резистентности к проводимой гормонотерапии (Jemal A. et al., 2011; Herr D. et al., 2019; Moiseenko F. et al., 2017). Исследования, которые ведутся в последнее десятилетие, направлены на поиск патогенетических механизмов, которые могут расширить понимание наступления неэффективности гормонотерапии у пациенток с РМЖ. Развитие резистентности, с одной стороны, обусловлено изменениями в самой структуре рецепторов эстрогена, а с другой, определенными факторами, которые учувствуют в их активации (Liua J. et al., 2016; Naque M. M. et al., 2019). Актуальность молекулярно-генетических исследований, посвященных роли ТФ при РМЖ в настоящее время сомнений не вызывает, поскольку обнаруживаются противоречивые данные, при этом результаты не всегда охватывают клиническое значение в отношении течения и прогноза. Одними из наиболее пристально изучаемых факторов РМЖ являются транскрипционные белки GATA3, FOXA1, ELF5. Несмотря на множество исследований в отношении данных белков, полученные данные часто противоречивы и неоднозначны (Poznak V. et al., 2015; Schrijver W. et al., 2018). В одних исследованиях наличие экспрессии в опухоли изучаемых маркеров характеризуется более благоприятным прогнозом (Yu W. et al., 2019). В других – характеризуется крайне неблагоприятным фактором в течении РМЖ, а также опухолей других локализаций (Li Y. et al., 2014; Gallego-Ortega D. et al., 2015; Adams E. J. et al., 2019).

В настоящее время не получено достаточное количество данных об экспрессионных характеристиках и взаимодействии между транскрипционными факторами ELF5, FOXA1 и GATA3 у пациенток с раком молочной железы, в том числе при люминальных субтипах. Изучение параметров экспрессии факторов транскрипции, а также их взаимосвязи с опухолевой прогрессией позволит повысить значимость иммуноморфологического исследования, с большей долей вероятности предполагать эффективность гормонотерапии, а, следовательно, планировать адекватную тактику лечения и прогнозировать исход заболевания при раке молочной железы.

Цель исследования. Изучить экспрессию транскрипционных факторов FOXA1, GATA3 и ELF5 в зависимости от клинико-морфологических характеристик опухоли, регионарного и гематогенного метастазирования у больных люминальным раком молочной железы.

Задачи исследования

Изучить параметры экспрессии транскрипционных факторов FOXA1, GATA3 и ELF5 в ткани опухоли у больных люминальным раком молочной железы и проанализировать их сопряженность с клинико-морфологическими характеристиками.

2. Сопоставить особенности экспрессии транскрипционных факторов FOXA1, GATA3, ELF5 с параметрами рецепторного статуса опухоли.

3. Оценить экспрессионные характеристики факторов транскрипции в зависимости от пролиферативной активности опухолевых клеток (Ki67), параметров стромального компонента и степени инфильтрации иммунокомпетентными клетками новообразования.

4. Проанализировать частоту развития лимфогенных и отдаленных метастазов в зависимости от уровня и характера экспрессии транскрипционных факторов FOXA1, GATA3, ELF5 в опухоли.

5. Определить значимость изучаемых параметров опухоли в отношении исхода заболевания и построить математическую модель для прогнозирования риска развития гематогенных метастазов у больных люминальным раком молочной железы.

Научная новизна. Впервые показано, что размер новообразования у больных люминальным раком молочной железы связан с экспрессионными характеристиками транскрипционных факторов FOXA1 и ELF5. Опухоли размером более 2 см ассоциированы с гетерогенным характером экспрессии FOXA1 и отсутствием иммунного окрашивания к фактору ELF5. Обнаружена связь размера новообразования в зависимости от частоты встречаемости изученных факторов транскрипции в клетках карцином люминального подтипа РМЖ.

Впервые обнаружена связь клинико-морфологических характеристик опухоли с параметрами экспрессии FOXA1, GATA3, ELF5. Высокая степень гистологической злокачественности (grade) сопряжена с отсутствием экспрессии фактора FOXA1. Характер экспрессии GATA3 и ELF5 в опухоли связан с наличием феноменов ретракции и краудинга.

Впервые установлено, что развитие метастазов в регионарных лимфатических узлах у больных люминальным подтипом рака молочной железы сопряжено с гомогенным характером экспрессии FOXA1, GATA3, ELF5 в клетках первичной опухоли. Снижение процента экспрессии GATA3 и FOXA1 в новообразовании ассоциировано с метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов.

Впервые выявлено, что отдаленные метастазы у больных люминальным РМЖ чаще наблюдаются при гетерогенной экспрессии факторов FOXA1 и ELF5 в первичной опухоли. Развитие гематогенных метастазов сопряжено с низким процентом экспрессии факторов FOXA1 и ELF5 и взаимосвязано со снижением уровня рецепторов ER и PR в карциноме молочной железы.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные в ходе исследования данные, основанные на иммуногистохимических особенностях экспрессии транскрипционных факторов, позволяют глубже понять патогенез рака молочной

железы, а также механизмы, через которые развиваются различные формы прогрессирования карциномы.

Получены дополнительные иммуногистохимические показатели прогноза течения карциномы молочной железы люминального подтипа. Результаты данного исследования могут применяться при гистологической и иммуногистохимической оценке новообразования в целях индивидуализации лечения РМЖ с возможностью прогнозирования вероятности развития гематогенной формы опухолевой прогрессии.

Методология и методы исследования. Методология настоящей диссертационной работы включает в себя современные практические методы в сочетании с актуальными теоретическими представлениями о роли транскрипционных факторов при люминальном раке молочной железы. Данная работа включала в себя последовательность проводимых этапов. Начальный этап заключался в отборе гистологических блоков (операционный и биопсийный материал) опухолей молочной железы с последующим изготовлением препаратов, окрашенных по стандартной методике, и их морфологической оценкой для подтверждения диагноза инвазивной карциномы неспецифического типа молочной. Кроме того, каждый препарат оценивался на степень злокачественности карциномы (grade) в совокупности с оценкой стромального и паренхиматозного компонентов и на наличие феномена ретракции и краудинга. Оценке подвергался и статус лимфатических узлов на предмет наличия или отсутствия метастазов. Следующий этап заключался в иммуногистохимическом исследовании операционного и биопсийного материала, по которым определялся пролиферативный индекс, рецепторный статус опухолевого узла и экспрессия ТФ. Последний этап заключался в оценке результатов комбинированного лечения на предмет развития гематогенных метастазов. Полученные данные были проанализированы и обработаны соответствующими статистическими методами.

Положения, выносимые на защиту

1. Экспрессия транскрипционных факторов FOXA1, GATA3, ELF5 по-разному сопряжена с клинико-морфологическими характеристиками люминального подтипа рака молочной железы.

2. Частота лимфогенного метастазирования у больных карциномой молочной железы люминального подтипа связана с характером экспрессии транскрипционных факторов в опухоли.

3. Экспрессия FOXA1, ELF5 взаимосвязана с параметрами рецепторного статуса первичной опухоли и развитием гематогенных метастазов у больных люминальным раком молочной железы.

Степень достоверности. Достоверность проведенного исследования подтверждается достаточным числом больных, высоким методологическим уровнем с применением современных информативных методов исследования: клинических, диагностических, морфологических, молекулярно-генетических. Обоснованность полученных результатов подтверждается корректной статистической обработкой материала.

Апробация работы. Основные положения диссертации докладывались и обсуждались на 2-й Международной морфологической научно-практической конкурс-

конференции студентов и молодых ученых «Морфологические науки – основа фундаментальной медицины», посвященной памяти профессора М. А. Самотейкина (Новосибирск, 2017), на научной конференции с Международным участием, посвящённой 170-летию кафедры патологической анатомии им. академика А. И. Струкова ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России (Москва, 2019), на 12-й Всероссийской конференции молодых ученых-онкологов, посвященной памяти академика РАМН Н. В. Васильева (Томск, 2017), на 3-й Всероссийской конференции по молекулярной онкологии (Москва, 2017), на конгрессе молодых ученых «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины» (Томск, 2018), на 23-м и 24-м Российских онкологических конгрессах (Москва, 2019, 2020).

Диссертационная работа апробирована на совместном заседании кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России и отделения общей и молекулярной патологии НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (Томск, 2020).

Диссертационная работа выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России по теме: «Морфология органов, тканей и клеток в норме, при воздействии в эксперименте и в клинике», номер государственной регистрации АААА-А16-116021010223-5, при финансовой поддержке Гранта Президента НШ-2701.2020.7 «Разработка новых подходов к прогнозированию течения карцином молочной железы и легких с учетом морфологической и молекулярно-генетической гетерогенности опухолей».

Внедрение результатов исследования. Выявленные дополнительные молекулярно-биологические факторы прогнозирования течения заболевания при люминальном молекулярном подтипе РМЖ внедрены для практического применения в отделении общей и молекулярной патологии НИИ онкологии Томского НИМЦ и для преподавания раздела «Злокачественные опухоли эпителиального происхождения» на кафедре патологической анатомии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 3 статьи в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 1 статья в журнале, входящем в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Scopus).

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 145 страницах машинописного текста, включает введение, обзор литературы, главу о материалах и методах исследования, главу результатов собственных исследований и их обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации и список литературы. Список литературы представлен 200 источниками, из которых 198 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 48 таблиц и 22 рисунков.

Личный вклад автора. Личный вклад автора в диссертационной работе состоит в разработке дизайна исследования, непосредственном участии в наборе морфологического материала (операционного и биопсионного), проведении гистологических и иммуногистохимических методов исследования. Диссертант лично принимал участие в планировании работы, формулировал цель и задачи, находил пути их реализации, проводил анализ литературных источников, статистическую обработку собственных результатов исследования и их интерпретацию, подготовку научных публикаций по теме исследования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Группу исследования составили 101 пациентка с инвазивной карциномой неспецифического типа молочной железы $T_{1-4}N_{0-3}M_0$ в возрасте от 30 до 81 года, находившиеся на лечении в отделении общей онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ, в период с 2013 по 2015 гг. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

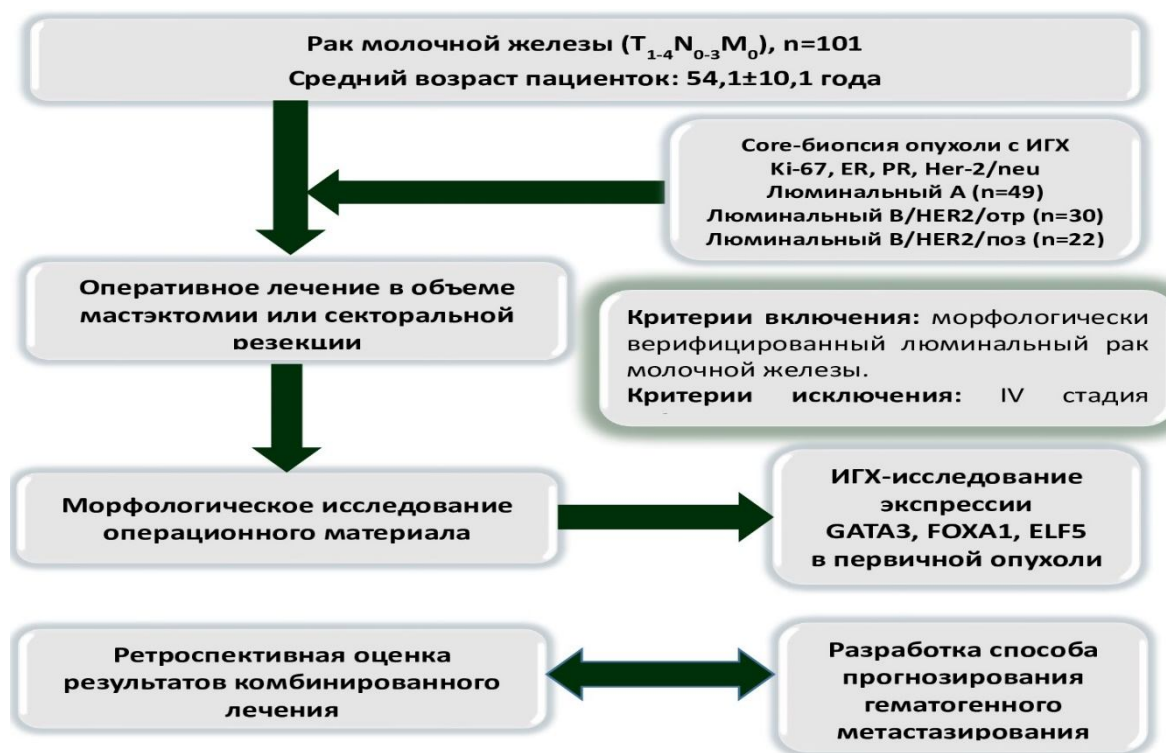


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Большую часть – 64 случая – представляли женщины старше 50 лет (63,4 %), меньшими по количеству оказались группы больных в возрасте от 35 до 50 лет – 36 (35,6 %) – и до 35 лет – 1 (1 %). У 33 (32,7 %) пациенток на момент установления диагноза менструальная функция была сохранена, у 68 (67,3 %) – определялось состояние менопаузы. Распространенность процесса определялась согласно международной классификации по системе TNM (7 издание, 2010 г): I стадия (51,4 %), ПА (16,8 %), ПВ (20,8 %), ША (6 %), ШВ (3 %) и ШС (2 %). Размер новообразования до 2 см был у 52 (51,5 %) пациенток, 2–5 см – у 46 (45,6 %), более 5 см опухоли были у 3 больных (2,9 %). В послеоперационном периоде пациентки получали антиэстрогеновую

терапию. Адьювантная химиотерапия и анти-HER2-терапия проводились по показаниям в соответствии с клиническими рекомендациями. Сроки наблюдения за больными составили не менее 5 лет после завершения оперативного этапа лечения.

Морфологические методы исследования. При морфологическом исследовании операционного материала осуществлялась оценка ткани первичной опухоли, ткани молочной железы вне новообразования и всех удаленных во время оперативного лечения лимфатических узлов. Гистологическое исследование проводилось согласно следующему алгоритму: определение гистологического типа опухоли; оценка степени злокачественности карциномы (grade); оценка характера роста (уницентрическая/мультицентрическая форма); оценка стромального компонента опухоли включала анализ степени выраженности стромы опухоли; оценка наличия и степени инфильтрации стромы иммунными клетками; определение наличия и выраженности феномена краудинга и ретракции в структурах инфильтративного компонента опухоли.

Гистологический тип опухоли устанавливался согласно классификации ВОЗ 4-го пересмотра (WHO, 2012). Все случаи были представлены инвазивной карциномой неспецифического типа. Степень злокачественности опухоли определялась по модифицированной схеме P. Scarff, H. Bloom и W. Richardson – Nottingham Grading system. В каждом случае анализировали соотношение стромального и паренхиматозного компонентов по их процентному соотношению в первичной опухоли. Инфильтрацию иммунными клетками оценивали в опухоли и в строме новообразования при увеличении $\times 400$ в 10 полях зрения. Результаты количественной оценки переведены в балльную шкалу (1 балл – слабо выраженная инфильтрация, до 300 иммунных клеток; 2 балла – умеренно выраженная инфильтрация, 300–600 клеток; 3 балла – резко выраженная, более 600 клеток). Наличие краудинга в опухоли учитывалось по выявлению участков с более близким расположением клеток и, соответственно, ядер опухолевых клеток относительно друг друга. Оценка выраженности данного феномена в гистологическом срезе опухоли проводилась полуколичественным методом. Выраженность ретракции также оценивали по 3-балльной системе полуколичественным методом.

Иммуногистохимическое исследование образцов тканей проводилось с помощью автоматизированной системы для иммуногистохимического окрашивания и *in situ* гибридизации BondTM- maX (Leica). Применялись антитела фирмы Dako к рецепторам эстрогена (клон 1D5, RTU, мышинные), к рецепторам прогестерона (клон PgR636, RTU, мышинные), к онкопротеину c-erbB-2 (Her2/neu статус) (рабочее разведение 1 : 500, кроличьи), к Ki67 (клон MIB-1, RTU, мышинные). Оценка экспрессии рецепторов к половым гормонам проводилась количественным методом гисто-счета (Histo-Score, Andersen J. et al., 1988). По операционному материалу проводили исследование экспрессии транскрипционных факторов в ткани опухоли. С этой целью применяли следующие антитела: GATA-3 Antibody (GATA3) (rabbit polyclonal; 1 : 20; Flarebio), FOXA1 Antibody (rabbit polyclonal; 1 : 100; Flarebio), ELF5 Antibody (rabbit polyclonal; 1 : 150; Flarebio). Экспрессия указанных факторов транскрипции в опухоли оценивалась по следующим параметрам: отсутствие или наличие; наличие гетерогенности экспрессии

маркера; интенсивность экспрессии; процент опухолевых клеток с позитивной экспрессией маркера.

Статистическая обработка полученных данных выполнялась с использованием пакета программ «Statistica 10.0». Применялся дисперсионный анализ, непараметрический критерий χ^2 , методы описательной статистики, критерий Манна – Уитни. Оценку номинальных и ранговых переменных проводили с использованием корреляционного анализа по Спирмену. Для построения математической модели с целью прогнозирования развития гематогенных метастазов использовали метод логистической регрессии. Обсуждались результаты с достоверностью различий при $p < 0,05$ и с тенденцией к различиям при $p \leq 0,1$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ экспрессии транскрипционных факторов GATA3, FOXA1, ELF5 и клинико-морфологических характеристик РМЖ. На первом этапе исследования нами был проведен анализ экспрессии транскрипционных факторов в зависимости от основных клинических и морфологических параметров заболевания, таких как возраст больных, менструальный статус, размер первичного опухолевого очага, характер роста новообразования и вариант люминального подтипа опухоли. Существенных корреляций между экспрессией транскрипционных факторов GATA3, FOXA1 и ELF5 и возрастом больных нами обнаружено не было (соответственно $r = 0,12$; $p = 0,22$; $r = 0,11$; $p = 0,24$; $-r = 0,006$; $p = 0,94$).

Частота положительной экспрессии в опухоли исследуемых факторов также не отличалась существенно в зависимости от состояния менструальной функции больных (GATA3 – $\chi^2 = 0,35$, $p = 0,8$; FOXA1 – $\chi^2 = 0,36$, $p = 0,8$; ELF5 – $\chi^2 = 0,5$, $p = 0,47$). В случаях с наличием экспрессии факторов процент позитивно окрашенных опухолевых клеток, изученных транскрипционных факторов также не имел различий в группах больных, имеющих различный менструальный статус на момент постановки диагноза РМЖ.

Было показано, что размер первичного опухолевого узла существенно не отличался в зависимости от частоты и характера экспрессии GATA3 (соответственно $\chi^2 = 0,22$, $p = 0,89$ и $\chi^2 = 2,5$, $p = 2,7$). Аналогичные данные были получены в отношении частоты и характера экспрессии ELF5 (соответственно $\chi^2 = 4,5$, $p = 0,2$ и $\chi^2 = 2,1$, $p = 0,34$). Не обнаружено также какой-либо значимой корреляции между размером новообразования и выраженностью экспрессии GATA3 (соответственно $r = 0,02$; $p = 0,8$). Однако при анализе экспрессии FOXA1 отмечена достоверная связь между размером первичной опухоли и характером экспрессии транскрипционного фактора FOXA1 в клетках ($p = 0,022$). При гетерогенном характере распределения FOXA1 в опухоли достоверно чаще пациенты имели размер новообразования в диапазоне 2–5 см, в то время как при гомогенном распределении данного фактора чаще наблюдались случаи с размером опухоли до 2 см. Также было обнаружено, что размеры образования статистически отличаются в зависимости от наличия или отсутствия экспрессии в опухоли транскрипционного фактора ELF5 соответственно (1,86 см ($1,5 \div 2,1$) и

2,45 см ($1,75 \div 2,55$); $U = 2,35$, $p = 0,017$). Данная зависимость также подтверждалась наличием корреляции между изученными параметрами ($r = -0,23$; $p = 0,016$).

Средние величины процента позитивно окрашенных клеток в зависимости от размера новообразования имели статистические отличия только в отношении фактора транскрипции FOXA1 ($88,08 \% \pm 13,4 \%$ (до 2 см), $82,94 \% \pm 11,4 \%$ (25 см) $41,5 \% \pm 14,2 \%$ (> 5 см), $F = 4,0$; $p = 0,02$). При больших размерах новообразования отмечается снижение процента позитивно окрашенных опухолевых клеток. Различий в проценте экспрессии опухолевыми клетками при разных размерах опухолевого очага ELF5 и GATA3 обнаружено не было (соответственно $p = 0,34$; $p = 0,99$).

Анализ процента экспрессии изученных транскрипционных факторов не выявил значимых отличий в группах больных с уни- и мультицентрическим характером роста (GATA3 – $U = -0,76$; $p = 0,44$, FOXA1 – $U = 1,33$; $p = 0,18$ и ELF5 – $U = 0,02$; $p = 0,97$). Проценты позитивно окрашенных опухолевых клеток, экспрессирующих GATA3, FOXA1, ELF5, не отличались в зависимости от варианта люминального подтипа новообразования. Однако размер новообразования имел статистические отличия при разных вариантах люминального подтипа РМЖ: (1 – Люминальный А 1,83 см ($1,5 \div 2,3$); 2 – Люминальный В/HER2-негативный 1,92 см ($1,5 \div 2,0$); 3 – Люминальный В/HER2-позитивный 2,18 см ($1,5 \div 2,5$); $p_{1-3} = 0,045$, $p_{2-3} = 0,17$).

В исследованной группе больных был проведен анализ сочетания различных вариантов экспрессии изучаемых ТФ. Наиболее часто встречающимся является фенотип опухоли, при котором отмечалась положительная экспрессия всех трех изученных факторов транскрипции – GATA3+FOXA1+ELF5+, что составило более 78 % пациенток. В 17 случаях отмечалась позитивная экспрессия каких-либо двух факторов, что составляет 16,83 %. Остальные варианты сочетания были представлены единичными наблюдениями.

Наибольший размер опухолевого очага наблюдался в тех случаях, когда отмечалась экспрессия только одного из исследуемых ТФ (рисунок 2).



Рисунок 2 – Зависимость размера первичной опухоли от количества факторов транскрипции, экспрессируемых в опухоли

Таким образом, проведенное исследование частоты, характера и выраженности экспрессии транскрипционных факторов позволило установить зависимости с рядом клинико-морфологических характеристик РМЖ. Наибольший размер первичной опухоли сопряжен с отсутствием экспрессии ELF5, гетерогенным распределением клеток с позитивной экспрессией FOXA1. Наиболее часто встречается фенотип (GATA3+FOXA1+ELF5+). Снижение числа экспрессируемых факторов опухолевыми клетками сопряжено с большим размером новообразования.

Анализ экспрессии транскрипционных факторов при раке молочной железы в зависимости от морфологических характеристик опухоли. Проведен анализ экспрессии изучаемых ТФ в зависимости от степени гистологической злокачественности опухоли (grade). Процент экспрессии GATA3, FOXA1, ELF5 в опухолевых клетках не имел достоверных отличий в зависимости от степени гистологической злокачественности карциномы (соответственно $p = 0,51$; $p = 0,34$; $p = 0,39$). Отмечалась некоторая направленность к снижению процента экспрессии по всем трем факторам с нарастанием степени злокачественности опухоли. Отсутствие статистических различий может быть обусловлено малым числом наблюдений, при которых опухоль имеет grade 3. Однако было показано, что имеются отличия в частоте позитивной экспрессии транскрипционного фактора FOXA1 (рисунок 3).

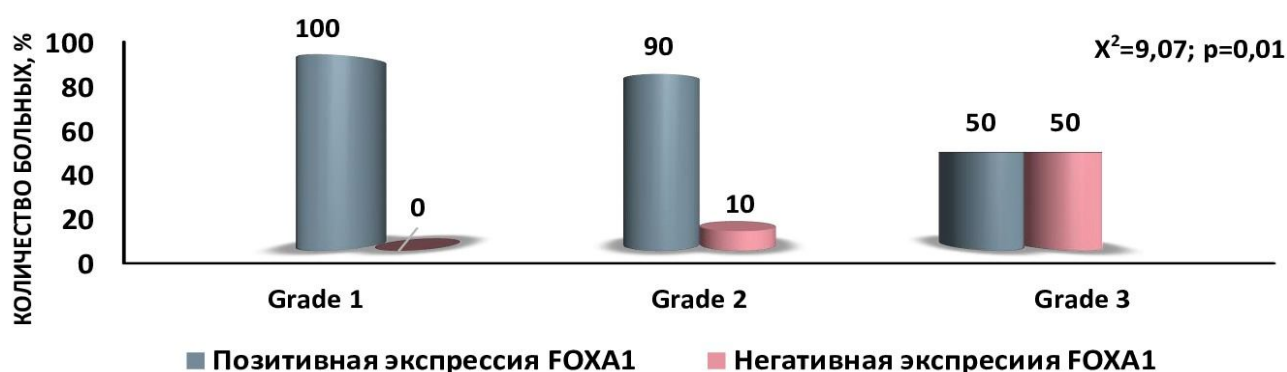


Рисунок 3 – Зависимость наличия экспрессии FOXA1 от степени гистологической злокачественности опухоли у больных люминальным РМЖ

При нарастании степени злокачественности опухоли увеличивается число случаев с отсутствием экспрессии фактора FOXA1. Следует подчеркнуть, что при первой степени злокачественности опухолей с негативной экспрессией FOXA1 не выявлено. Подобных отличий в отношении частоты экспрессии GATA3, ELF5 и степени злокачественности карциномы не обнаружено (соответственно $\chi^2 = 4,3$, $p = 0,12$; $\chi^2 = 3,5$, $p = 0,16$).

Проценты экспрессии GATA3, FOXA1 и ELF5 существенно не отличались от соотношения стромального и паренхиматозного компонентов опухоли ($p = 0,13$; $p = 0,6$; $p = 0,23$ соответственно). Также не было показано отличий в данных показателях в зависимости от степени выраженности инфильтрации иммунными клетками стромы первичного новообразования ($p = 0,74$; $p = 0,33$; $p = 0,7$ соответственно). Однако было

обнаружено, что частота экспрессии FOXA1 отличается в зависимости от степени инфильтрации иммунными клетками стромы первичной опухоли (рисунок 4).



Рисунок 4 –Частота экспрессии FOXA1 в зависимости от степени выраженности инфильтрации иммунными клетками в опухоли при люминальном подтипе РМЖ

При выраженной инфильтрации иммунными клетками стромы опухоли чаще отсутствовала экспрессия данного фактора транскрипции. В отношении факторов GATA3 и ELF5 подобных различий не выявлено (соответственно $\chi^2=4,1$, $p=0,13$ и $\chi^2=0,6$, $p=0,65$).

Характер распределения GATA3 был связан с наличием феномена ретракции вокруг опухолевых структур. В группе больных с присутствием данного феномена в опухоли гетерогенный характер экспрессии GATA3 был в 27 % случаев, в то время как в новообразованиях без данного признака гетерогенное распределение GATA3 отмечено в 14 % наблюдений ($\chi^2=4,9$, $p=0,02$). При оценке наличия феномена ретракции и экспрессии FOXA1 и ELF5 статистически значимых изменений не обнаружено (соответственно $\chi^2=2,4$, $p=0,1$ и $\chi^2=0,001$, $p=0,96$). При гетерогенном характере распределения позитивно окрашенных опухолевых клеток к фактору ELF5 чаще отсутствует феномен краудинга в опухоли ($\chi^2=4,6$, $p=0,03$). При аналогичном анализе в отношении факторов FOXA1 и GATA3 различий показано не было (FOXA1 – $\chi^2=0,23$, $p=0,62$; GATA3 – $\chi^2=0,15$, $p=0,69$).

Таким образом, было показано, что наибольшую сопряженность со степенью гистологической злокачественности опухоли имеет транскрипционный фактор FOXA1. Экспрессия данного фактора связана со степенью выраженности инфильтрации иммунными клетками, при нарастании воспалительной инфильтрации увеличивается доля случаев с негативным иммунным окрашиванием. Характер экспрессии ТФ сопряжен с наличием феномена ретракции и краудинга в опухоли.

Анализ экспрессии транскрипционных факторов в зависимости от рецепторов половых гормонов и параметров пролиферативной активности опухоли. Согласно полученным данным, наибольшие различия в выраженности экспрессии рецепторов эстрогена в опухоли были сопряжены с фактором транскрипции FOXA1 (рисунок 5).



Рисунок 5 – Процент рецепторов эстрогена в зависимости от экспрессии транскрипционного фактора FOXA1 у больных люминальным РМЖ

В наблюдениях, при которых в опухоли отсутствовала экспрессия данного маркера, процент ER был значимо ниже. Отличий в отношении процента экспрессии ER и факторов GATA3 и ELF5 не показано (соответственно $p = 0,55$; $p = 0,7$). В отношении связи процента экспрессии PR и всех трех ТФ статистических корреляций не обнаружено. Нами были показаны существенные различия в экспрессии факторов транскрипции GATA3 и FOXA1 в зависимости от наличия или отсутствия рецепторов прогестерона в опухоли (рисунок 6).

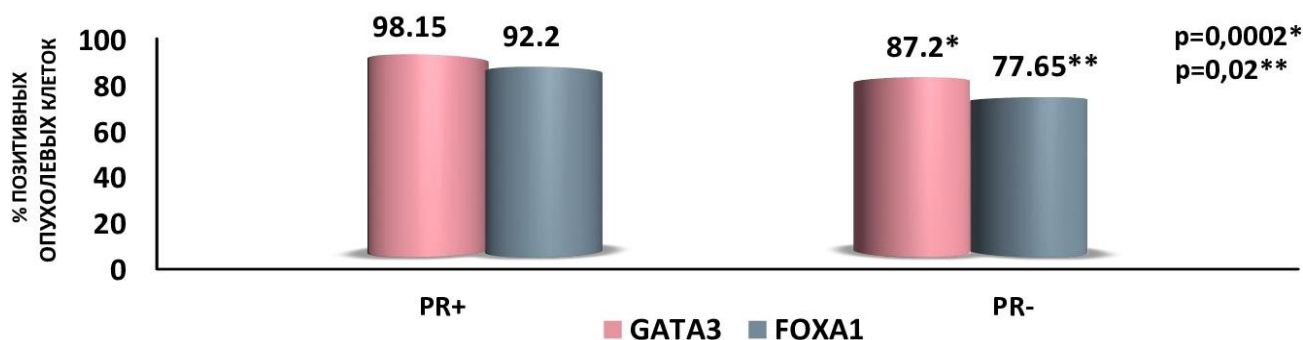


Рисунок 6 – Процент экспрессии ТФ GATA3 и FOXA1 в зависимости от наличия экспрессии PR в опухоли у больных люминальным РМЖ

При отсутствии рецепторов прогестерона в опухоли отчетливо определялось снижение процента экспрессии FOXA1 и GATA3. В отношении ТФ ELF5 подобных закономерностей обнаружено не было ($p = 0,2$).

Характер экспрессии фактора FOXA1 также был сопряжен с процентом экспрессии рецепторов прогестерона в опухоли. При гомогенном характере экспрессии FOXA1 процент PR был достоверно ниже (66,67 (46,5 ÷ 95) по сравнению со случаями с гетерогенным характером экспрессии (81,5 (71,9 ÷ 100), ($p = 0,001$). В отношении процента экспрессии ER и характера экспрессии изученных транскрипционных факторов подобных связей не обнаружено.

В нашем исследовании медиана пролиферативной активности опухолевых клеток в исследованной группе больных составила 20,67 % (Q1 – 10 ÷ Q3 – 29, min – 1 %, max –

73,8 %; (SD $\pm$ 16,65) %). Пороговым значением при люминальном подтипе РМЖ является индекс пролиферации 20 %. Распределение больных в зависимости от уровня пролиферации было следующим: 58 (57,4 %) имели Ki67 < 20 %, у 43 (42,6 %) больных опухоли характеризовались Ki67 > 20 %. Медианы процентов экспрессии изученных ТФ не отличались в зависимости от порогового значения индекса пролиферации опухоли. Однако нами было показано, что при негативной экспрессии FOXA1 чаще встречаются случаи с индексом пролиферации более 20 % (рисунок 7).

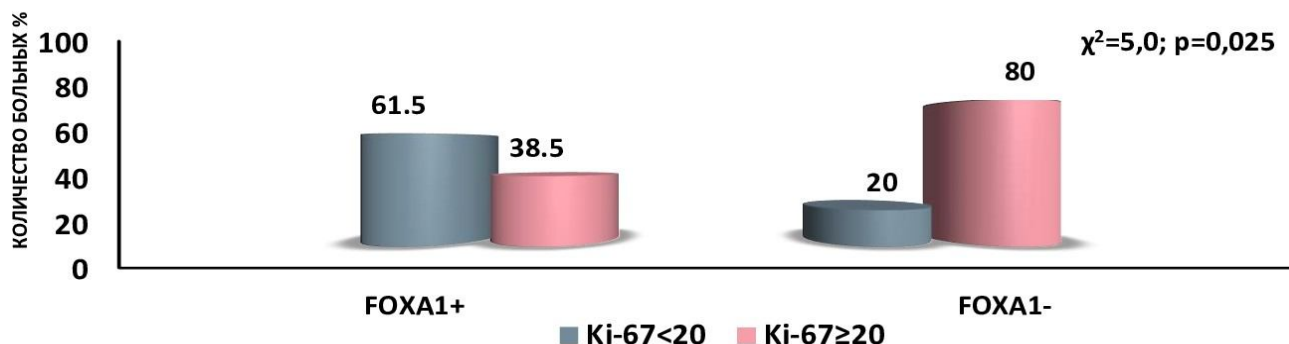


Рисунок 7 – Распределение больных в зависимости от уровня Ki67 и наличия экспрессии FOXA1 в опухоли

При отсутствии в опухоли FOXA1 чаще наблюдаются случаи с уровнем пролиферации 20 % и более.

По нашим данным, степень гистологической злокачественности опухоли инвазивной карциномы была связана с уровнем пролиферативной активности опухолевых клеток. Наибольшие показатели индекса пролиферации отмечались в группе больных, опухоли которых имели grade 3 (grade 1 – 15,8 % $\pm$ 12,6 %, grade 2 – 20,4 % $\pm$ 16,1 %, grade 3 – 50,0 % $\pm$ 15,8 %, F = 7,86 p = 0,0007). Полученные данные согласуются с результатами других исследований и подтверждают связь данного гистологического критерия с пролиферацией опухолевых клеток при РМЖ. Проведенная оценка уровня пролиферативной активности в опухоли не была связана с наличием феномена краудинга и присутствием ретракции в строме опухоли (соответственно: p = 0,9 и p = 0,7).

Таким образом, проведенный анализ пролиферативной активности, параметров рецепторного статуса опухоли в связи с экспрессией изученных транскрипционных факторов позволил выявить ряд значимых зависимостей. Снижение экспрессии рецепторов эстрогена сопряжен с отсутствием фактора FOXA1. Показано, что процент экспрессии FOXA1 и GATA3 связан с наличием рецепторов прогестерона в опухолевых клетках. В свою очередь, процент экспрессии PR в опухоли сопряжен с характером распределения опухолевых клеток, имеющих позитивное окрашивание FOXA1. Полученные данные подтверждают тесную функциональную взаимосвязь данных ТФ с рецепторным статусом РМЖ. Отсутствие экспрессии FOXA1 в опухоли связано с большей частотой случаев карцином молочной железы, имеющих индекс пролиферации Ki67 $\geq$ 20 %.

Анализ экспрессии транскрипционных факторов и частоты развития лимфогенных метастазов у больных раком молочной железы. Регионарное метастазирование при РМЖ является фактором, определяющим не только объем необходимого лечения, но и предиктором течения болезни. Наличие регионарных метастазов на момент операции было диагностировано и подтверждено по результатам гистологического исследования операционного материала у 36 (35,6 %) пациенток. Среднее число поражённых метастазами лимфатических узлов составило – 4,91 ($Q1 - 11 \div Q3 - 6,5$, $\min - 1$, $\max - 27$ $SD \pm 5,7$).

Частота лимфогенного метастазирования не зависела от степени злокачественности опухоли ($\chi^2 = 0,7$, $p = 0,7$), состояния менструальной функции пациенток ($p = 0,7$), характера роста новообразования ($p = 0,33$). Отмечалась корреляция размера опухоли и с наличием регионарных метастазов ($r = 0,326$, $p = 0,0009$). Частота развития данной формы прогрессирования не отличалась в зависимости от варианта люминального подтипа РМЖ ($\chi^2 = 2,05$, $p = 0,35$).

Нами проведен анализ экспрессии ТФ в зависимости от наличия либо отсутствия опухолевого поражения лимфатических коллекторов (рисунок 8).

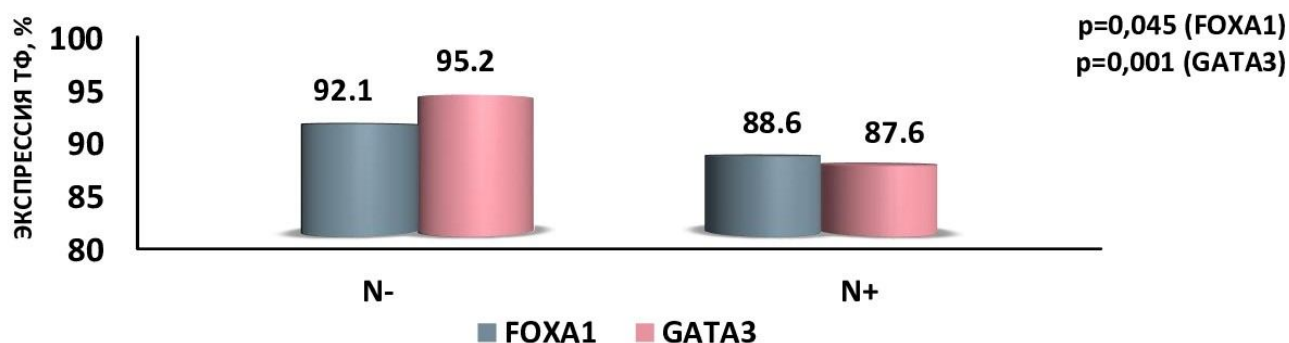


Рисунок 8 – Экспрессия факторов GATA3, FOXA1 в зависимости от состояния регионарных лимфатических узлов у пациенток с люминальным молекулярным подтипом РМЖ

По нашим данным отмечалась зависимость частоты регионарного метастазирования от характера экспрессии всех трех исследованных ТФ. При гомогенном характере экспрессии GATA3, ELF5 и FOXA1 у пациенток чаще наблюдалось поражение метастазами регионарных лимфатических узлов (соответственно $\chi^2 = 5,63$, $p = 0,017$; $\chi^2 = 4,01$, $p = 0,045$; $\chi^2 = 3,6$, $p = 0,05$). Так, в 42 % случаев с гомогенной экспрессией GATA-3 в опухоли наблюдался положительный статус лимфатических узлов, в то время как при гетерогенном распределении только в 17 % наблюдений. При гомогенном распределении ELF-5 статус N+ регистрировался у 28 больных (42 %) против 4 (18 %) с гетерогенным типом экспрессии.

Анализ экспрессии транскрипционных факторов и частоты развития отдаленных метастазов у больных РМЖ. За период наблюдения отдаленные метастазы были диагностированы у 15 из 101 (14,8 %) пациентки. Оценивалась локализация метастатических очагов и срок их возникновения после операции. Изолированные

метастазы в кости были обнаружены в 9 из 15 случаев (60 %), в 6 случаях (40 %) отмечалось множественное опухолевое поражение костей и висцеральных органов.

Было показано, что размер первичной опухоли был существенно сопряжен с частотой развития гематогенной прогрессии (M0 – 1,8 см ± 0,77 см, M1 – 2,5 см ± 1,2 см; F = 9,3; p = 0,002). Статистическая зависимость связи размера новообразования и наличия отдаленных метастазов, без учёта их локализации, подтверждалась также наличием корреляционной связи (r = 0,22; p = 0,002). В нашем исследовании отмечена отчетливая статистическая тенденция к подобному роду зависимости ($\chi^2 = 4,9$, p = 0,08).

По нашим данным частота развития отдаленных метастазов была сопряжена с наличием лимфогенных метастазов в регионарных лимфатических узлах ($\chi^2 = 10,9$, p = 0,00095). В 73 % наблюдений развитие гематогенных метастазов было сопряжено с наличием метастатического поражения регионарных лимфатических узлов. В 27 % случаев прогрессирование заболевания возникло при отсутствии поражения подмышечных лимфатических узлов. Частота развития отдаленных метастазов статистически не различалась в зависимости от варианта люминального подтипа новообразования ($\chi^2 = 0,9$, p = 0,6). Тем не менее, следует отметить, что наибольшая частота развития отдаленных метастазов наблюдалась в подгруппе больных с фенотипом опухоли – люминальный В (HER2-негативный). Уровень пролиферативной активности, оценённый по экспрессии Ki67 в опухолевых клетках, не был существенно сопряжен с развитием отдаленных метастазов ($\chi^2 = 0,04$, p = 0,82).

Согласно нашим данным, были выявлены существенные различия в экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона у больных, имеющих различное течение опухолевой болезни. Так, в группе больных с наличием гематогенных метастазов процент экспрессии ER был значимо ниже (M0 – 94,7 (70÷100) и M1 – 69,3(51,5÷93); p = 0,02). Аналогичные данные получены в отношении уровня экспрессии PR (M0 – 83 (59,5÷98), M1 – 49 (32÷74,4); p = 0,038).

По нашим данным было обнаружено, что при развитии отдалённых метастазов процент экспрессии FOXA1 и ELF5 в клетках первичной опухоли достоверно был ниже в сравнении с теми случаями, у которых признаки прогрессии болезни отсутствовали (рисунок 9).

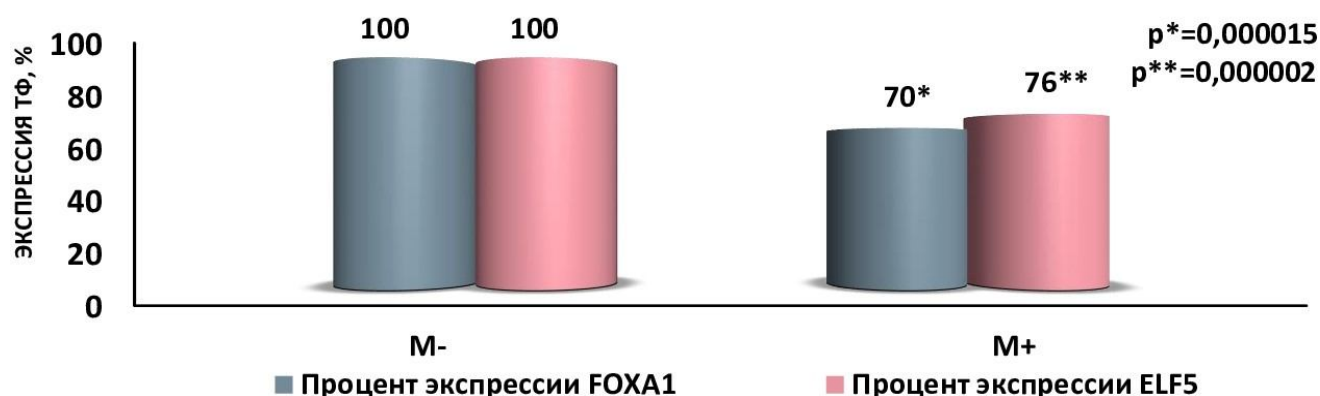


Рисунок 9 – Показатели экспрессии транскрипционных факторов в опухоли в зависимости от наличия отдаленных метастазов у больных люминальным РМЖ

Подобных различий в отношении экспрессии маркера GATA3 получено не было. Исследование показало наличие зависимости между характером распределения экспрессии изучаемых маркеров и частотой гематогенного метастазирования. Наиболее часто гематогенные метастазы наблюдались при гетерогенной экспрессии в опухоли факторов FOXA1 ($\chi^2 = 6,42$, $p = 0,01$) и ELF5 ($\chi^2 = 14,46$, $p = 0,0001$) (рисунок 10).

При исследовании характера распределения экспрессии GATA3 в опухоли с частотой развития гематогенных метастазов не был выявлен уровень статистической значимости различий ($\chi^2 = 2,46$, $p = 0,7$).

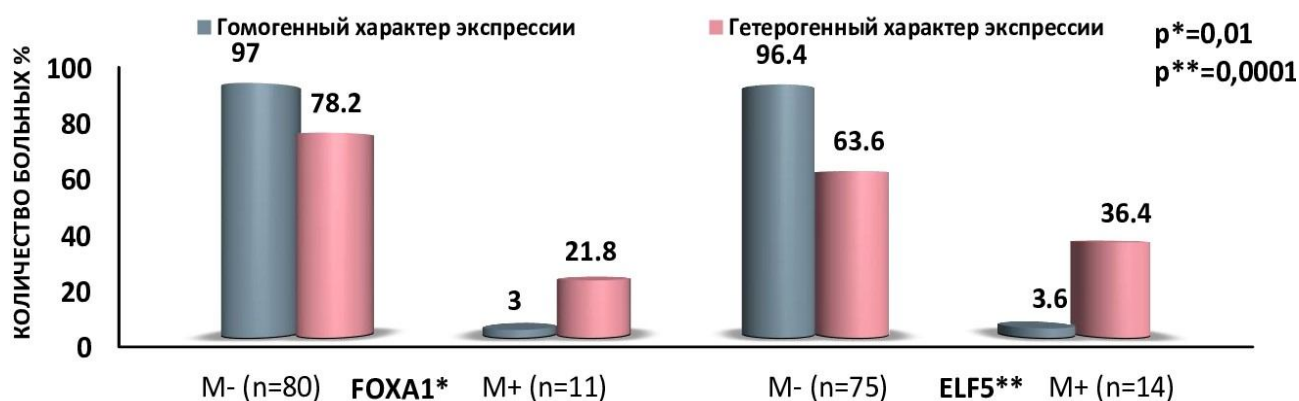


Рисунок 10 – Распределение пациенток в зависимости от гематогенного метастазирования и характера распределения экспрессии FOXA1, ELF5 в опухоли

Обнаруженные нами связи между низким уровнем экспрессии ELF5 и FOXA1 и частотой гематогенного метастазирования можно объяснить с разных позиций. С одной стороны, выявленные закономерности могут быть обусловлены патогенетическим влиянием указанных факторов на процессы пролиферации опухолевых клеток и ангиогенез, являясь, в первую очередь, проявлением активации эпителиально-мезенхимального перехода как ключевого механизма в развитии гематогенного прогрессирования. Известно, что факторы транскрипции ELF5 и FOXA1 оказывают супрессорное воздействие на ЭМП, в связи с этим снижение уровня их экспрессии в опухоли может способствовать активации факторов Twist1 и Slug, имеющих ключевую роль в ЭМП. С другой стороны, гематогенное прогрессирование в группе больных с низким уровнем экспрессии факторов FOXA1 и ELF5 при гетерогенном характере их распределения в опухоли в совокупности с низким уровнем экспрессии ER и PR могут определять развитие резистентности к проводимой гормональной терапии. Однако данные аспекты требуют дальнейшего изучения.

Прогнозирование вероятности развития отдаленных метастазов у больных люминальным подтипом рака молочной железы. На основе результатов проведенного исследования с использованием метода нелинейной логистической регрессии была разработана математическая модель для прогнозирования вероятности риска развития гематогенных метастазов для больных раком молочной железы без предварительного

предоперационного лечения. В качестве независимых признаков в математическую модель вошли такие показатели, как степень гистологической злокачественности опухоли (grade), состояние регионарных лимфатических узлов по результатам исследования операционного материала (наличие либо отсутствие метастазов в регионарных лимфатических узлах), наличие феномена ретракции в опухоли, характер экспрессии в опухоли FOXA1, наличие экспрессии в опухоли ELF5, уровень пролиферативной активности опухолевых клеток, оцененный по экспрессии – Ki67. В качестве количественного признака при построении регрессии вошел такой признак как размер первичной опухоли.

Расчет вероятности риска гематогенного метастазирования при люминальном раке молочной железы проводят по математической формуле:

$$Y = -47,3186 + 2,4630 \times X1 + 2,34527 \times X2 + 0,08 \times X3 - 1,76 \times X4 + 21 \times X5 - 1,29 \times X6$$

Степень достоверности модели $\chi^2 = 51,47$; $p = 0,0000$. Чувствительность – 97 %, специфичность – 79,4 %. Пояснения формулы и переменных представлены в рубрике практических рекомендаций.

ВЫВОДЫ

1. Размер первичной опухоли при люминальном раке молочной железы связан с характером экспрессии транскрипционного фактора FOXA1 и наличием экспрессии ELF5. Новообразования ≥ 2 см чаще наблюдаются при гетерогенном распределении FOXA1 ($p = 0,022$) и отсутствии экспрессии ELF5 в клетках опухоли ($p = 0,017$). Снижение количества экспрессируемых факторов транскрипции клетками карциномы взаимосвязано с увеличением размера новообразования ($p = 0,03$).

2. Экспрессия транскрипционных факторов FOXA1, GATA3, ELF5 не зависит от возраста пациенток, состояния менструальной функции, характера роста новообразования и варианта люминального субтипа рака молочной железы. 78,22 % люминальных опухолей имеют фенотип FOXA1+GATA3+ELF5+. Частота экспрессии FOXA1 связана со степенью злокачественности карциномы ($\chi^2 = 9,07$, $p = 0,01$) и выраженностью инфильтрации иммунными клетками в строме ($\chi^2 = 8,4$, $p = 0,01$). Характер экспрессии GATA3 и ELF5 в опухоли сопряжен с феноменом ретракции и краудинга ($\chi^2 = 4,9$, $p = 0,02$ и $\chi^2 = 4,6$, $p = 0,03$ соответственно).

3. Отсутствие в опухоли транскрипционного фактора FOXA1 ассоциировано с низким процентом экспрессии ER ($p = 0,04$) и высокой пролиферативной активностью клеток (Ki67 ≥ 20 %; $p = 0,025$). Люминальный рак молочной железы с отрицательной экспрессией PR характеризуется снижением процента экспрессии GATA3 и FOXA1 в опухоли ($p = 0,0002$ и $p = 0,02$ соответственно). Характер экспрессии фактора FOXA1 сопряжен с процентом экспрессии PR в карциномах люминального подтипа ($p = 0,001$). Процент ER в опухолевых клетках не отличается в зависимости от наличия экспрессии GATA3 ($p = 0,55$).

4. Частота лимфогенного метастазирования у больных люминальным раком молочной железы связана с гомогенным характером экспрессии GATA3, FOXA1 и ELF5

клетками первичной опухоли. При развитии метастазов в регионарных лимфатических узлах отмечается снижение процента экспрессии GATA3, FOXA1 в опухоли ($p = 0,001$ и $p = 0,045$ соответственно).

5. Отдаленные метастазы у больных люминальным раком молочной железы чаще наблюдаются при гетерогенной экспрессии в опухоли факторов FOXA1 ($\chi^2 = 6,42$, $p = 0,01$) и ELF5 ($\chi^2 = 14,46$, $p = 0,0001$). Развитие гематогенных метастазов сопряжено с низким процентом экспрессии факторов FOXA1 и ELF5 ($p = 0,000015$ и $p = 0,000002$ соответственно) и взаимосвязано со снижением экспрессии ER и PR в первичной опухоли ($p = 0,02$ и $p = 0,038$ соответственно).

6. Разработана математическая модель для прогнозирования вероятности риска гематогенного метастазирования у больных с люминальным подтипом рака молочной железы и включает морфологические и молекулярные параметры (grade опухоли, состояние лимфатических узлов, наличие феномена ретракции в опухоли, характер экспрессии FOXA1, наличие экспрессии ELF5, уровень пролиферативной активности – Ki67). Степень достоверности модели $\chi^2 = 51,47$; $p = 0,0000$. Чувствительность – 97 %, специфичность – 79,4 %.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для прогнозирования отдаленного метастазирования при люминальном РМЖ важно оценивать по операционному материалу комплекс параметров: степень гистологической злокачественности опухоли (grade), состояние регионарных лимфатических узлов, наличие феномена ретракции в опухоли, характер экспрессии в опухоли FOXA1, наличие экспрессии в опухоли ELF5, уровень – Ki67.

2. Расчет вероятности риска гематогенного метастазирования при люминальном раке молочной железы проводят по следующей формуле:

$$Y = -47,3186 + 2,4630 \times X_1 + 2,34527 \times X_2 + 0,08 \times X_3 - 1,76 \times X_4 + 21 \times X_5 - 1,29 \times X_6$$

где Y – значение уравнения регрессии;

(–47,3186) – значение коэффициента регрессии свободного члена;

X_1 – степень гистологической злокачественности опухоли (1 балл – опухоль имеет grade 1; 2 балла – опухоль имеет grade 2; 3 балла – опухоль имеет grade 3);

(2,4630) – значение коэффициента регрессии признака X_1 ;

X_2 – наличие лимфогенных метастазов в регионарных лимфатических узлах (1 балл – нет метастазов, 2 балла – имеются метастазы в регионарных лимфатических узлах);

(2,34527) – значение коэффициента регрессии признака X_2 ;

X_3 – наличие в опухолевой ткани феномена ретракции (1 балл – ретракция отсутствует; 2 балла – феномен ретракции в ткани опухоли присутствует);

(0,08) – значение коэффициента регрессии признака X_3 ;

X_4 – характер экспрессии FOXA1 в опухоли (1 балл – гомогенная экспрессия; 2 балла – гетерогенная экспрессия);

(–1,76) – значение коэффициента регрессии признака X_4 ;

X_5 – наличие экспрессии ELF5 в опухоли (1 балл – нет, ELF5; 2 балла – есть);

(21) – значение коэффициента регрессии признака X_5 ;

X_6 – уровень пролиферативной экспрессии Ki67 (1 балл – экспрессия Ki67 в опухоли $< 20\%$; 2 балла – экспрессия Ki67 в опухоли $\geq 20\%$);

(-1,29) – значение коэффициента регрессии признака X_6 ;

Вероятность развития гематогенных метастазов определяют по следующей математической формуле:

$$P = e^Y / (1 + e^Y),$$

где P – значение вероятности развития признака;

Y – значение уравнения регрессии;

e – математическая константа, равная 2,72.

При вероятности $P \geq 50\%$ определяют высокий риск развития отдаленного метастазирования, при вероятности $P < 50\%$ определяют низкий риск развития отдаленных метастазов (степень достоверности математической модели $\chi^2 = 51,47$; $p = 0,0000$). Чувствительность разработанной модели составила 97 %, специфичность – 79,4 %.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Связь особенностей экспрессии транскрипционного фактора GATA3 с лимфогенным метастазированием при люминальном раке молочной железы / С. В. Вторушин, **Д. В. Васильченко**, К. Ю. Христенко [и др.] // **Сибирский онкологический журнал**. – 2017. – Т. 16, № 5. – С. 42–47.

2. Связь GATA3, FOXA1, ELF5 с клинико-морфологическими параметрами люминального рака молочной железы / С. В. Вторушин, **Д. В. Васильченко**, Н. В. Крахмаль, С. В. Паталяк // **Journal of Siberian Medical Sciences**. – 2019. – № 4. – С. 62-74.

3. Роль факторов транскрипции GATA3, FOXA1, ELF5 в патогенезе и прогнозе рака молочной железы / **Д. В. Васильченко**, Н. В. Крахмаль, С. В. Вторушин, М. В. Завьялова // **Сибирский онкологический журнал**. – 2020. – Т. 19, № 3. – С. 146–155.

4. Экспрессионные характеристики ядерного фактора транскрипции при раке молочной железы / **Д. В. Васильченко**, Н. В. Крахмаль, К. Ю. Христенко [и др.] / Морфологические науки – фундаментальная основа медицины : материалы 1-й Международной морфологической научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых, посвященной памяти профессора М. Я. Субботина. – Новосибирск, 2016. – С. 40-42.

5. Экспрессионные особенности факторов транскрипции при раке молочной железы, ассоциированные с параметрами опухолевой прогрессии / Н. В. Крахмаль, **Д. В. Васильченко**, И. В. Степанов [и др.] // Сборник материалов 12-й Всероссийской конференции молодых ученых-онкологов, посвященной памяти академика РАМН Н. В. Васильева. – Томск, 2017. – С. 73-74.

6. Вострикова, М. А. Изучение феномена ретракции при раке молочной

железы. взаимосвязь морфологических параметров опухоли с частотой лимфогенного метастазирования / М. А. Вострикова, **Д. В. Васильченко** // Морфологические науки – фундаментальная основа медицины» : материалы 2-й Международной морфологической научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых, посвященной памяти профессора М. А. Самотейкина. – Новосибирск, 2017. – С. 60–61.

7. Экспрессия транскрипционных факторов FOXA1 и GATA-3 при инвазивном раке молочной железы / **Д. В. Васильченко**, Н. В. Крахмаль, И. В. Степанов, К. Ю. Христенко // Морфологические науки – фундаментальная основа медицины» : материалы 2-й Международной морфологической научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых, посвященной памяти профессора М. А. Самотейкина. – Новосибирск, 2017. – С. 53–55.

8. Особенности экспрессии транскрипционного фактора FOXA1 при люминальном раке молочной железы, связь с лимфогенным метастазированием / С. В. Вторушин, **Д. В. Васильченко**, К. Ю. Христенко [и др.] // 3-я Всероссийская конференция по молекулярной онкологии : материалы конференции. – Москва, 2017. – С. 55.

9. Крахмаль, Н. В. Изучение экспрессионного профиля факторов транскрипции при раке молочной железы / Н. В. Крахмаль, **Д. В. Васильченко** // Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины : сборник материалов конгресса молодых ученых. – Томск, 2018. – С. 256–258.

10. Крахмаль, Н. В. Поиск потенциальных маркеров прогрессии при люминальных карциномах молочной железы / Н. В. Крахмаль, **Д. В. Васильченко** // Научная конференция с Международным участием, посвященная 170-летию кафедры патологической анатомии им. академика А. И. Струкова (Сеченовский Университет) : материалы конференции. – Москва, 2019. – С. 18.

11. Иммуногистохимическая оценка экспрессии GATA3, FOXA1, ELF5 в опухоли – дополнительный фактор прогноза при люминальном раке молочной железы / С. В. Вторушин, **Д. В. Васильченко**, Н. В. Крахмаль, М. В. Завьялова // 24-й Российский онкологический конгресс : тезисы постерных докладов // Злокачественные опухоли. – Москва, 2020. – Т. 10, № 3s1. – С. 66–67.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ЛУ	– лимфатические узлы
РМЖ	– рак молочной железы
ТФ	– транскрипционный фактор
М	– среднее значение показателя
p	– критерий значимости различий
r	– коэффициент корреляции
SD	– стандартное отклонение
ER	– рецепторы эстрогена
PR	– рецепторы прогестерона
Her2/neu	– эпидермальный фактор роста