



Тараканова Валерия Олеговна

**РОЛЬ РЕГУЛЯТОРНЫХ БЕЛКОВ ROR1 и VMI-1 В ЭФФЕКТИВНОСТИ
ГОРМОНОТЕРАПИИ ИНГИБИТОРАМИ АРОМАТАЗЫ У БОЛЬНЫХ
ЛЮМИНАЛЬНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

3.1.6. Онкология, лучевая терапия

3.3.2. Патологическая анатомия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

Научные руководители:

Бабышкина Наталия Николаевна,
доктор медицинских наук
Вторушин Сергей Владимирович,
доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Демидов Сергей Михайлович

доктор медицинских наук, профессор,
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Уральский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, кафедра онкологии и
лучевой диагностики, заведующий

Карнаухов Николай Сергеевич

доктор медицинских наук, Государственное
бюджетное учреждение здравоохранения города
Москвы «Московский клинический научный центр
имени А.С. Логинова Департамента
здравоохранения города Москвы»,
патологоанатомическое отделение, заведующий
отделением

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Санкт-Петербург)

Защита состоится «___» _____ 2026 года в ____ часов на заседании диссертационного
совета **24.1.215.06** на базе Федерального государственного бюджетного научного
учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской
академии наук» по адресу г. Томск, пер. Кооперативный 5.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального
государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук», адрес сайта
<http://tnimc.ru/>

Автореферат разослан «___» _____ 2026 года.

Ученый секретарь диссертационного
совета, доктор медицинских наук



Медведева А. А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Рак молочной железы (РМЖ) остается ведущей онкологической патологией у женщин и одной из основных причин онкологической смертности во всем мире. В Российской Федерации РМЖ стабильно занимает первое место в структуре онкологической заболеваемости женского населения (Каприн А.Д. и соавт., 2024).

Несмотря на внедрение программ ранней диагностики и совершенствование лечебных подходов, сохраняется высокая медико-социальная значимость заболевания и необходимость дальнейшего повышения эффективности лечения и прогностической стратификации пациенток.

Наиболее распространенным клинико-биологическим вариантом РМЖ является гормон-рецептор-положительный HER2-негативный подтип, для которого адъювантная эндокринотерапия является базовым компонентом комбинированного лечения. В постменопаузе ингибиторы ароматазы (анастрозол, летрозол, эксеместан) входят в число стандартов адъювантной терапии и рекомендованы ведущими международными экспертными сообществами (Loibl S. et al., 2024; NCCN, 2025). Вместе с тем, по данным крупных клинических исследований и метаанализов, у 15-20 % пациенток с ранним HR+/HER2– РМЖ развивается отдаленное прогрессирование заболевания даже на фоне адекватно проведенной гормонотерапии (Papakonstantinou A. et al., 2025; Lobo-Martins S. et al., 2025).

Ограниченная прогностическая ценность стандартных клинико-морфологических факторов и базовых иммуногистохимических маркеров (ER, PR, Ki-67) обуславливает необходимость поиска дополнительных биологических показателей, отражающих молекулярную гетерогенность опухоли и потенциальную резистентность к эндокринному воздействию (Prat A., Perou C.M., 2024). Современные исследования указывают, что даже внутри люминального HER2-негативного подтипа существует выраженная вариабельность биологических свойств опухолей, определяющая различия клинического течения и исходов заболевания.

В последние годы возрастающее внимание уделяется регуляторным белкам, вовлеченным в сигнальные пути, связанные с пролиферацией, инвазивностью и устойчивостью опухолевых клеток. В этом контексте особый интерес представляет рецептор ROR1 (receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 1), относящийся к онкофетальным молекулам. Показано, что экспрессия ROR1 ассоциируется с агрессивным фенотипом опухолевых клеток, активацией сигнальных каскадов выживания и снижением чувствительности к противоопухолевой терапии, что рассматривается как потенциальный механизм лекарственной резистентности (Jung M.S. et al., 2025; Wang F. et al., 2025; Reed V.L. et al., 2025).

Другим значимым регуляторным белком является BMI-1 – компонент Polycomb-репрессивного комплекса, участвующий в эпигенетическом контроле экспрессии генов, регуляции клеточного цикла и поддержании стволовоподобных свойств клеток. По данным экспериментальных и клинико-патологических исследований, повышенная экспрессия BMI-1 связана с усилением пролиферативной активности, инвазивного потенциала и неблагоприятным течением опухолевого процесса, а также с формированием фенотипа устойчивости к терапии (Szustka A. et al., 2022; Liu J. et al., 2023; Althobiti M. et al., 2020).

Вместе с тем клиническая значимость BMI-1 при люминальном раке молочной железы и его роль в эффективности адъювантной гормонотерапии остаются недостаточно изученными.

Дополнительный уровень молекулярной гетерогенности HR+/HER2– РМЖ связан с мутациями гена *PIK3CA*, которые являются одними из наиболее частых генетических событий при данном подтипе опухоли. Современные исследования показывают, что мутации *PIK3CA* могут влиять на активность PI3K/АКТ-сигнального пути, модифицировать биологическое поведение опухоли и ассоциироваться с особенностями ответа на эндокринную терапию и показателями безрецидивной выживаемости (Schagerholm C. et al., 2024; Dieci M.V. et al., 2025; Yan M. et al., 2025; Ćerina Pavlinović D. et al., 2024).

Таким образом, несмотря на значительный объем данных, посвященных клинимоρφологическим и молекулярным аспектам люминального рака молочной железы, степень разработанности проблемы оценки эффективности адъювантной гормонотерапии ингибиторами ароматазы с учетом экспрессии регуляторных белков ROR1 и BMI-1, а также мутационного статуса *PIK3CA*, остается ограниченной. В доступной литературе отсутствуют комплексные клинимоρφологические исследования, выполненные в клинически однородных группах пациенток, что и определяет научную нишу настоящей работы.

Степень разработанности темы исследования

Проблема биологической гетерогенности гормон-рецептор-положительного HER2-негативного рака молочной железы и факторов, влияющих на эффективность адъювантной гормонотерапии, активно изучается в течение последних десятилетий. Основное внимание уделено клинимоρφологическим характеристикам опухоли, стандартным иммуногистохимическим маркерам (ER, PR, Ki-67), а также их прогностической и предиктивной значимости при выборе эндокринной терапии (Prat A., Perou C.M., 2024).

В клинических исследованиях доказано преимущество ингибиторов ароматазы перед тамоксифеном у больных люминальным раком молочной железы в постменопаузе, однако биологические факторы, определяющие вариабельность ответа на лечение, изучены недостаточно (Loibl S. et al., 2024; Papakonstantinou A. et al., 2025; Lobo-Martins S. et al., 2025).

В последние годы активно изучаются молекулярные механизмы эндокринорезистентности. Показана связь экспрессии рецептора ROR1 с инвазивным потенциалом опухоли и снижением чувствительности к противоопухолевой терапии (Jung M.S. et al., 2025; Wang F. et al., 2025; Reed V.L. et al., 2025), однако большинство исследований выполнено на экспериментальных моделях либо в смешанных клинических когортах.

Повышенная экспрессия белка BMI-1 ассоциирована с неблагоприятным течением опухолевого процесса при различных злокачественных новообразованиях, включая рак молочной железы (Jung M.S. et al., 2025; Wang F. et al., 2025; Reed V.L. et al., 2025), однако его клиническая значимость при люминальном HER2-негативном раке молочной железы остается недостаточно изученной.

Мутации гена *PIK3CA* относятся к наиболее частым молекулярным событиям при HR+/HER2– раке молочной железы и могут быть связаны с особенностями клинического течения и ответа на эндокринную терапию (Schagerholm C. et al., 2024; Dieci M.V. et al., 2025; Yan M. et al., 2025; Ćerina Pavlinović D. et al., 2024). Вместе с тем результаты исследований остаются неоднозначными.

Таким образом, несмотря на значительный объем накопленных данных, комплексная оценка эффективности адъювантной гормонотерапии ингибиторами ароматазы с учетом экспрессии ROR1 и BMI-1, а также мутационного статуса *PIK3CA*, остается недостаточно разработанной. В литературе отсутствуют комплексные клинико-морфологические исследования, выполненные в клинически однородных группах пациенток, что определяет научную нишу настоящего исследования.

Цель исследования

Оценить прогностическую значимость экспрессии регуляторных белков ROR1 и BMI-1, мутационного статуса гена *PIK3CA* и клинико-морфологических характеристик опухоли в отношении эффективности адъювантной гормонотерапии ингибиторами ароматазы у больных люминальным HER2-негативным раком молочной железы в постменопаузе.

Задачи исследования

1. Изучить уровень экспрессии регуляторных белков ROR1 и BMI-1 в ткани опухоли больных люминальным раком молочной железы в постменопаузе и проанализировать их связь с основными морфологическими характеристиками опухоли.
2. Оценить взаимосвязь экспрессии ROR1 и BMI-1 с параметрами регуляции клеточного цикла опухолевых клеток, включая экспрессию Cyclin D1.
3. Определить частоту соматических мутаций гена *PIK3CA* в ткани опухолей молочной железы и оценить их связь с клинико-морфологическими характеристиками опухоли и уровнем экспрессии ROR1 и BMI-1.
4. Проанализировать отдаленные результаты адъювантной гормонотерапии ингибиторами ароматазы у больных люминальным раком молочной железы в зависимости от уровня экспрессии ROR1, BMI-1 и мутационного статуса гена *PIK3CA*.
5. Оценить прогностическую значимость изучаемых молекулярных маркеров в отношении риска развития гематогенного метастазирования у больных люминальным раком молочной железы, получающих адъювантную гормонотерапию ингибиторами ароматазы.

Научная новизна

Впервые в клинически однородной когорте пациенток с первично-операбельным люминальным HER2-негативным раком молочной железы I-II стадий, получающих адъювантную гормонотерапию ингибиторами ароматазы, установлена прогностическая значимость экспрессии регуляторных белков ROR1 и BMI-1 в ткани первичной опухоли.

Впервые показано, что повышенная экспрессия ROR1 и, в наибольшей степени, BMI-1 ассоциирована с развитием отдаленного гематогенного метастазирования у пациенток данной клинической группы.

Впервые выявлена взаимосвязь экспрессии ROR1 и BMI-1 в ткани люминального HER2-негативного рака молочной железы и установлена их ассоциация с нарушением регуляции клеточного цикла опухолевых клеток, отраженным гиперэкспрессией Cyclin D1.

Установлено, что мутационный статус гена *PIK3CA* ассоциирован с ухудшением безметастатической выживаемости пациенток и не связан с уровнем экспрессии ROR1 и BMI-1, что свидетельствует о независимом характере указанных молекулярных факторов прогноза.

Впервые показана прогностическая значимость комплексной оценки молекулярных маркеров (ROR1, BMI-1 и мутационного статуса гена *PIK3CA*) для стратификации риска гематогенного метастазирования у больных люминальным HER2-негативным раком молочной железы, получающих адъювантную гормонотерапию ингибиторами ароматазы.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные результаты углубляют современные представления о молекулярных факторах, ассоциированных со снижением эффективности адъювантной гормонотерапии ингибиторами ароматазы у больных люминальным HER2-негативным раком молочной железы, и уточняют прогностическую роль регуляторных белков ROR1 и BMI-1 в формировании неблагоприятного клинического течения заболевания.

Теоретическая значимость исследования заключается в уточнении роли ROR1 и BMI-1 в нарушении регуляции клеточного цикла опухолевых клеток при люминальном раке молочной железы, а также в обосновании независимого вклада молекулярных факторов, ассоциированных с соматическими мутациями гена *PIK3CA*, в прогноз заболевания без прямой связи с экспрессией указанных регуляторных белков.

Практическая значимость работы состоит в возможности использования иммуногистохимической оценки экспрессии ROR1 и BMI-1, а также данных о мутационном статусе гена *PIK3CA* для дополнительной прогностической стратификации пациенток с люминальным HER2-негативным раком молочной железы, получающих адъювантную гормонотерапию ингибиторами ароматазы, и оптимизации тактики их динамического наблюдения.

Методология и методы исследования

Исследование выполнено в формате ретроспективного когортного анализа. В него включены пациентки с первично-операбельным люминальным HER2-негативным раком молочной железы I–II стадий, находящиеся в постменопаузе и получавшие адъювантную гормонотерапию ингибиторами ароматазы.

Материалом исследования служили операционные образцы опухолевой ткани молочной железы. Морфологическая оценка выполнялась с использованием стандартных гистологических методик. Иммуногистохимическое исследование применялось для количественной оценки экспрессии регуляторных белков ROR1, BMI-1 и Cyclin D1 с использованием валидированных антител и унифицированных протоколов окрашивания.

Молекулярно-генетическое исследование включало определение соматических мутаций гена *PIK3CA* в ткани опухоли методом полимеразной цепной реакции.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием методов описательной статистики. Для сравнения категориальных признаков применялся критерий χ^2 Пирсона. Для оценки факторов риска развития гематогенного метастазирования использовался метод логистической регрессии. Анализ выживаемости выполнялся методом Каплана–Мейера с применением log-rank теста.

Положения, выносимые на защиту

1. Повышенная экспрессия регуляторных белков ROR1 и BMI-1 в ткани первичной опухоли ассоциирована с развитием гематогенного метастазирования и ухудшением безметастатической выживаемости у больных первично-операбельным люминальным HER2-негативным раком молочной железы I–II стадий, получающих адъювантную гормонотерапию ингибиторами ароматазы.
2. Экспрессия ROR1 и BMI-1 взаимосвязана и ассоциирована с гиперэкспрессией Cyclin D1, что свидетельствует о вовлеченности данных регуляторных белков в нарушение регуляции клеточного цикла опухолевых клеток при люминальном HER2-негативном раке молочной железы.

3. Комплексная оценка экспрессии ROR1, BMI-1 и мутационного статуса гена *PIK3CA* в ткани первичной опухоли позволяет осуществлять молекулярную стратификацию больных первично-операбельным люминальным HER2-негативным раком молочной железы I-II стадий при проведении адъювантной гормонотерапии ингибиторами ароматазы.

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность результатов исследования обеспечена достаточным объемом клинического материала, включающего опухолевую ткань больных первично-операбельным люминальным HER2-негативным раком молочной железы I-II стадий.

В работе использован комплекс современных валидированных методов исследования, включающий морфологический, иммуногистохимический и молекулярно-генетический анализ. Применение стандартизированных протоколов, сертифицированного оборудования и количественной оценки исследуемых показателей обеспечило воспроизводимость результатов и минимизацию методических ошибок.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием методов, адекватных поставленным задачам и характеру исследуемых признаков, что обеспечило корректность интерпретации результатов и обоснованность выводов.

Внутренняя согласованность исследования подтверждается воспроизводимостью выявленных взаимосвязей между клинико-морфологическими, иммуногистохимическими и молекулярно-генетическими характеристиками опухоли.

Апробация материалов диссертации

Основные положения и результаты диссертационного исследования докладывались и обсуждались на юбилейной научно-практической конференции «Парадигмы лекарственной терапии у онкологических больных» (Обнинск, 2023); Первом молодежном международном онкологическом форуме «гОНКа» (Санкт-Петербург, 2023); Всероссийской конференции с международным участием «Молодые лидеры в медицинской науке» (Томск, 2023); VII Международной морфологической научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых, посвященной 125-летию со дня рождения профессора В.М. Константинова (Новосибирск, 2022); VIII Международной морфологической научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых, посвященной 100-летию со дня рождения профессора Н.В. Донских (Новосибирск, 2023); 37-м Европейском конгрессе патологов (Vienna, Austria, 2025).

Публикации результатов исследования

По теме диссертационного исследования опубликовано 10 научных работ, включая 3 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Основные результаты исследования также представлены в материалах всероссийских и международных научно-практических конференций. По результатам работы зарегистрирована 1 база данных, отражающая клинико-патологические и молекулярные характеристики люминального рака молочной железы.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в практическую деятельность отделения общей и молекулярной патологии и отделения общей онкологии НИИ онкологии Томского НИМЦ. Полученные данные используются при оценке прогностического значения экспрессии регуляторных белков ROR1 и BMI-1, а также мутационного статуса гена *PIK3CA* у больных люминальным HER2-негативным раком молочной железы, что способствует

совершенствованию прогностической стратификации пациенток и выбору тактики их динамического наблюдения.

Соответствие диссертации паспортам научных специальностей

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия, направлению исследования п.2 «Исследования на молекулярном, клеточном и органном уровнях этиологии и патогенеза злокачественных опухолей, основанные на современных достижениях ряда естественных наук (генетики, молекулярной биологии, морфологии, иммунологии, биохимии, биофизики и др.)», п.10 «Оценка эффективности противоопухолевого лечения на основе анализа отдалённых результатов» и паспорту научной специальности 3.3.2. Патологическая анатомия, направлению исследования п.2. «Научный анализ патологических процессов, лежащих в основе заболевания, прижизненная диагностика и прогнозная оценка болезней на основе исследований биопсийных материалов», п.3 «Исследование структурных, молекулярно-клеточных и молекулярно-генетических механизмов развития заболеваний в целом и отдельных их проявлений (симптомы, синдромы), создание основ персонализированной патогенетической терапии и профилактики».

Личный вклад автора

Автором определены цель и задачи исследования, разработан дизайн исследования и обоснованы основные методологические подходы к его выполнению. Проведены анализ и систематизация данных современной отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме. Автор участвовал в формировании исследуемой когорты пациенток, сборе и анализе клинико-морфологических данных, а также в оценке отдаленных результатов лечения. Иммуногистохимическое исследование экспрессии изучаемых регуляторных белков, а также анализ мутационного статуса гена *PIK3CA* проведены при непосредственном участии автора.

Статистическая обработка полученных данных, их интерпретация, формулирование выводов и практических рекомендаций выполнены автором лично. Автор принимал участие в подготовке научных публикаций по теме диссертационной работы и представлении результатов исследования на научных мероприятиях.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 164 страницах машинописного текста и включает введение, обзор литературы, главу «Материалы и методы исследования», главу «Результаты исследования», главу «Обсуждение собственных результатов исследования», заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список литературы, а также список иллюстративного материала.

Список литературы содержит 184 источника, из которых 181 опубликован в зарубежных изданиях. Результаты, полученные в ходе исследования, представлены в 27 таблицах и 26 рисунках.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн исследования и характеристика когорты. Исследование выполнено в формате ретроспективного когортного анализа и посвящено изучению клинико-морфологических и молекулярно-биологических характеристик люминального HER2-негативного рака молочной железы, ассоциированных с риском отдаленного метастатического прогрессирования на фоне адъювантной гормонотерапии ингибиторами ароматазы.

В исследование включены 80 пациенток с первично-операбельным люминальным HER2-негативным раком молочной железы, проходивших лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ в 2017–2020 гг. Средний возраст составил $62,1 \pm 8,1$ года; все пациентки находились в постменопаузе. Клиническое стадирование проводили согласно классификации TNM (8-е издание); во всех случаях стадия соответствовала T1–2N0–1M0.

Критериями включения являлись морфологически и иммуногистохимически подтвержденный люминальный HER2-негативный рак молочной железы, постменопаузальный статус, радикальное хирургическое лечение и проведение адъювантной гормонотерапии ингибиторами ароматазы. Критериями исключения служили проведение неoadъювантной системной терапии, адъювантной химиотерапии и наличие первично-множественных злокачественных новообразований.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ (протокол № 13 от 21.12.2020) и выполнено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.



Рисунок 1 – Дизайн исследования

Клиническое и инструментальное обследование. Обследование пациенток проводили в соответствии с действующими клиническими рекомендациями по диагностике и стадированию рака молочной железы. Диагностический алгоритм включал морфологическую верификацию опухоли, оценку локальной и регионарной распространенности процесса и исключение отдаленного метастатического поражения.

При первичном обращении выполняли сбор анамнеза, физикальное обследование, маммографию и/или ультразвуковое исследование молочных желез и регионарных лимфатических узлов. Для исключения отдаленных метастазов проводили компьютерную томографию органов грудной клетки и брюшной полости, по показаниям – сцинтиграфию костей скелета.

Морфологическая верификация и определение молекулярного подтипа. Морфологическую верификацию диагноза осуществляли по результатам исследования биопсийного материала. Молекулярный подтип определяли иммуногистохимическим

методом в соответствии с действующими клиническими рекомендациями. Люминальный HER2-негативный подтип подтверждали при экспрессии ER и/или PR не менее чем в 1 % опухолевых клеток и отсутствии гиперэкспрессии или амплификации HER2. Уровень пролиферативной активности оценивали по экспрессии Ki-67. К люминальному А подтипу относили опухоли с Ki-67 <20 %, к люминальному В HER2-негативному – с Ki-67 $\geq$ 20 % при сохраненной экспрессии ER и/или PR и HER2-негативном статусе.

Лечение пациенток. Лечение проводили в соответствии с действующими клиническими рекомендациями по раку молочной железы. Всем пациенткам выполняли радикальное хирургическое лечение в объеме мастэктомии либо органосохраняющей операции с биопсией сторожевого лимфатического узла и/или аксиллярной лимфодиссекцией. После операции назначали адъювантную лучевую терапию и гормонотерапию ингибиторами ароматазы продолжительностью 5 лет.

Морфологическое исследование операционного материала. Материалом исследования служили образцы первичной опухоли молочной железы и регионарных лимфатических узлов, полученные при хирургическом лечении. Исследование выполняли по стандартным патоморфологическим протоколам в отделении общей и молекулярной патологии НИИ онкологии Томского НИМЦ. После фиксации в 10 % нейтральном формалине материал подвергали стандартной гистологической обработке; парафиновые срезы толщиной 3–4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Гистологический тип опухоли определяли согласно классификации ВОЗ (5-е издание, 2019), степень злокачественности – по системе Nottingham (G1–G3). В регионарных лимфатических узлах оценивали наличие и характер метастатического поражения

Иммуногистохимическое исследование. Иммуногистохимическое исследование выполняли на автоматическом иммуногистостейнере Bond-MAX (Leica Biosystems). Использовали антитела к ROR1 (Thermo Fisher Scientific, 1:100), BMI-1 (Thermo Fisher Scientific, 1:100) и Cyclin D1 (Abcam, 1:100). Экспрессию ROR1 и BMI-1 оценивали по доле позитивно окрашенных опухолевых клеток с учетом характера окрашивания (ядерное, цитоплазматическое) и классифицировали как слабую (1–25 %), умеренную (25–50 %) или высокую (>50 %). Гиперэкспрессию Cyclin D1 регистрировали при ядерном окрашивании более 25 % опухолевых клеток.

Молекулярно-генетическое исследование. Мутационный статус гена PIK3CA определяли в FFPE-образцах первичной опухоли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием тест-системы cobas® PIK3CA Mutation Test (Roche) и платформы cobas® 4800. Для анализа использовали образцы с достаточным содержанием опухолевых клеток после предварительной морфологической оценки. Исследование позволяло выявлять 17 клинически значимых мутаций гена PIK3CA.

Оценка клинических исходов. Динамическое наблюдение осуществляли в течение 5 лет после хирургического лечения. Конечной точкой исследования являлось развитие отдаленного гематогенного метастатического прогрессирования, подтвержденного лучевыми методами исследования; локорегионарные рецидивы в анализ не включали. Безметастатическую выживаемость определяли как интервал от даты операции до выявления отдаленных метастазов либо окончания периода наблюдения.

Статистический анализ. Статистическую обработку данных выполняли с использованием программ Statistica 10.0 и GraphPad Prism 10. Нормальность распределения оценивали по критерию Колмогорова–Смирнова; при отсутствии нормального

распределения применяли непараметрические методы. Количественные данные представляли в виде медианы (Me) и межквартильного размаха (Q1–Q3), категориальные – в виде абсолютных и относительных частот. Для сравнительного анализа использовали U-критерий Манна–Уитни, критерий Краскела–Уоллиса и χ^2 -критерий Пирсона. Безметастатическую выживаемость оценивали методом Каплана–Майера. Прогностическую значимость показателей определяли с помощью ROC-анализа, факторы риска отдаленного прогрессирования – методом бинарной логистической регрессии с расчетом отношений шансов (OR) и 95 % доверительных интервалов. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинико-морфологическая характеристика пациенток и опухолей

В исследуемой когорте пациенток с люминальным HER2-негативным раком молочной железы ($n = 80$) в течение пятилетнего наблюдения отдаленные гематогенные метастазы зарегистрированы у 14 пациенток (17,5 %), сформировавших группу прогрессирования. У 66 пациенток (82,5 %) признаков метастатического прогрессирования не выявлено.

Сформированные группы были сопоставимы по ключевым клиническим характеристикам, что позволяет рассматривать выявленные различия как отражение биологических особенностей опухоли, а не исходной распространенности процесса.

Распределение по стадии (TNM, 8-е издание) статистически значимо не различалось ($p = 0,96$). В обеих группах преобладали I и IIА стадии. В группе с прогрессированием I стадия отмечена у 50,0 %, IIА – у 36,0 %, IIВ – у 14,0 %; в группе без прогрессирования – у 49,0 %, 39,0 % и 12,0 % соответственно. Таким образом, развитие отдаленных метастазов не было связано с исходной клинической стадией.

При анализе степени гистологической злокачественности выявлена тенденция к различиям ($p = 0,05$). В группе с прогрессированием чаще регистрировались опухоли II–III степени: G1 – 43,0 %, G2 – 50,0 %, G3 – 7,0 %. В группе без прогрессирования преобладали опухоли низкой степени злокачественности: G1 – 64,0 %, G2 – 36,0 %, G3 отсутствовали. Это указывает на ассоциацию более высокой степени анаплазии с риском системного прогрессирования даже при гормонозависимом варианте рака.

Наиболее выраженные различия выявлены при анализе молекулярного подтипа. В группе с прогрессированием люминальный В HER2-негативный подтип составил 50,0 %, тогда как в группе без прогрессирования – 11,0 %. Напротив, люминальный А подтип чаще встречался при отсутствии прогрессирования (89,0 % против 50,0 %; $p = 0,0004$).

С учетом того, что люминальный В HER2-негативный подтип характеризуется повышенной пролиферативной активностью, дополнительно оценен индекс Ki-67. Опухоли, ассоциированные с развитием отдаленных метастазов, демонстрировали более высокий уровень пролиферации.

Анализ экспрессии ROR1, BMI-1, Cyclin D1 и мутационного статуса гена *PIK3CA* в сопоставлении с клинико-морфологическими характеристиками люминального рака молочной железы

Экспрессия ROR1 выявлена у 46 из 80 пациенток (57,5 %), отсутствие экспрессии – у 34 (42,5 %). Экспрессия BMI-1 определялась у 66 из 80 пациенток (82,5 %) и носила преимущественно ядерный характер. Гиперэкспрессия Cyclin D1 зарегистрирована у 30 из 80

пациенток (37,5 %). Примеры позитивного иммуногистохимического окрашивания ROR1 и BMI-1 представлены на рисунке 2.

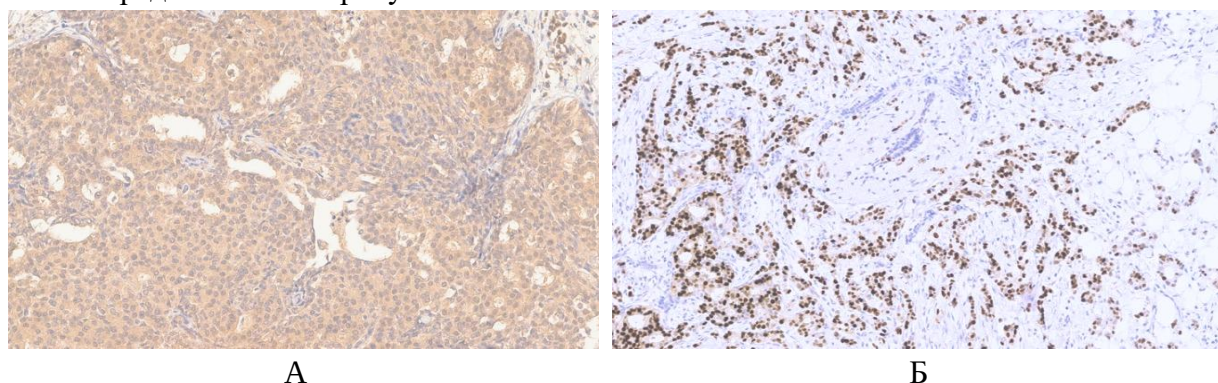


Рисунок 2 – Иммуногистохимическая экспрессия BMI-1 и ROR1 в ткани инвазивной карциномы молочной железы неспецифического типа. А – выраженная мембранно-цитоплазматическая экспрессия ROR1 в опухолевых клетках (×200). Б – выраженная ядерная экспрессия BMI-1 в опухолевых клетках при отсутствии окрашивания в неизмененном эпителии протоков (×100).

В исследуемой когорте пациенток с люминальным HER2-негативным раком молочной железы мутации гена *PIK3CA* были выявлены у 24 из 80 пациенток, что составило 30,0 %. Наличие мутаций *PIK3CA* регистрировалось как в группе с прогрессированием заболевания, так и в группе без признаков отдаленного метастатического прогрессирования. В дополнение к бинарной оценке мутационного статуса гена *PIK3CA* был проанализирован спектр выявленных мутационных вариантов. Установлено, что в исследуемой когорте преобладали hotspot-мутации E545X и H1047X, локализованные в экзонах 10 и 21 соответственно; реже выявлялись варианты N345K и Q546X, единично – мутация E542K (рисунок 3). Полученные данные отражают доминирование типичных активирующих изменений *PIK3CA*, характерных для люминального рака молочной железы, и служат основой для последующей интерпретации роли PI3K/АКТ-сигнального пути в регуляции экспрессии исследуемых молекулярных маркеров.

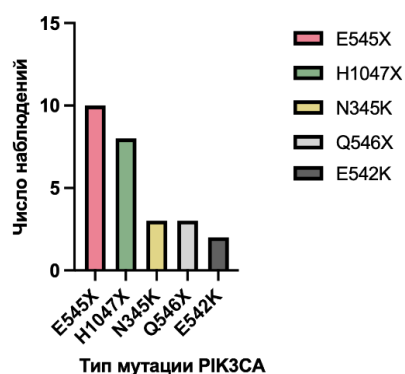


Рисунок 3 – Спектр выявленных hotspot-мутаций гена *PIK3CA* в исследуемой когорте пациенток с люминальным HER2-негативным раком молочной железы

Метастатическое поражение регионарных лимфатических узлов является одним из ключевых прогностических факторов при раке молочной железы. Однако экспрессия ROR1, BMI-1 и Cyclin D1 не продемонстрировала статистически значимой ассоциации с N-статусом (соответственно: $\chi^2 = 1,89$; $p = 0,16$; $\chi^2 = 1,07$; $p = 0,29$; $\chi^2 = 0,14$; $p = 0,71$). Частота выявления

мутаций гена *PIK3CA* также не зависела от наличия метастазов в регионарных лимфатических узлах ($\chi^2 = 0,09$; $p = 0,75$).

Аналогично, не выявлено статистически значимых взаимосвязей между экспрессией ROR1, BMI-1, Cyclin D1, мутационным статусом *PIK3CA* и стадией заболевания, степенью гистологической злокачественности или гистологическим подтипом опухоли (для *PIK3CA*: стадия – $\chi^2 = 0,02$; $p = 0,98$; степень злокачественности – $\chi^2 = 2,36$; $p = 0,30$).

Таким образом, экспрессия ROR1, BMI-1, Cyclin D1 и мутационный статус *PIK3CA* не ассоциированы с основными клинико-морфологическими характеристиками люминального HER2-негативного рака молочной железы, что свидетельствует об их независимости от анатомической распространенности опухолевого процесса и морфологических особенностей новообразования.

Экспрессия ROR1, BMI-1, Cyclin D1 и мутационный статус гена *PIK3CA* в зависимости от молекулярного подтипа люминального HER2-негативного рака молочной железы (люминальный А и люминальный В)

Наиболее выраженные различия между молекулярными подтипами были выявлены при анализе экспрессии ROR1. В группе пациенток с люминальным В HER2-негативным подтипом опухоли гиперэкспрессия ROR1 выявлялась во всех случаях, тогда как при люминальном А подтипе данный маркер экспрессировался значительно реже. Выявленные различия носили выраженный статистически значимый характер, что указывает на тесную связь экспрессии ROR1 с более агрессивным люминальным В подтипом (таблица 1).

Таблица 1 – Распределение больных люминальным раком молочной железы в зависимости от экспрессии ROR1 и молекулярного подтипа опухоли

Экспрессия ROR1	Молекулярный подтип опухоли абс. (%)	
	Люминальный А n = 66	Люминальный В Her2- n = 14
Нет экспрессии	34 (52 %)	0 (0 %)
Есть экспрессия	32 (48 %)	14 (100 %)
	$\chi^2 = 12,54$; $p = 0,0004$	

Полученные данные позволяют рассматривать ROR1 как маркер, ассоциированный с биологическими особенностями люминального В HER2-негативного рака молочной железы, включая повышенную пролиферативную активность и потенциальную склонность к формированию эндокринорезистентного фенотипа.

При анализе экспрессии BMI-1 также отмечалась тенденция к более частому выявлению данного маркера при люминальном В HER2-негативном подтипе. Экспрессия BMI-1 определялась у всех пациенток с люминальным В HER2-негативным раком молочной железы, тогда как при люминальном А подтипе данный показатель составил 79 %. Несмотря на отсутствие строгой статистической значимости ($\chi^2 = 3,56$; $p = 0,057$), выявленная тенденция может свидетельствовать о связи BMI-1 с более агрессивным биологическим фенотипом опухоли.

При анализе количественных уровней экспрессии молекулярных маркеров в зависимости от молекулярного подтипа опухоли выявлены статистически значимые различия между люминальным А и люминальным В HER2-негативным раком молочной железы. Опухоли люминального В HER2-негативного подтипа характеризовались более

высокими значениями экспрессии ROR1 по сравнению с люминальным А подтипом (рисунок 4А). Медиана экспрессии ROR1 составила 25,0 % (Q1–Q3: 16,25–38,25) в группе люминального В и 5,0% (Q1–Q3: 0,0–12,0) в группе люминального А; различия были статистически значимыми ($U = 130,5$; $p < 0,0001$). Аналогичная закономерность выявлена при анализе экспрессии BMI-1. В опухолях люминального В HER2-негативного подтипа (рисунок 4В). медиана экспрессии BMI-1 составила 68,5 % (Q1–Q3: 26,25–89,5), тогда как в группе люминального А – 13,5 % (Q1–Q3: 2,0–20,75). Различия между подтипами также носили статистически значимый характер ($U = 140,0$; $p < 0,0001$).

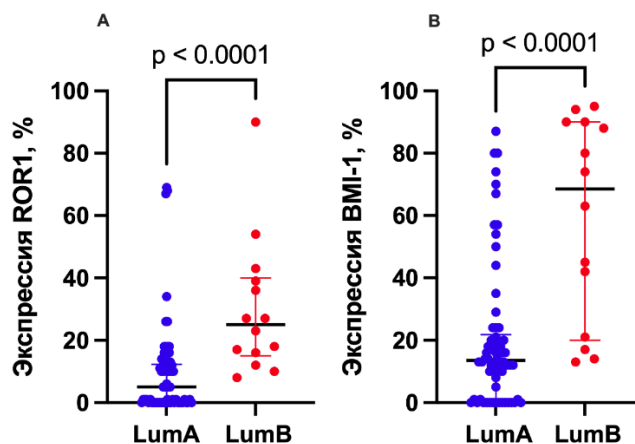


Рисунок 4 – Распределение экспрессии ROR1 (А) и BMI-1 (В) в опухолях люминального А и люминального В HER2-негативного подтипов рака молочной железы

Полученные результаты свидетельствуют о более выраженной активации сигнальных и эпигенетических регуляторов при люминальном В подтипе.

Гиперэкспрессия Cyclin D1 также чаще выявлялась при люминальном В HER2-негативном раке (таблица 2), что согласуется с его более высокой пролиферативной активностью.

Таблица 2 – Распределение пациенток люминальным раком молочной железы в зависимости от гиперэкспрессии Cyclin D1 и молекулярного подтипа опухоли

Гиперэкспрессия Cyclin D1	Молекулярный подтип опухоли абс. (%)	
	Люминальный А n = 66	Люминальный В Her2- n = 14
Нет гиперэкспрессии	46 (70 %)	4 (29 %)
Есть гиперэкспрессия	20 (30 %)	10 (71 %)
	$\chi^2 = 8,33$; $p = 0,0038$	

Связь гиперэкспрессии Cyclin D1 с люминальным В подтипом подчеркивает роль нарушений регуляции клеточного цикла в формировании биологической агрессивности опухолей данной группы и подтверждает значимость данного маркера в контексте молекулярной стратификации люминального рака молочной железы.

Анализ мутационного статуса гена *PIK3CA* не выявил статистически значимых различий между подтипами ($\chi^2 = 3,23$; $p = 0,07$).

Таким образом, экспрессия ROR1 и Cyclin D1 достоверно ассоциирована с люминальным В HER2-негативным подтипом, характеризующимся большей биологической

агрессивностью. Экспрессия BMI-1 демонстрирует тенденцию к увеличению при люминальном В варианте, тогда как мутационный статус *PIK3CA* от молекулярного подтипа не зависит.

Ассоциации экспрессии ROR1, BMI-1, Cyclin D1 и мутационного статуса гена *PIK3CA* в опухолевой ткани при люминальном HER2-негативном раке молочной железы

Проведен анализ взаимосвязей между экспрессией ROR1, BMI-1 и Cyclin D1, а также мутационным статусом гена *PIK3CA* с целью выявления кооперативных молекулярных механизмов, определяющих биологические особенности люминального рака молочной железы.

Оценена связь ROR1 и Cyclin D1. В опухолях с экспрессией ROR1 гиперэкспрессия Cyclin D1 выявлялась достоверно чаще, чем при ее отсутствии ($\chi^2 = 13,1$; $p = 0,0003$) (таблица 3). Доля случаев с гиперэкспрессией Cyclin D1 в группе ROR1-позитивных опухолей более чем втрое превышала аналогичный показатель в ROR1-негативной группе, что свидетельствует о функциональной сопряженности данных маркеров.

Таблица 3 – Взаимосвязь экспрессии ROR1 и гиперэкспрессии Cyclin D1 при люминальном раке молочной железы

Гиперэкспрессия циклина D1	Экспрессия ROR1 абс. (%)	
	Нет n = 34	Есть n = 46
Нет гиперэкспрессии	29 (85 %)	21 (46 %)
Есть гиперэкспрессия	5 (15 %)	25 (54 %)
	$\chi^2 = 13,1$; $p = 0,0003$	

Дополнительный анализ показал, что с увеличением уровня экспрессии ROR1 возрастает частота гиперэкспрессии Cyclin D1 ($\chi^2 = 17,85$; $p = 0,0001$) (таблица 4), что указывает на возможное участие ROR1 в регуляции пролиферации.

Таблица 4 – Распределение гиперэкспрессии Cyclin D1 в зависимости от уровня экспрессии ROR1 при люминальном раке молочной железы

Гиперэкспрессия Cyclin D1	Уровни экспрессии ROR1 абс. (%)		
	До 25 % n = 68	25-50 % n = 8	Более 50 % n = 4
Нет гиперэкспрессии	49 (72 %)	1 (13 %)	0 (0 %)
Есть гиперэкспрессия	19 (28 %)	7 (87 %)	4 (100 %)
	$\chi^2 = 17,85$; $p = 0,0001$		

Полученные данные позволяют предположить, что активация ROR1 может быть вовлечена в стимуляцию пролиферативных процессов в опухолевых клетках, опосредованных, по крайней мере, частично, через усиление экспрессии Cyclin D1 – ключевого регулятора перехода клеточного цикла из фазы G1 в S.

Анализ связи ROR1 и BMI-1 также выявил статистически значимую ассоциацию ($\chi^2 = 5,81$; $p = 0,02$) (таблица 5): позитивная экспрессия BMI-1 чаще регистрировалась в ROR1-позитивных опухолях.

Таблица 5 – Взаимосвязь экспрессии ROR1 и экспрессии BMI-1 при люминальном раке молочной железы

Экспрессия BMI-1	Экспрессия ROR1 абс. (%)	
	Нет n = 34	Есть n = 46
Нет	10 (29 %)	4 (9 %)
Есть	24 (71 %)	42 (91 %)
$\chi^2 = 5,81; p = 0,02$		

При этом зависимость уровней экспрессии BMI-1 от степени экспрессии ROR1 статистически значимой не была ($\chi^2 = 2,0; p = 0,37$), что указывает на бинарный характер ассоциации. Выявлена также связь между BMI-1 и Cyclin D1 ($\chi^2 = 7,33; p = 0,02$): гиперэкспрессия Cyclin D1 чаще встречалась при высоких уровнях BMI-1 (таблица 6).

Таблица 6 – Распределение пациенток с люминальным раком молочной железы в зависимости от гиперэкспрессии Cyclin D1 и уровней экспрессии BMI-1 в первичной опухоли

Гиперэкспрессия Cyclin D1	Уровни экспрессии BMI-1 абс. (%)		
	До 25 % n = 57	25-50 % n = 6	Более 50 % n = 17
Нет гиперэкспрессии	39 (68 %)	5 (83 %)	6 (35 %)
Есть гиперэкспрессия	18 (32 %)	1 (17 %)	11 (65 %)
$\chi^2 = 7,33; p = 0,02$			

Данная взаимосвязь подтверждает концепцию о том, что BMI-1 может способствовать усилению пролиферативной активности опухолевых клеток не только за счет подавления дифференцировки и апоптоза, но и посредством опосредованного влияния на регуляторы клеточного цикла, включая Cyclin D1.

Особое внимание было уделено анализу взаимосвязи мутационного статуса гена *PIK3CA* с экспрессией Cyclin D1. Как показано в таблице 7, гиперэкспрессия Cyclin D1 достоверно чаще выявлялась в опухолях с наличием мутации *PIK3CA* по сравнению с опухолями с диким типом данного гена ($\chi^2 = 9,14; p = 0,002$).

Таблица 7 – Распределение пациенток с люминальным раком молочной железы в зависимости от мутационного статуса гена *PIK3CA* и гиперэкспрессии Cyclin D1

Мутация гена <i>PIK3CA</i>	Гиперэкспрессия Cyclin D1 в опухоли абс. (%)	
	Нет n = 50	Есть n = 30
Нет мутации	41 (82 %)	15 (50 %)
Есть мутация	9 (18 %)	15 (50 %)
$\chi^2 = 9,14; p = 0,002$		

При количественной оценке медиана Cyclin D1 при мутации *PIK3CA* составила 27,5 % (9,0-40,0) против 13,0 % (6,0-28,0) при диком типе ($U = 473,5; p = 0,0365$) (рисунок 5).

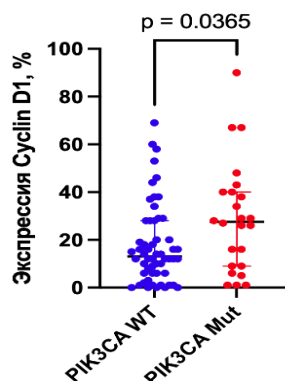


Рисунок 5 – Экспрессия Cyclin D1 в опухолях люминального HER2-негативного рака молочной железы в зависимости от мутационного статуса гена *PIK3CA*

Примечание: *PIK3CA*WT – опухоли с диким типом гена; *PIK3CA*mut – опухоли с наличием мутации гена.

С учетом известной роли PI3K/AKT-сигнального каскада в стимуляции клеточной пролиферации и выживании опухолевых клеток, выявленная ассоциация с Cyclin D1 подтверждает биологическую обоснованность данного взаимодействия и подчеркивает значение мутаций гена *PIK3CA* в формировании пролиферативного потенциала люминального рака молочной железы.

В то же время прямой статистически значимой взаимосвязи между мутационным статусом гена *PIK3CA* и экспрессией ROR1 или BMI-1 выявлено не было. При анализе количественных уровней экспрессии ROR1 в зависимости от мутационного статуса гена *PIK3CA* статистически значимых различий выявлено не было. Медиана экспрессии ROR1 составила 10,0 % (Q1-Q3: 0,0-16,0) в опухолях с диким типом гена *PIK3CA* и 10,0 % (Q1-Q3: 1,0-26,25) в опухолях с мутацией *PIK3CA* (критерий Манна–Уитни, $U = 609,0$; $p = 0,51$). Аналогично, при сравнении уровня экспрессии BMI-1 между группами с наличием и отсутствием мутации *PIK3CA* статистически значимых различий также не выявлено. Медиана экспрессии BMI-1 составила 16,0 % (Q1-Q3: 9,5-30,5) при диком типе гена и 15,5 % (Q1-Q3: 10,75-65,75) при наличии мутации *PIK3CA* ($U = 608,5$; $p = 0,51$).

Ассоциация клиничко-морфологических и молекулярных характеристик опухоли с развитием отдаленного гематогенного метастазирования при люминальном раке молочной железы

На следующем этапе проведена оценка связи клиничко-морфологических и молекулярных параметров с развитием прогрессирования, под которым понимали возникновение отдаленных гематогенных метастазов, подтвержденных инструментально в период наблюдения. Прогрессирование зарегистрировано у 14 из 80 пациенток (17,5 %), у 66 (82,5 %) в течение пятилетнего наблюдения признаков прогрессирования не выявлено.

Традиционные клиничко-морфологические параметры – стадия заболевания, T- и N-категории, а также гистологический подтип (инфильтрирующий протоковый и дольковый рак) – статистически значимой связи с развитием прогрессирования не продемонстрировали ($p > 0,05$). При анализе степени гистологической злокачественности отмечена тенденция к более частому прогрессированию при более высокой степени опухоли; однако с учетом малого числа случаев G3 результат требует осторожной интерпретации.

В отличие от указанных параметров, молекулярный подтип оказался статистически значимо связан с прогрессированием. В группе без прогрессирования преобладал

люминальный А подтип (89,4 %), тогда как при прогрессировании доля люминального В HER2-негативного варианта достигала 50,0 % ($p = 0,002$).

При количественной оценке экспрессии молекулярных маркеров выявлены достоверные различия между пациентками с наличием и отсутствием прогрессирования (таблица 8).

Таблица 8 – Количественные уровни экспрессии молекулярных маркеров в зависимости от прогрессирования заболевания

Показатель	Без прогрессии (n=66) Me (Q1–Q3)	Прогрессия (n=14) Me (Q1–Q3)	U	p
ROR1, %	5,5 (0,0-13,75)	17,0 (10,25-27,0)	268,5	0,0122
BMI-1, %	13,5 (2,0-20,75)	72,0 (53,25-85,25)	133,5	<0,0001
Cyclin D1, %	15,5 (6,0-29,0)	17,5 (12,0-39,5)	394,0	0,392
Ki-67, %	14,0 (10,0-18,0)	19,0 (15,5-23,25)	242,5	0,005

Опухоли с развитием прогрессирования характеризовались более высокими уровнями экспрессии ROR1, BMI-1 и повышенным индексом Ki-67. Наиболее выраженные различия были выявлены для маркера BMI-1, что указывает на его потенциальную роль в формировании агрессивного биологического фенотипа опухоли. В то же время, статистически значимых различий в уровнях экспрессии Cyclin D1 между группами с наличием и отсутствием прогрессирования выявлено не было ($p = 0,392$), что свидетельствует о более сложном, опосредованном характере его участия в механизмах опухолевой прогрессии.

Наглядное сравнение распределения уровней экспрессии BMI-1 и ROR1 в зависимости от наличия прогрессирования заболевания представлено на рисунке 6, где отчетливо визуализируется смещение значений в сторону более высоких показателей у пациенток с зарегистрированным прогрессированием.

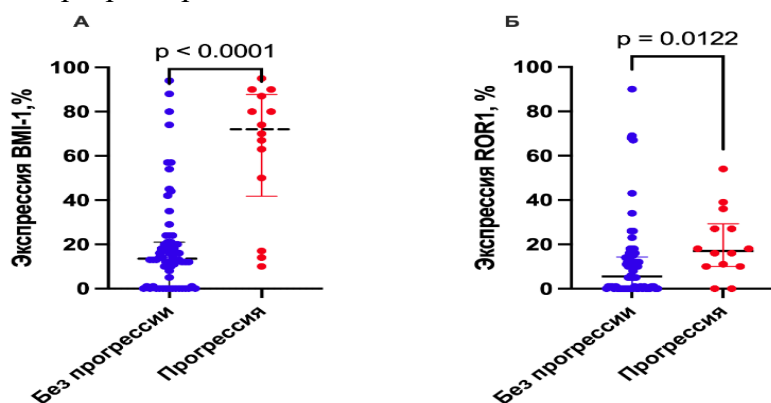


Рисунок 6 – Распределение уровней экспрессии молекулярных маркеров в первичной опухоли у пациенток с люминальным раком молочной железы в зависимости от наличия прогрессирования заболевания: А – BMI-1, Б – ROR1

Прогнозирование вероятности развития отдаленных метастазов у пациенток с люминальным раком молочной железы

На основании бинарного логистического регрессионного анализа разработана прогностическая модель риска развития отдаленных метастазов у пациенток с люминальным

HER2-негативным раком молочной железы. В модель были включены уровень экспрессии BMI-1 и молекулярный подтип опухоли (люминальный А / люминальный В HER2-негативный).

Установлено, что повышение экспрессии BMI-1 ассоциировано с достоверным увеличением риска развития отдаленных метастазов (AOR = 1,05; 95 % ДИ 1,02-1,08; $p < 0,001$). Для люминального В HER2-негативного подтипа отмечалась тенденция к повышению риска прогрессирования по сравнению с люминальным А подтипом, однако статистическая значимость в многофакторной модели не достигалась ($p = 0,416$).

Разработанная модель продемонстрировала высокую прогностическую эффективность. По данным ROC-анализа площадь под ROC-кривой составила AUC = 0,869 (95 % ДИ 0,752-0,985; $p < 0,0001$). При оптимальном пороговом значении чувствительность модели составила 85,7 %, специфичность – 81,8 %, что свидетельствует о высокой способности модели к стратификации риска прогрессирования заболевания. Разработанная прогностическая модель включена в практические рекомендации диссертационной работы.

Анализ показателей безметастатической выживаемости пациентов с люминальным HER2-негативным раком молочной железы с учетом молекулярных характеристик опухоли

При анализе безметастатической выживаемости в зависимости от уровня экспрессии Cyclin D1 статистически значимых различий между группами не выявлено (log-rank test, $p = 0,653$). В отличие от Cyclin D1, экспрессия ROR1 и BMI-1 была статистически значимо ассоциирована с безметастатической выживаемостью. Повышенная экспрессия обоих маркеров сопровождалась более высоким риском отдаленного метастатического прогрессирования и неблагоприятным прогнозом.

Для ROR1 различия между группами были статистически значимыми ($\chi^2 = 7,26$; $p = 0,026$), при этом кривые Каплана–Мейера демонстрировали устойчивое расхождение на протяжении всего периода наблюдения.

Наиболее выраженные различия выявлены для BMI-1 ($\chi^2 = 24,89$; $p < 0,0001$). Повышенная экспрессия BMI-1 ассоциировалась с наиболее высоким риском прогрессирования, а кривые Каплана–Мейера характеризовались ранним и стойким расхождением в течение всего периода наблюдения (рисунок 7).

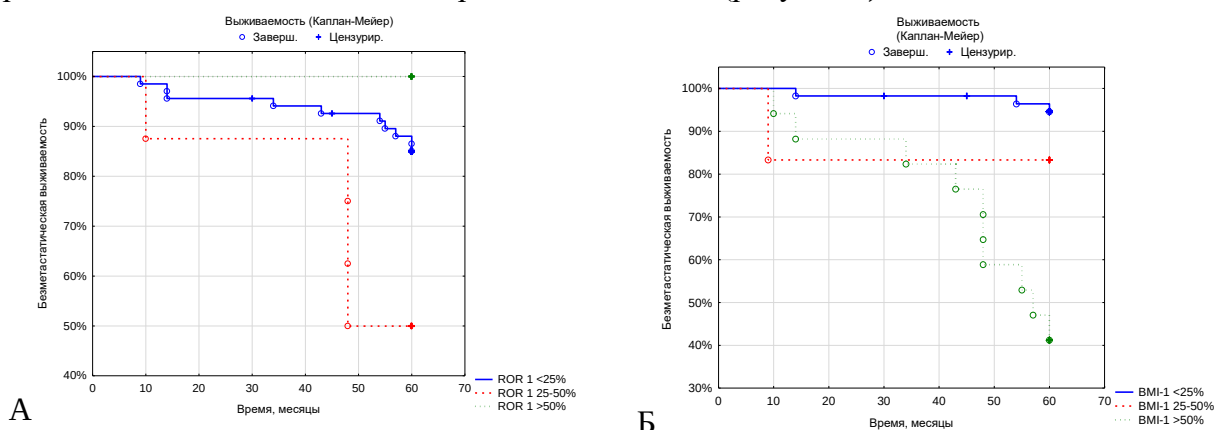


Рисунок 7 – Безметастатическая выживаемость пациентов с люминальным HER2-негативным раком молочной железы в зависимости от уровня экспрессии ROR1 (А) и BMI-1 (Б)

Анализ безметастатической выживаемости с учетом мутационного статуса гена PIK3CA выявил статистически значимую ассоциацию между наличием мутации и риском

прогрессирования заболевания ($p = 0,036$). Пациенты с опухолями, несущими мутацию *PIK3CA*, характеризовались менее благоприятными показателями выживаемости по сравнению с пациентами с диким типом гена.

Полученные данные свидетельствуют о вовлеченности PI3K/АКТ-сигнального пути в формирование неблагоприятного клинического течения люминального HER2-негативного рака молочной железы (рисунок 8).

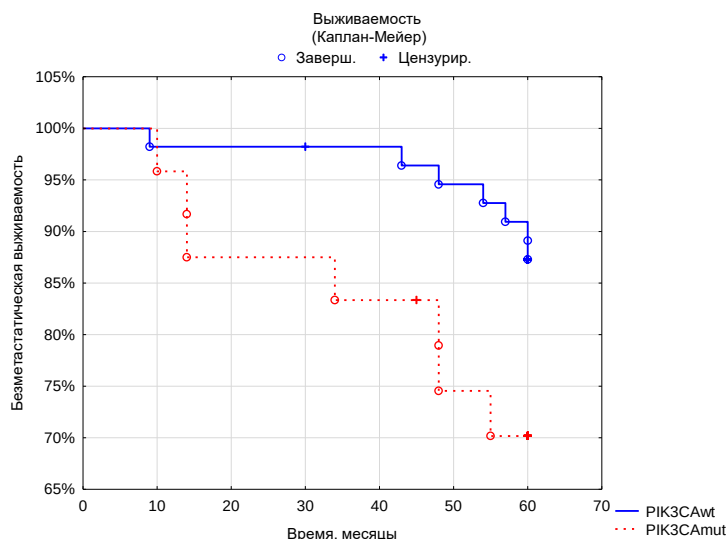


Рисунок 8 – Безметастатическая выживаемость пациентов с люминальным HER2-негативным раком молочной железы в зависимости от мутационного статуса гена *PIK3CA*

Таким образом, повышенная экспрессия ROR1 и особенно BMI-1, а также мутационный статус гена *PIK3CA* ассоциированы с повышенным риском отдаленного метастатического прогрессирования и снижением безметастатической выживаемости у пациенток с люминальным HER2-негативным раком молочной железы. В отличие от них, экспрессия Cyclin D1 прогностического значения не имела. Полученные данные свидетельствуют о высокой прогностической ценности исследованных молекулярных маркеров и возможности их использования для стратификации риска пациенток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование посвящено уточнению молекулярных детерминант прогрессирования люминального HER2-негативного рака молочной железы и поиску маркеров, позволяющих улучшить стратификацию риска гематогенного метастазирования у пациенток, получающих стандартную адъювантную эндокринотерапию. При 5-летнем наблюдении гематогенное метастазирование зарегистрировано у 17,5 % пациенток, что подтверждает клиническую значимость проблемы даже при данном молекулярном подтипе опухоли.

Установлено, что в исследуемой когорте традиционные клиничко-морфологические характеристики (размер первичной опухоли, статус регионарных лимфатических узлов, стадия по TNM и гистологический вариант) не были связаны с развитием гематогенного метастазирования. Это свидетельствует об ограниченной прогностической ценности стандартных клиничко-морфологических критериев и необходимости учета молекулярных особенностей опухоли.

Показано высокое прогностическое значение молекулярной стратификации внутри люминального HER2-негативного рака молочной железы. Неблагоприятное течение

заболевания преимущественно ассоциировалось с люминальным В HER2-негативным подтипом, что подтверждает значение повышенной пролиферативной активности как одного из ключевых факторов неблагоприятного прогноза.

Впервые на клиническом материале люминального HER2-негативного рака молочной железы показана прогностическая значимость экспрессии ROR1. Повышенная экспрессия ROR1 ассоциировалась с люминальным В HER2-негативным подтипом, высокой пролиферативной активностью и снижением безметастатической выживаемости. Кроме того, выявлена ассоциация экспрессии ROR1 с гиперэкспрессией Cyclin D1, что указывает на возможную взаимосвязь ROR1-зависимых сигнальных механизмов с регуляцией клеточного цикла.

Наиболее значимым молекулярным предиктором гематогенного метастазирования оказался BMI-1. Высокая экспрессия BMI-1 была наиболее тесно связана с развитием гематогенного метастазирования, снижением безметастатической выживаемости и сохраняла независимое прогностическое значение в многофакторном анализе, что позволяет рассматривать BMI-1 как перспективный маркер индивидуализации прогноза.

Гиперэкспрессия Cyclin D1 чаще выявлялась при люминальном В HER2-негативном подтипе и отражала высокую пролиферативную активность опухоли, однако самостоятельного прогностического значения в отношении гематогенного метастазирования не имела.

Анализ мутационного статуса гена *PIK3CA* показал отсутствие связи с основными клинико-морфологическими характеристиками опухоли, однако выявил ассоциацию с гиперэкспрессией и более высокими уровнями Cyclin D1, что свидетельствует об участии PI3K/АКТ-зависимых механизмов в формировании пролиферативного фенотипа опухоли.

Выявлены статистически значимые взаимосвязи между экспрессией ROR1, BMI-1 и Cyclin D1, позволяющие рассматривать ось ROR1–BMI-1–Cyclin D1 как один из возможных механизмов, объединяющих сигнальную активацию, эпигенетическое перепрограммирование и регуляцию клеточного цикла. Полученные данные свидетельствуют о комплексном характере молекулярных механизмов гематогенного метастазирования при люминальном HER2-негативном раке молочной железы.

Практическая значимость работы заключается в обосновании расширенной молекулярной стратификации пациенток с использованием оценки экспрессии ROR1, BMI-1 и мутационного статуса *PIK3CA* наряду с традиционными клинико-морфологическими показателями. Такой подход позволяет более точно прогнозировать риск гематогенного метастазирования, выделять пациенток группы высокого риска и совершенствовать персонализированный подход к адъювантной терапии.

Таким образом, результаты исследования подтверждают, что клиническое течение люминального HER2-негативного рака молочной железы определяется преимущественно особенностями молекулярно-биологической организации опухоли. Интеграция оценки ROR1, BMI-1 и мутационного статуса *PIK3CA* расширяет возможности прогнозирования риска гематогенного метастазирования и создает предпосылки для дальнейшего совершенствования персонализированных подходов к стратификации риска и выбору адъювантной терапии.

ВЫВОДЫ

1. В исследуемой когорте больных первично-операбельным люминальным HER2-негативным раком молочной железы I–II стадий, получавших адъювантную гормонотерапию ингибиторами ароматазы, развитие отдаленного гематогенного метастазирования не связано с клинической стадией заболевания ($p = 0,96$), статусом регионарных лимфатических узлов ($p > 0,05$) и гистологическим типом опухоли ($\chi^2 = 0,34$; $p = 0,56$).
2. Уровни экспрессии регуляторного белка ROR1 в первичной опухоли выше у пациенток с развитием отдаленного гематогенного метастазирования на фоне гормонотерапии ингибиторами ароматазы по сравнению с пациентками без признаков метастатического прогрессирования (Me 17,0 % против 5,5 %; $U = 268,5$; $p = 0,0122$).
3. У пациенток с первично-операбельным люминальным HER2-негативным раком молочной железы I–II стадий, получавших адъювантную гормонотерапию ингибиторами ароматазы, развитие отдаленного гематогенного метастазирования сопровождается существенно более высокими уровнями экспрессии регуляторного белка BMI-1 в первичной опухоли по сравнению с пациентками без признаков метастатического прогрессирования (Me 72,0 % против 13,5%; $U = 133,5$; $p < 0,0001$).
4. Совместная экспрессия ROR1 и BMI-1 чаще выявляется в опухолях с неблагоприятным клиническим течением; экспрессия BMI-1 чаще определяется в ROR1-позитивных опухолях по сравнению с ROR1-негативными ($\chi^2 = 5,81$; $p = 0,02$).
5. Повышенная экспрессия ROR1 и BMI-1 в опухолевой ткани ассоциирована с гиперэкспрессией Cyclin D1 (ROR1: $\chi^2 = 13,1$; $p = 0,0003$; BMI-1: $\chi^2 = 7,33$; $p = 0,02$), что указывает на связь экспрессии данных регуляторных белков с нарушением регуляции клеточного цикла опухолевых клеток.
6. Повышенная экспрессия ROR1 и, в наибольшей степени, BMI-1 ассоциирована с ухудшением показателей безметастатической выживаемости у больных люминальным HER2-негативным раком молочной железы, получавших гормонотерапию ингибиторами ароматазы (ROR1: $\chi^2 = 7,26$; $p = 0,026$; BMI-1: $\chi^2 = 24,89$; $p < 0,0001$). Наличие мутации гена *PIK3CA* также ассоциировано с ухудшением безметастатической выживаемости ($p = 0,036$) и не связано с уровнями экспрессии ROR1 и BMI-1 ($p > 0,05$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При патоморфологическом исследовании операционного материала у пациенток с первично-операбельным люминальным HER2-негативным раком молочной железы I–II стадий, получающих адъювантную гормонотерапию ингибиторами ароматазы, рекомендуется включать в патоморфологическое заключение информацию об уровне экспрессии регуляторного белка BMI-1 (в процентах положительных опухолевых клеток), а также указывать молекулярный подтип опухоли (люминальный А или люминальный В HER2-негативный) для расчета индивидуального риска развития гематогенного метастазирования.

2. Расчет вероятности развития гематогенных метастазов у пациенток с люминальным раком молочной железы рекомендуется проводить по следующей формуле логистической регрессии:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-z}}$$

$$z = -3,5796 + 0,0475 \times X_1 + 0,7005 \times X_2,$$

где: P – вероятность развития отдаленных метастазов; X_1 – уровень экспрессии BMI-1 в опухоли (%); X_2 – молекулярный подтип рака молочной железы (0 – люминальный А; 1 – люминальный В HER2-негативный).

Прогноз считается неблагоприятным при значении $P \geq 0,112$, что соответствует оптимальной пороговой точке (cut-off).

Пациентки с люминальным HER2-негативным раком молочной железы, у которых по результатам расчета по приведенной логистической модели определяется высокая вероятность развития гематогенных метастазов ($P \geq 0,112$), могут быть отнесены к группе повышенного риска неблагоприятного течения заболевания и требуют более тщательного динамического наблюдения в процессе адъювантной гормонотерапии ингибиторами ароматазы.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

BMI-1 – B lymphoma Mo-MLV insertion region 1 homolog (регуляторный белок семейства Polycomb)

HER2 – Human epidermal growth factor receptor 2 (рецептор эпидермального фактора роста человека 2)

HR – Hormone receptors (гормональные рецепторы)

Ki-67 – Ki-67 proliferation marker (маркер клеточной пролиферации)

PIK3CA – Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha (ген каталитической субъединицы PI3K)

PR – Progesterone receptor (рецептор прогестерона)

ER – Estrogen receptor (рецептор эстрогена)

ROR1 – Receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 1 (рецептор тирозинкиназоподобный орфанный рецептор 1)

AUC – Area under the curve (площадь под кривой)

FFPE – Formalin-fixed paraffin-embedded (ткани, фиксированные в формалине и залитые в парафин)

OR – Odds ratio (отношение шансов)

ROC – Receiver operating characteristic (ROC-кривая)

Q1–Q3 – межквартильный размах

Me – медиана

MFS metastasis-free survival – безметастатическая выживаемость

PMЖ – рак молочной железы

СПИСОК РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Вторушин, С. В. Влияние экспрессии белков ROR1, BMI-1 и мутации PIK3CA на прогноз люминального рака молочной железы [Текст] / С. В. Вторушин, В. О. Тараканова, Н. Н.

- Бабышкина, П. А. Гервас, Н. В. Крахмаль // Сибирский онкологический журнал. – 2025. – Т. 24, № 2. – С. 46–55.
2. Тараканова, В. О. Связь экспрессии BMI-1 и ROR1 с клинико-морфологическими параметрами и течением люминального рака молочной железы / **В. О. Тараканова**, Н. В. Крахмаль, Н. Н. Бабышкина, С. В. Вторушин [Текст] // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2024. – Т. 8, № 1. – С. 88–99.
 3. Tarakanova, V. O. ROR1 and BMI-1 proteins as potential predictors of the effectiveness of hormone therapy in luminal breast cancer [Текст] / **V. O. Tarakanova**, N. V. Krakhmal, S. V. Patalyak, M. N. Tarasov, N. N. Babyshkina, S. V. Vtorushin // Сибирский онкологический журнал. – 2022. – Т. 21, № 3. – С. 135–142.
 4. Vtorushin, S. Immunohistochemical analysis of ROR1 and BMI-1 expression in luminal breast cancer [Текст] / S. Vtorushin, **V. Tarakanova**, N. Krakhmal // ESMO Open. – 2023. – Vol. 8, № 1. – P. 101671.
 5. Vtorushin, S. V. Prognostic significance of ROR1, BMI-1 expression and *PIK3CA* mutation in luminal breast cancer: abstracts of the 37th European Congress of Pathology (Vienna, Austria, 6–10 September 2025) / S. V. Vtorushin, **V. O. Tarakanova**, N. N. Babyshkina, P. A. Gervas, N. V. Krakhmal // Virchows Archiv. – 2025. – Vol. 487, Suppl. 1. – P. S222.
 6. Тараканова, В. О. Прогностическое значение экспрессии белков ROR1 и BMI-1 при люминальных карциномах молочной железы [Текст] / **В. О. Тараканова**, К. С. Вторушин, Н. В. Крахмаль // Морфологические науки – фундаментальная основа медицины : материалы VIII Междунар. морфол. науч.-практ. конкурс-конф. студентов и молодых ученых, посвященной 100-летию со дня рождения проф. Н. В. Донских. – Новосибирск, 2023. – С. 399–402.
 7. Тараканова, В. О. Оценка экспрессии белков BMI-1 и ROR1 при люминальном раке молочной железы [Текст] / **В. О. Тараканова**, Н. В. Крахмаль // Морфологические науки – фундаментальная основа медицины : материалы VII Междунар. морфол. науч.-практ. конкурс-конф. студентов и молодых ученых, посвященной 125-летию со дня рождения проф. В. М. Константинова. – Новосибирск, 2022. – С. 308–310.
 8. Тараканова, В. О. Связь экспрессии ROR1 и BMI-1 с клинико-патологическими параметрами рака молочной железы [Текст] / **В. О. Тараканова**, Н. В. Крахмаль, С. В. Вторушин // Парадигмы лекарственной терапии у онкологических больных : материалы юбилейной научно-практической конференции. – Обнинск : МРНЦ им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2023. – С. 15–16.
 9. Тараканова, В. О. Анализ экспрессии белков ROR1 и BMI-1 в первичной опухоли у больных раком молочной железы [Текст] / **В. О. Тараканова**, Н. В. Крахмаль, С. В. Вторушин // Сборник материалов Первого молодежного международного онкологического форума «гОНКа». – Санкт-Петербург : РИЦ ПСПбГМУ, 2023. – С. 50.
 10. Тараканова, В. О. Иммуногистохимический анализ экспрессии регуляторных белков WNT-сигнального пути при люминальном раке молочной железы [Текст] / **В. О. Тараканова**, К. С. Вторушин, Н. В. Крахмаль // Молодые лидеры в медицинской науке : сборник материалов Всероссийской конференции с международным участием. – Томск, 2023. – С. 86–88.

Свидетельство о регистрации базы данных:

1. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022622954. Клинико-патологические и молекулярные характеристики люминального рака молочной железы для оценки прогноза заболевания : № 2022622878 ; заявл. 08.11.2022, опубл. 18.11.2022 / Д. В. Васильченко, С. В. Вторушин, Н. В. Крахмаль, Н. Н. Бабышкина, В. О. Тараканова // Заявитель и правообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук».