

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

DOI: 10.21294/1814-4861-2016-15-5-9-17

УДК: 618.19-006.6-08-037:615.28:577.21:577.112

ОЦЕНКА ПРЕДСКАЗАТЕЛЬНОЙ ЗНАЧИМОСТИ РЕЦЕПТОРА СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА VEGFR-2 У БОЛЬНЫХ ТРОЙНЫМ НЕГАТИВНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Н.Н. Бабышкина^{1,2}, М.В. Завьялова^{1,2,3}, О.Д. Брагина¹, Т.А. Дронова²,
Е.М. Слонимская^{1,3}, Н.В. Чердынцова^{1,2}

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, г. Томск¹

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск²

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск³
634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, e-mail: nbabyshkina@mail.ru¹

Аннотация

Введение. Поиск информативных молекулярно-генетических маркеров тройного негативного рака молочной железы, обладающих высокой предсказательной значимостью в отношении ответа опухоли на проводимую терапию, является актуальной научной задачей. **Целью исследования** явилось изучение взаимосвязи экспрессии рецепторов сосудистого эндотелиального фактора роста VEGFR-2 и полиморфных вариантов гена *KDR* с эффективностью неoadъювантной химиотерапии (НАХТ) у больных тройным негативным раком молочной железы. **Методы.** В исследование включено 70 больных операбельным тройным негативным раком молочной железы ($T_{1-3}N_{0-3}M_0$), получавших 2–4 курса НАХТ по схемам FAC и CAH. Оценка эффективности НАХТ осуществлялась по шкале RECIST. Уровень экспрессии VEGFR-2 оценивался иммуногистохимическим методом. Изучение полиморфных вариантов гена *KDR* (rs2071559, rs2305948) проведено с помощью ПЦР в режиме реального времени. **Результаты.** Показано, что достижение полных морфологических регрессий на фоне проведения НАХТ ассоциировано с возрастом до 50 лет ($p=0,0044$) и высоким уровнем экспрессии Ki67 (≥ 20) ($p=0,0322$). Отмечено, что у пациентов, получавших лечение по схеме CAH, эффективность НАХТ была значимо выше по сравнению с группой больных, получавших FAC режим ($p=0,0246$). Кроме того, все случаи полной морфологической регрессии были ассоциированы с отсутствием экспрессии VEGFR-2 в опухолевой ткани после оперативного лечения ($p=0,0000$). Наличие экспрессии VEGFR-2 (негативной или позитивной) в опухолевой ткани до лечения сопряжено с полиморфизмом гена *KDR* rs2071559 ($r=-0,297$; $p=0,0273$). Выявлена значимая корреляционная связь между *KDR* rs2071559 и уровнем экспрессии VEGFR-2 (менее 70, 70 % и более) в опухолевой ткани до лечения ($r=-0,314$; $p=0,0297$). Результаты многофакторного логистического регрессионного анализа свидетельствуют, что молодой возраст пациенток (≤ 50 лет), отсутствие экспрессии VEGFR-2 после операции и схема CAH являются статистически значимыми предикторами эффективности НАХТ. **Заключение.** Уровень экспрессии VEGFR-2 в опухолевой ткани и полиморфные варианты гена *KDR* могут рассматриваться в качестве новых дополнительных предсказательных молекулярных критериев у больных тройным негативным раком молочной железы при проведении НАХТ.

Ключевые слова: тройной негативный рак молочной железы, неoadъювантная химиотерапия, предсказательные маркеры, рецептор сосудистого эндотелиального фактора роста VEGFR-2, полиморфизм генов.

Тройной негативный рак молочной железы (РМЖ) составляет около 8–20 % всех опухолей молочной железы, характеризуется отсутствием экспрессии рецепторов эстрогенов, прогестерона и HER2/neu, наиболее агрессивным течением и неблагоприятным прогнозом среди всех подтипов рака молочной железы [1, 2]. Накопленные к настоящему моменту знания свидетельствуют

о гетерогенности тройного негативного рака молочной железы, имеющего различные морфологические и молекулярные особенности, а также ответ на системную химиотерапию [3]. Поиск информативных молекулярно-генетических характеристик данного подтипа рака молочной железы по-прежнему актуален, поскольку позволит сформировать оптимальные подходы не только к

прогнозированию течения этого заболевания, но и определению резистентности / чувствительности опухоли к проводимой терапии.

Рецепторы факторов роста и их лиганды являются в настоящее время перспективными молекулярными маркерами, исследование экспрессии которых дает возможность оценить активность процессов пролиферации, апоптоза и ангиогенеза в опухоли. Система сосудистых эндотелиальных факторов роста (VEGF) является основным регулятором образования новых сосудов в опухоли [4]. Данное семейство представлено несколькими секреторными гликопротеинами, в частности VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D и VEGF-E. Все представители семейства VEGF могут связываться со специфическими VEGF-тирозинкиназными рецепторами 1, 2 и 3-го типа (VEGFRs 1, 2, 3). Рецептор 2-го типа VEGFR-2 (или KDR – kinase insert domain receptor) является основным медиатором биологического действия VEGF-A. Связывание VEGF-A с экстраклеточным фрагментом VEGFR-2 рецептора приводит к его гомо- или гетеродимеризации, активации внутриклеточных сигнальных путей (PI3K/Akt, MAPK, eNOS, FAK), пролиферации и миграции эндотелиоцитов, экспрессии антиапоптотических белков, а также увеличению проницаемости микрососудов [5]. В настоящее время доказано, что уровень экспрессии VEGF-A и его рецептора VEGFR-2 связан с биологической агрессивностью рака молочной железы. Выявлена прямая корреляция между высоким уровнем VEGF-A (как в ткани молочной железы, так и в сыворотке крови) и негативным рецепторным статусом опухоли, лимфогенным метастазированием и низкими показателями общей выживаемости больных раком молочной железы [6, 7, 8]. Показано, что уровень VEGF-A в сыворотке крови может рассматриваться как прогностический фактор, ассоциированный с ответом на метрономную низкодозовую химиотерапию капецитабином в комбинации с циклофосфамидом у больных метастатическим раком молочной железы [9]. В недавнем исследовании Jansson et al. [10] установлено, что у пациентов с тройным отрицательным рецепторным фенотипом отмечается высокий уровень экспрессии с KIT, VEGFR-2 и PDGFRa в опухолевой ткани по сравнению с пациентами, имеющими другой молекулярный подтип. Выявлено, что высокий уровень экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального перехода (EMT) Twist1 и Vimentin сопряжен с высоким уровнем экспрессии VEGFR-2 в опухоли молочной железы, что свидетельствует о его возможной роли в процессах EMT [11].

Функциональные полиморфные сайты гена рецептора сосудистого эндотелиального фактора роста являются одним из факторов, определяющих индивидуальные особенности течения заболевания. Однонуклеотидная замена (SNP) -604T>C

в промоторном регионе гена *KDR* (rs2071559) ведет к структурной перестройке сайта связывания с фактором транскрипции E2F, вовлеченным в процессы регуляции клеточного цикла, что в конечном итоге приводит к снижению экспрессии белка VEGFR-2. Полиморфный локус 1192G/A в 7 экзоне (rs2305948), расположенный в экстраклеточной области гена *KDR*, также является функционально значимым, поскольку затрагивает лиганд-связывающий регион. Несинонимичная замена валина на изолейцин в 297 позиции приводит к снижению эффективности связывания VEGF-A с VEGFR-2, что определяет низкую активность каскада внутриклеточных реакций, обеспечивающих миграцию и пролиферацию эндотелиальных клеток. Вместе с тем перечисленные маркеры остаются недостаточно изученными в плане их предсказательной значимости. Кроме того, оценка влияния различных схем неoadъювантной химиотерапии на экспрессию ангиогенных факторов может стать основой для назначения более адекватной тактики лечения тройного негативного рака молочной железы.

Целью исследования явилось изучение взаимосвязи экспрессии рецепторов VEGFR-2 и полиморфных вариантов гена *KDR* с эффективностью неoadъювантной химиотерапии (НАХТ) у больных тройным негативным раком молочной железы.

Материал и методы

В исследование включено 70 больных операбельным тройным негативным раком молочной железы ($T_{1-3}N_{0-3}M_0$), получавших лечение на базе отделения общей онкологии Томского НИИ онкологии с 2007 по 2013 г. Возраст пациенток, вошедших в исследование, варьировал от 28 до 69 лет (средний возраст 48 ± 10 лет). У 39 (55,7 %) больных отмечалась сохранная менструальная функция, у 31 (45,3 %) – состояние менопаузы. Размер первичного опухолевого узла менее 50 мм отмечался у 64 (91,4 %) больных, у 6 (8,6 %) пациенток новообразования были 50 мм и более. У 49 (70 %) пациенток отсутствовало метастатическое поражение аксиллярных лимфатических узлов (N_0), у 21 (30 %) наблюдалось поражение от 1 до 10 лимфатических узлов (N_{1-3}). Распределение по стадиям РМЖ: I ($T_1N_0M_0$) стадия – 5 (7,1 %), IIА ($T_{1-2}N_{0-1}M_0$) и IIВ ($T_{2-3}N_{0-1}M_0$) стадия – 58 (82,9 %), III стадия ($T_{1-4}N_{0-3}M_0$) – 7 (10 %) больных. Инвазивная карцинома неспецифического типа выявлена у 53 (75,7 %) больных, в 5 (7,1 %) случаях диагностированы редкие формы РМЖ, представленные медулярным раком. Пациенток с базальноподобным подтипом 56 (80 %), с небазальноподобным – 8 (11,4 %).

На предоперационном этапе все пациентки получили 2–4 курса полихимиотерапии: 27 (38 %) больным проводилась терапия по схеме FAC (5-фторурацил 500 мг/м² в 1-й день, адриамицин

50 мг/м² в 1-й день, циклофосфамид 500 мг/м² в 1-й день, внутривенно; интервал между курсами – 21 день), 43 (62 %) – по схеме САХ (циклофосфан 100 мг/м² внутримышечно в течение 14 дней, адриамицин 30 мг/м² внутривенно в 1-й и 8-й дни, кселода 1000 мг/м² 2 раза в день, per os, в течение 14 дней; интервал между курсами – 21 день). Оперативный этап осуществлялся через 2–3 нед после завершения курсов НАХТ. Интраоперационная лучевая терапия в дозе 10 Гр проведена 42 (60 %) пациенткам во время выполнения органосохраняющего хирургического вмешательства. В адьювантном режиме все больные получили 2–4 курса химиотерапии по схеме FAC. Лучевая терапия проводилась по показаниям.

Оценка эффективности неoadьювантной химиотерапии осуществлялась по шкале RECIST (2000) по результатам клинического осмотра, УЗИ молочных желез и маммографии. При частичной регрессии (30 % и более) после 2 курсов НАХТ лечение продолжалось до 4 курсов, при эффективности менее 30 % – осуществляли хирургический этап лечения. Частота полных и частичных морфологических регрессий была одинакова и составила 38,6 %, стабилизация процесса наблюдалась в 17,1 %, прогрессирование – в 5,7 % случаев (табл. 1).

У всех пациенток, включенных в исследование, диагноз был верифицирован морфологически. Забор материала для морфологического исследования осуществлялся до начала лечения (биопсийный) и после выполнения оперативного лечения (операционный). Материал фиксировался в 10–12 % нейтральном формалине. Проводка осуществлялась по стандартной методике. Срезы окрашивались гематоксилином и эозином. Изучалась ткань первичной опухоли, все удаленные лимфатические узлы. Диагноз рака молочной железы устанавливался согласно «Гистологической классификации опухолей молочной железы» (ВОЗ, 2012). Выраженность лекарственного патоморфоза в ткани молочной железы и регионарных лимфатических узлах оценивалась по схеме, предложенной Е.Ф. Лушниковым (1977 г.). Диагноз «полная морфологическая регрессия» устанавливался при отсутствии опухолевых элементов как в ткани молочной железы, так и в исследуемых лимфатических узлах. Сроки наблюдения за больными составили от 12 до 60 мес.

Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) биопсийного и операционного материала проводилось по стандартной методике. Использовались антитела фирмы «Dako» к рецепторам эстрогена (клон 1D5, RTU, мышинные), прогестерона (клон PgR 636, RTU, мышинные), к онкопротеину c-erbB-2 (HER2/neu статус) (рабочее разведение 1:500, кроличьи), к Ki67 (клон MIB-1, RTU, мышинные «Novocastra»), к CK 5/6 (клон D5/16 B4, рабочее разведение 1:100, мышинные, «Diagnostic BioSystems»), к EGFR1 (клон SP9, рабочее раз-

Таблица 1

Распределение больных тройным негативным раком молочной железы в зависимости от основных клинико-морфологических параметров

Параметры	Количество больных (n=70)
Состояние менструальной функции	
сохранена	39 (55,7 %)
менопауза	31 (44,3 %)
Размер первичного опухолевого узла	
менее 50 мм	64 (91,4 %)
50 мм и более	6 (8,6 %)
Состояние лимфатических узлов	
N ₀	49 (70,0 %)
N ₁₋₃	21 (30,0 %)
Стадия опухолевого процесса	
I	5 (7,1 %)
II	58 (82,9 %)
III	7 (10,0 %)
Гистологический тип	
инвазивная карцинома	53 (75,7 %)
медулярный рак	5 (7,1 %)
не определено	12 (17,2 %)
Подтип трижды негативного рака	
молочной железы	
базальноподобный	56 (80,0 %)
небазальноподобный	8 (11,4 %)
не определено	6 (8,6 %)
RECIST	
полная регрессия	27 (38,6 %)
частичная регрессия	27 (38,6 %)
стабилизация	12 (17,1 %)
прогрессирование	4 (5,7 %)
Схема НАХТ	
FAC	27 (38,6 %)
САХ	43 (61,4 %)

ведение 1:600, кроличьи, «Novus Biologicals»), к VEGFR-2 (клон P-GF.44C, рабочее разведение 1:600, кроличьи, «Zymed Laboratories»). Оценка экспрессии рецепторов к половым гормонам осуществлялась количественным методом [12]. Уровень экспрессии Ki67 < 20 % оценивался как низкий, ≥ 20 % – как высокий. Для рецепторов к эндотелиальному фактору роста VEGFR-2 определялись наличие экспрессии, локализация (цитоплазма, мембрана и цитоплазма), выраженность (выраженная, умеренная, слабая) и уровень экспрессии (низкий – менее 70 %, высокий – 70 % и более).

С целью оценки полиморфных вариантов гена KDR проводилось выделение ДНК из образцов периферической крови с помощью наборов «QIAamp DNA Mini Kit» (50) (Qiagen). Качественная и количественная оценка ДНК проведена на спектрофотометре NanoDrop-1000 («NanoDrop», США). Изучение полиморфных вариантов KDR -604T>C rs2071559 и KDR 1192G>A rs2305948 выполнено с помощью полимеразной цепной

реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Последовательность праймеров и проб подбирали при помощи программы OligoAnalysisVector NTI с использованием генетического банка данных (www.ncbi.nlm.nih.gov). Реакционная смесь для ПЦР объемом 15 мкл включала 100 нг геномной ДНК; 0,5–1,5 мкл специфической пары праймеров и проб с концентрацией 1 о.е./мл; 200 мкМ каждого дезоксинуклеотидтрифосфата; 1,2–2,0 мкл буфера (60 мМ Tris-HCl (pH 8,5 при 25 °C), 1,5 мМ MgCl₂; 25 мМ KCl; 10 мМ 2-меркаптоэтанол; 0,1 % Тритон X-100) и 0,5–1,0 ед. Taq ДНК-полимеразы («Медиген», Новосибирск). Программа амплификации предполагала предварительную денатурацию при 95 °C в течение 2 мин, с последующими 40 циклами денатурации при 95 °C (10 сек), отжига при специфической температуре для каждой пары праймеров (30 сек) на амплификаторе ICycler IQ5 («Bio-Rad», США).

Работа проведена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с «Основами законодательства РФ об охране здоровья граждан» (Указ Президента РФ от 24.12.93 № 2288), на основании разрешения локального комитета по биомедицинской этике Томского НИИ онкологии. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы STATISTICA 7.0. Применялись критерий χ^2 , корреляционный анализ и логистический регрессионный анализ. Обсуждались результаты с достоверностью различий при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования проведен анализ взаимосвязи основных клинико-морфологических параметров, уровня экспрессии рецепторов VEGFR-2, полиморфных вариантов гена *KDR* с эффективностью неoadьювантной химиотерапии у больных тройным негативным раком молочной железы. Поскольку достижение полных морфологических регрессий является наиболее важным критерием эффективности НАХТ, были сформированы две исследуемые группы: группа больных с полной морфологической регрессией опухоли (27 пациенток) и группа пациенток, у которых на фоне проведения НАХТ отмечались частичная регрессия опухоли или стабилизация процесса (39 пациенток).

Показано, что полные морфологические регрессии чаще наблюдались у больных в возрасте до 50 лет по сравнению с пациентками старшей возрастной группы ($p = 0,0044$). В группе женщин с сохранной менструальной функцией была выявлена тенденция к повышению количества полных морфологических регрессий ($p = 0,0513$; табл. 2).

Выявлено, что достоверно чаще достижение полных морфологических регрессий отмечалось у больных с экспрессией Ki67 $\geq 20\%$ ($p = 0,0322$). Важно отметить, что все случаи полной морфологиче-

ской регрессии были ассоциированы с отсутствием экспрессии VEGFR-2 в опухолевой ткани после оперативного лечения ($p = 0,0000$). Кроме того, достижение полных морфологических регрессий сопряжено с носительством дикого аллеля G гена *KDR* rs2305948, однако различия не достигают статистической значимости ($p = 0,0814$). Отмечено, что у пациенток, получавших предоперационное лечение с включением капецитабина, эффективность НАХТ была значимо выше по сравнению с группой больных, получавших стандартную антрациклинсодержащую схему ($p = 0,0246$).

Анализ корреляционных взаимосвязей показал, что наличие экспрессии VEGFR-2 (негативной или позитивной) в опухолевой ткани до лечения значимо ассоциировано с полиморфизмом гена *KDR* rs2071559 ($r = -0,297$; $p = 0,0273$). Кроме того, выявлена значимая обратная корреляционная зависимость между *KDR* rs2071559 и уровнем экспрессии VEGFR-2 (менее 70 %, 70 % и более) в опухолевой ткани до лечения ($r = -0,314$; $p = 0,0297$).

На втором этапе исследования для прогнозирования эффективности неoadьювантной химиотерапии у больных тройным негативным раком молочной железы был использован многофакторный логистический регрессионный анализ. В качестве независимых признаков выступали такие параметры, как возраст пациенток на момент диагноза, состояние менструальной функции, уровень маркера клеточной пролиферации Ki67, экспрессия VEGFR-2 после операции, полиморфизм *KDR* rs2305948 и схема неoadьювантной химиотерапии. Однако из всех включенных признаков только молодой возраст пациенток (≤ 50 лет), отсутствие экспрессии VEGFR-2 после операции и схема САХ явились статистически значимыми предикторами эффективности НАХТ (табл. 3).

Данные о прогностической значимости VEGFR-2 при раке молочной железы, представленные в основном в зарубежных публикациях, немногочисленны и противоречивы. Высокий уровень экспрессии VEGFR-2 в опухолевой ткани считается предиктором неблагоприятного прогноза у больных тройным негативным раком молочной железы, получавших адьювантную химиотерапию [13]. Однако обратная корреляция выявлена у больных базальноподобным раком молочной железы [14]. В исследованиях Kallegri et al. [15] и Pizon et al. [16] показано, что уровень экспрессии VEGFR-2 на циркулирующих эпителиальных опухолевых клетках не коррелирует с рецепторным статусом, стадией заболевания и лимфогенным / гематогенным метастазированием у больных раком молочной железы. Вместе с тем предикательная оценка экспрессии VEGFR-2 в современных источниках не освещена. Результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что отсутствие экспрессии VEGFR-2 в опухолевой ткани после НАХТ может быть связано с высокой вероятностью достижения

Таблица 2

Эффективность НАХТ у больных тройным негативным раком молочной железы в зависимости от основных клинико-морфологических и молекулярно-генетических параметров

Параметры	Кол-во больных	Эффективность НАХТ		p
		Полная регрессия	Частичная регрессия и стабилизация	
Возраст				
≤50	35	20 (57,1 %)	15 (42,9 %)	0,0044
≥50	31	7 (22,6 %)	24 (77,4 %)	
Состояние менструальной функции				
сохранена	37	19 (51,4 %)	18 (48,6 %)	0,0513
менопауза	29	8 (27,6 %)	21 (72,4 %)	
Размер первичного опухолевого узла				
менее 50 мм	60	26 (43,3 %)	34 (56,7 %)	0,3880
50 мм и более	6	1 (16,7 %)	5 (83,3 %)	
Состояние лимфатических узлов				
N ₀	49	23 (46,9 %)	26 (53,1 %)	0,0907
N ₁₋₃	17	4 (23,5 %)	13 (76,5 %)	
Подтип трижды негативного рака молочной железы				
базальноподобный	7	3 (42,9 %)	4 (57,1 %)	0,6997
небазальноподобный	53	19 (35,8 %)	34 (64,2 %)	
Уровень маркера клеточной пролиферации				
Ki-67 ≤ 20 %	19	4 (21,1 %)	15 (78,9 %)	0,0322
Ki-67 ≥ 20 %	44	22 (50,0 %)	22 (50,0 %)	
Экспрессия VEGFR-2 до операции				
негативная	12	5 (41,7 %)	7 (58,3 %)	0,7444
позитивная	48	17 (35,4 %)	31 (64,6 %)	
Экспрессия VEGFR-2 после операции				
негативная	27	23 (85,2 %)	4 (14,8 %)	0,0000
позитивная	20	0 (00,0 %)	20 (100,0 %)	
<i>KDR</i> rs2071559				
Т аллель	64	26 (40,6 %)	38 (59,4 %)	0,5070
С аллель	52	18 (34,6 %)	34 (65,4 %)	
<i>KDR</i> rs2305948				
G аллель	110	44 (40,0 %)	66 (60,0 %)	0,0814
А аллель	6	0 (00,0 %)	6 (100,0 %)	
Схема НАХТ				
FAC	24	5 (20,8 %)	19 (79,2 %)	0,0246
CAX	42	22 (52,4 %)	20 (47,6 %)	

Таблица 3

Многофакторный логистический регрессионный анализ для прогнозирования эффективности НАХТ у больных тройным негативным раком молочной железы

Сравниваемые параметры	Estimate	Standard error	Wald	P-value
Возраст: ≤ 50 vs ≥ 50	0,189	0,072	6,762	0,0126
Схема НАХТ: FAC vs CAX	-0,183	0,074	7,855	0,0166
Экспрессия VEGFR-2 после операции: негативная vs позитивная	-0,762	0,074	34,286	0,0000

полных морфологических регрессий у больных трижды негативным раком молочной железы. Кроме того, независимыми прогностическими факторами эффективности НАХТ в нашем исследовании являются молодой возраст пациенток и схема CAX. Предшествующими исследованиями нами была показана высокая предикторная значимость капецитабинсодержащей схемы в отношении объ-

ективного клинического ответа у больных тройным негативным раком молочной железы [17, 18]. Настоящее исследование демонстрирует высокую эффективность использования предоперационного режима с капецитабином в отношении полных морфологических регрессий, что подтверждается данными других авторов [19, 20]. Однако результаты анализа III фазы GeparQuattro клинического

исследования показали, что добавление в схему лечения капецитабина (5 курсов по схеме EC-T: эпирубицин, циклофосфамид, доцетаксел плюс капецитабин) не приводит к увеличению количества полных морфологических регрессий [21]. Недавний метаанализ пяти клинических исследований, включающий 3 257 пациенток, свидетельствует об отсутствии повышения эффективности неоадьювантной химиотерапии, включающей капецитабин, антрациклины и таксаны, по сравнению с режимами без капецитабина [22]. Следует отметить, что неоднозначность имеющихся данных может быть связана с отсутствием в ряде исследований стратификации пациентов по молекулярному подтипу опухоли и использованием различных режимов с включением капецитабина.

Результаты изучения генетических полиморфизмов VEGFR-2 при раке молочной железы, представленные в зарубежных источниках, крайне немногочисленны. В исследовании случай-контроль Shanghai Breast Cancer Genetics Study (SBCGS) показано, что SNP rs2305948 не связан с риском развития рака молочной железы [23]. Не выявлено значимых ассоциаций данного полиморфизма с прогнозом [24, 25] и показателями общей/безрецидивной выживаемости у больных раком молочной железы [26]. Проведенный в настоящей работе анализ полиморфизма гена *KDR* (rs2305948) показал, что шанс достичь полной морфологической регрессии есть только у но-

сителей дикого аллеля G, ассоциированного с замедлением процессов ангиогенеза в опухоли. Другой SNP rs2071559 показал взаимосвязь с уровнем экспрессии VEGFR-2 в опухолевой ткани до лечения. Таким образом, полиморфные варианты гена *KDR*, влияя на уровень экспрессии белка VEGFR-2 или изменяя степень сродства VEGF-A к рецептору VEGFR-2, могут определять активность VEGF/*KDR* сигнального каскада и, соответственно, могут быть связаны как с менее, так и с более агрессивным клиническим течением рака молочной железы.

Заключение

Стандартные клинико-морфологические факторы: возраст до 50 лет; сохранная менструальная функция; высокий уровень пролиферативной активности ($Ki67 \geq 20$) – подтверждают свою клиническую значимость в качестве информативных параметров, определяющих высокую вероятность достижения полных морфологических регрессий у больных тройным негативным раком молочной железы. Уровень экспрессии VEGFR-2 в опухолевой ткани и полиморфные варианты гена *KDR* могут рассматриваться в качестве новых дополнительных молекулярных критериев с высокой предсказательной значимостью у больных тройным негативным раком молочной железы при проведении неоадьювантной химиотерапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Brouckaert O., Wildiers H., Floris G., Neven P. Update on triple-negative breast cancer: prognosis and management strategies. *Int J Womens Health*. 2012; 4: 511–20. doi: 10.2147/IJWH.S18541.
2. Penault-Llorca F., Viale G. Pathological and molecular diagnosis of triple-negative breast cancer: a clinical perspective. *Ann Oncol*. 2012. Suppl. 6: vi19–22.
3. Perou C.M. Molecular stratification of triple-negative breast cancers. *Oncologist*. 2011. 16. Suppl 1: 61–70. doi:10.1634/theoncologist.2011-S1-61.
4. Ferrara N. VEGF-A: a critical regulator of blood vessel growth. *Eur Cytokine Netw*. 2009 Dec; 20 (4): 158–63. doi: 10.1684/ecn.2009.0170.
5. Hicklin D.J., Ellis L.M. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. *J Clin Oncol*. 2005 Feb 10; 23 (5): 1011–27.
6. Chanana P., Pandey A.K., Yadav B.S., Kaur J., Singla S., Dimri K., Trehan R., Krishan P. Significance of serum vascular endothelial growth factor and cancer antigen 15.3 in patients with triple negative breast cancer. *Journal of Radiotherapy in Practice* 2014. 13: 60–67. doi: 10.1017/S146039691200057X.
7. Linderholm B.K., Hellborg H., Johansson U., Elmberger G., Skoog L., Lehtiö J., Lewensohn R. Significantly higher levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and shorter survival times for patients with primary operable triple-negative breast cancer. *Ann Oncol*. 2009 Oct; 20 (10): 1639–46. doi: 10.1093/annonc/mdp062.
8. Taha F.M., Zeeneldin A.A., Helal A.M., Gaber A.A., Sallam Y.A., Ramadan H., Moneer M.M. Prognostic value of serum vascular endothelial growth factor in Egyptian females with metastatic triple negative breast cancer. *Clin Biochem*. 2009 Sep; 42 (13–14): 1420–6. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2009.06.022.
9. El-Arab L.R., Swellam M., El Mahdy M.M. Metronomic chemotherapy in metastatic breast cancer: impact on VEGF. *J Egypt Natl Canc Inst*. 2012 Mar; 24 (1): 15–22. doi: 10.1016/j.jnci.2011.12.002.
10. Jansson S., Bendahl P.O., Grabau D.A., Falck A.K., Fernö M., Aaltonen K., Rydén L. The three receptor tyrosine kinases c-KIT, VEGFR2 and PDGFR α , closely spaced at 4q12, show increased protein expression in triple-negative breast cancer. *PLoS One*. 2014 Jul 15; 9 (7): e102176. doi: 10.1371/journal.pone.0102176.

11. Yan J.D., Liu Y., Zhang Z.Y., Liu G.Y., Xu J.H., Liu L.Y., Hu Y.M. Expression and prognostic significance of VEGFR-2 in breast cancer. *Pathol Res Pract*. 2015 Jul; 211 (7): 539–43. doi: 10.1016/j.prp.2015.04.003.
12. *Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека* / Под ред. С.В. Петрова, Н.Т. Райхлина. Казань; 2000, 451 с.
13. Rydén L., Jirstrom K., Haglund M., Stål O., Fernö M. Epidermal growth factor receptor and vascular endothelial growth factor receptor 2 are specific biomarkers in triple-negative breast cancer. Results from a controlled randomized trial with long-term follow-up. *Breast Cancer Res Treat*. 2010 Apr; 120 (2): 491–8. doi: 10.1007/s10549-010-0758-6.
14. Fertig E.J., Lee E., Pandey N.B., Popel A.S. Analysis of gene expression of secreted factors associated with breast cancer metastases in breast cancer subtypes. *Sci Rep*. 2015 Jul 15; 5: 12133. doi: 10.1038/srep12133.
15. Kallergi G., Markomanolaki H., Giannoukaraki V., Papadaki M.A., Strati A., Lianidou E.S., Georgoulas V., Mavroudis D., Agelaki S. Hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor expression in circulating tumor cells of breast cancer patients. *Breast Cancer Res*. 2009; 11 (6): R84. doi: 10.1186/bcr2452.
16. Pizon M., Zimon D.S., Pachmann U., Pachmann K. Insulin-like growth factor receptor I (IGF-IR) and vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR-2) are expressed on the circulating epithelial tumor cells of breast cancer patients. *PLoS One*. 2013; 8 (2): e56836. doi: 10.1371/journal.pone.0056836.
17. Слонимская Е.М., Тарабановская Н.А., Дорошенко А.В., Гарбуков Е.Ю., Кокорина Ю.Л. Кселода в неоадьювантном лечении операбельного рака молочной железы. *Сибирский онкологический журнал*. 2009; 1: 14–18.
18. Babyskhina N., Malinovskaya E., Patalyak S., Bragina O., Taranovskaya N., Doroshenko A., Slonimskaya E., Perelmuter V., Cherdynseva N. Neoadjuvant chemotherapy for different molecular breast cancer subtypes: a retrospective study in Russian population. *Med Oncol*. 2014 Sep; 31 (9): 165. doi: 10.1007/s12032-014-0165-7.
19. Jinno H., Sakata M., Hayashida T., Takahashi M., Mukai M., Ikeda T., Kitagawa Y. A phase II trial of capecitabine and docetaxel followed by 5-FU/epirubicin/cyclophosphamide (FEC) as preoperative treatment in women with II/III stage breast cancer. *Ann Oncol*. 2010 Jun; 21 (6): 1262–6. doi: 10.1093/annonc/mdp428.

20. Natoli C., Cianchetti E., Tinari N., Angelucci D., Grassadonia A., Zilli M., Ficorella C., Ricevuto E., Grossi S., De Tursi M., Carella C., Rispoli A.L., Iacobelli S. A phase II study of dose-dense epirubicin plus cyclophosphamide followed by docetaxel plus capecitabine and pegfilgrastim support as preoperative therapy for patients with stage II, IIIA breast cancer. *Ann Oncol.* 2007 Jun; 18 (6): 1015–20.
21. von Minckwitz G., Rezaei M., Fasching P.A., Huober J., Tesch H., Bauerfeind I., Hilfrich J., Eidtmann H., Gerber B., Hanusch C., Blohmer J.U., Costa S.D., Jackisch C., Paepke S., Schneeweiss A., Kümmel S., Denkert C., Mehta K., Loibl S., Untch M. Survival after adding capecitabine and trastuzumab to neoadjuvant anthracycline-taxane-based chemotherapy for primary breast cancer (GBG 40-GeparQuattro). *Ann Oncol.* 2014 Jan; 25 (1): 81–9. doi: 10.1093/annonc/mdt410.
22. Li Q., Jiang Y., Wei W., Yang H., Liu J. Clinical efficacy of including capecitabine in neoadjuvant chemotherapy for breast cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS One.* 2013;8(1):e53403. doi: 10.1371/journal.pone.0053403.
23. Beeghly-Fadiel A., Shu XO., Lu W., Long J., Cai Q., Xiang Y.B., Zheng Y., Zhao Z., Gu K., Gao Y.T., Zheng W. Genetic variation in VEGF family genes and breast cancer risk: a report from the Shanghai Breast Cancer Genetics Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011 Jan; 20 (1): 33–41. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0793.
24. Förstl A., Jin Q., Altieri A., Johansson R., Wagner K., Enquist K., Grzybowska E., Pamula J., Pekala W., Hallmans G., Lenner P., Hemminki K. Polymorphisms in the KDR and POSTN genes: association with breast cancer susceptibility and prognosis. *Breast Cancer Res Treat.* 2007 Jan; 101 (1): 83–93.
25. Schneider B.P., Radovich M., Sledge G.W., Robarge J.D., Li L., Storniolo A.M., Lemler S., Nguyen A.T., Hancock B.A., Stout M., Skaar T., Flockhart D.A. Association of polymorphisms of angiogenesis genes with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2008 Sep; 111 (1): 157–63.
26. Dorjgochoo T., Zheng Y., Gao Y.T., Ma X., Long J., Bao P., Zhang B., Wen W., Lu W., Zheng W., Shu XO., Beeghly-Fadiel A. No association between genetic variants in angiogenesis and inflammation pathway genes and breast cancer survival among Chinese women. *Cancer Epidemiol.* 2013 Oct; 37 (5): 619–24. doi: 10.1016/j.canep.2013.06.005.

Поступила 26.02.16
Принята в печать 29.04.16

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бабышкина Наталия Николаевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Российская Федерация). E-mail: nbabyshkina@mail.ru. SPIN-код: 2738-9275.

Завьялова Марина Викторовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Российская Федерация). E-mail: zavyalovamv@mail.ru. SPIN-код: 1229-0323.

Брагина Ольга Дмитриевна, кандидат медицинских наук, врач-ординатор отделения общей онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Российская Федерация). E-mail: rungis@mail.ru. SPIN-код: 7961-5918.

Дронова Татьяна Анатольевна, магистрант Института биологии, Национальный исследовательский Томский государственный университет (г. Томск, Российская Федерация). E-mail: tanyadronova@mail.ru.

Слонимская Елена Михайловна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделением общей онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Российская Федерация). E-mail: slonimskaya@rambler.ru. SPIN-код: 7763-6417.

Чердынцева Надежда Викторовна, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией молекулярной онкологии и иммунологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Российская Федерация). E-mail: nvch@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 5344-0990.

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить

PREDICTIVE SIGNIFICANCE OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR RECEPTOR VEGF-2 IN TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER PATIENTS

N.N. Babyskhina^{1,2}, M.V. Zavyalova^{1,2,3}, O.D. Bragina¹, T.A. Dronova², E.M. Slonimskaya^{1,3}, N.V. Cherdyntseva^{1,2}

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia²

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia³

5, Kooperativny Street, 634009-Tomsk, Russia, e-mail: nbabyshkina@mail.ru¹

Abstract

The identification of informative biomarkers that are able to predict prognosis and treatment response may be particularly important in triple negative breast cancer. The aim of the study was to investigate the relationship between vascular endothelial growth factor receptor VEGFR-2 expression and *KDR* gene polymorphisms with the efficacy of neoadjuvant chemotherapy (NAC) in patients with triple negative breast cancer. **Methods.** The study included 70 patients with triple negative operable breast cancer ($T_{1-3}N_{0-3}M_0$), who had received 2–4 cycles of FAC and CAX regimens. The pathologic complete response (pCR) to treatment was determined by RECIST.

VEGFR-2 expression level was evaluated using immunohistochemistry. Genotypes for *KDR* (rs2071559, rs2305948) were detected by a Real-time PCR. **Results.** The pCR rate was significantly associated with young age at diagnosis (≤ 50 years) ($p=0.0044$), a high level of Ki67 expression (≥ 20) ($p=0.0322$) and with CAX regimen ($p=0.0246$). Additionally, all patients with pCR had the lack of VEGFR-2 expression in tumor tissue after surgery ($p=0.0000$). The presence of the VEGFR-2 expression (negative or positive) in tumor tissue before NAC was associated with *KDR* rs2071559 ($r=-0.297$; $p=0.0273$). A significant correlation between the *KDR* rs2071559 and VEGFR-2 expression level (less than 70, 70% or more) in the tumor tissue before NAC was found ($r=-0.314$; $p=0.0297$). Multivariate logistic regression analysis showed that the young age of the patients (≤ 50 years), the lack of VEGFR-2 expression after surgery and CAX regimen were significant predictors of NAC. **Conclusion.** The VEGFR-2 expression level in tumor tissue and *KDR* gene polymorphism can be considered as new additional molecular predictive markers of pathologic complete response to NAC in triple negative breast cancer patients.

Key words: triple negative breast cancer, neoadjuvant chemotherapy, predictive markers, vascular endothelial growth factor receptor VEGFR-2, gene polymorphisms.

REFERENCES

1. Brouckaert O., Wildiers H., Floris G., Neven P. Update on triple-negative breast cancer: prognosis and management strategies. *Int J Womens Health*. 2012; 4: 511–20. doi: 10.2147/IJWH.S18541.
2. Penault-Llorca F., Viale G. Pathological and molecular diagnosis of triple-negative breast cancer: a clinical perspective. *Ann Oncol*. 2012. Suppl. 6: vi19–22.
3. Perou C.M. Molecular stratification of triple-negative breast cancers. *Oncologist*. 2011. 16. Suppl 1: 61–70. doi:10.1634/theoncologist.2011-S1-61.
4. Ferrara N. VEGF-A: a critical regulator of blood vessel growth. *Eur Cytokine Netw*. 2009 Dec; 20 (4): 158–63. doi: 10.1684/ecn.2009.0170.
5. Hicklin D.J., Ellis L.M. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. *J Clin Oncol*. 2005 Feb 10; 23 (5): 1011–27.
6. Chanana P., Pandey A.K., Yadav B.S., Kaur J., Singla S., Dimri K., Trehan R., Krishan P. Significance of serum vascular endothelial growth factor and cancer antigen 15.3 in patients with triple negative breast cancer. *Journal of Radiotherapy in Practice* 2014. 13: 60–67. doi: 10.1017/S146039691200057X.
7. Linderholm B.K., Hellborg H., Johansson U., Elmberger G., Skoog L., Lehtiö J., Lewensohn R. Significantly higher levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and shorter survival times for patients with primary operable triple-negative breast cancer. *Ann Oncol*. 2009 Oct; 20 (10): 1639–46. doi: 10.1093/annonc/mdp062.
8. Taha F.M., Zeeneldin A.A., Helal A.M., Gaber A.A., Sallam Y.A., Ramadan H., Moneer M.M. Prognostic value of serum vascular endothelial growth factor in Egyptian females with metastatic triple negative breast cancer. *Clin Biochem*. 2009 Sep; 42 (13–14): 1420–6. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2009.06.022.
9. El-Arab L.R., Swellam M., El Mahdy M.M. Metronomic chemotherapy in metastatic breast cancer: impact on VEGF. *J Egypt Natl Canc Inst*. 2012 Mar; 24 (1): 15–22. doi: 10.1016/j.jnci.2011.12.002.
10. Jansson S., Bendahl P.O., Grabau D.A., Falek A.K., Fernö M., Aaltonen K., Rydén L. The three receptor tyrosine kinases c-KIT, VEGFR2 and PDGFR α , closely spaced at 4q12, show increased protein expression in triple-negative breast cancer. *PLoS One*. 2014 Jul 15; 9 (7): e102176. doi: 10.1371/journal.pone.0102176.
11. Yan J.D., Liu Y., Zhang Z.Y., Liu G.Y., Xu J.H., Liu L.Y., Hu Y.M. Expression and prognostic significance of VEGFR-2 in breast cancer. *Pathol Res Pract*. 2015 Jul; 211 (7): 539–43. doi: 10.1016/j.prp.2015.04.003.
12. *Guide immunohistochemical diagnosis of human tumors* / Ed. by S.V. Petrov, N.T. Raykhlin. Kazan'; 2004, 451 p. [in Russian]
13. Rydén L., Jirstrom K., Haglund M., Stål O., Fernö M. Epidermal growth factor receptor and vascular endothelial growth factor receptor 2 are specific biomarkers in triple-negative breast cancer. Results from a controlled randomized trial with long-term follow-up. *Breast Cancer Res Treat*. 2010 Apr; 120 (2): 491–8. doi: 10.1007/s10549-010-0758-6.
14. Fertig E.J., Lee E., Pandey N.B., Popel A.S. Analysis of gene expression of secreted factors associated with breast cancer metastases in breast cancer subtypes. *Sci Rep*. 2015 Jul 15; 5: 12133. doi: 10.1038/srep12133.
15. Kallergi G., Markomanolaki H., Giannoukaraki V., Papadaki M.A., Strati A., Lianidou E.S., Georgoulas V., Mavroudis D., Agelaki S. Hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor expression in circulating tumor cells of breast cancer patients. *Breast Cancer Res*. 2009; 11 (6): R84. doi: 10.1186/bcr2452.

16. Pizon M., Zimon D.S., Pachmann U., Pachmann K. Insulin-like growth factor receptor I (IGF-IR) and vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR-2) are expressed on the circulating epithelial tumor cells of breast cancer patients. *PLoS One*. 2013; 8 (2): e56836. doi: 10.1371/journal.pone.0056836.
17. Slonimskaya E.M., Tarabanovskaya N.A., Doroshenko A.V., Garbukov E.Yu., Kokorina Yu.L. Xeloda in neoadjuvant treatment for operable breast cancer. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal*. 2009; 1: 14–18 [in Russian].
18. Babyshkina N., Malinovskaya E., Patalyak S., Bragina O., Tarabanovskaya N., Doroshenko A., Slonimskaya E., Perelmuter V., Cherdynseva N. Neoadjuvant chemotherapy for different molecular breast cancer subtypes: a retrospective study in Russian population. *Med Oncol*. 2014 Sep; 31 (9): 165. doi: 10.1007/s12032-014-0165-7.
19. Jinno H., Sakata M., Hayashida T., Takahashi M., Mukai M., Ikeda T., Kitagawa Y. A phase II trial of capecitabine and docetaxel followed by 5-FU/epirubicin/cyclophosphamide (FEC) as preoperative treatment in women with II/III stage breast cancer. *Ann Oncol*. 2010 Jun; 21 (6): 1262–6. doi: 10.1093/annonc/mdp428.
20. Natoli C., Cianchetti E., Tinari N., Angelucci D., Grassadonia A., Zilli M., Ficorella C., Ricevuto E., Grossi S., De Tursi M., Carella C., Rispoli A.I., Iacobelli S. A phase II study of dose-dense epirubicin plus cyclophosphamide followed by docetaxel plus capecitabine and pegfilgrastim support as preoperative therapy for patients with stage II, IIIA breast cancer. *Ann Oncol*. 2007 Jun; 18 (6): 1015–20.
21. von Minckwitz G., Rezai M., Fasching P.A., Huober J., Tesch H., Bauerfeind I., Hilfrich J., Eidtmann H., Gerber B., Hanusch C., Blohmer J.U., Costa S.D., Jackisch C., Paepke S., Schneeweiss A., Kümmel S., Denkert C., Mehta K., Loibl S., Untch M. Survival after adding capecitabine and trastuzumab to neoadjuvant anthracycline-taxane-based chemotherapy for primary breast cancer (GBG 40-GeparQuattro). *Ann Oncol*. 2014 Jan; 25 (1): 81–9. doi: 10.1093/annonc/mdt410.
22. Li Q., Jiang Y., Wei W., Yang H., Liu J. Clinical efficacy of including capecitabine in neoadjuvant chemotherapy for breast cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS One*. 2013; 8 (1): e53403. doi: 10.1371/journal.pone.0053403.
23. Beeghly-Fadiel A., Shu X.O., Lu W., Long J., Cai Q., Xiang Y.B., Zheng Y., Zhao Z., Gu K., Gao Y.T., Zheng W. Genetic variation in VEGF family genes and breast cancer risk: a report from the Shanghai Breast Cancer Genetics Study Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2011 Jan; 20 (1): 33–41. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0793.
24. Försti A., Jin Q., Altieri A., Johansson R., Wagner K., Enquist K., Grzybowska E., Pamula J., Pekala W., Hallmans G., Lenner P., Hemminki K. Polymorphisms in the *KDR* and *POSTN* genes: association with breast cancer susceptibility and prognosis. *Breast Cancer Res Treat*. 2007 Jan; 101 (1): 83–93.
25. Schneider B.P., Radovich M., Sledge G.W., Robarge J.D., Li L., Storniolo A.M., Lemler S., Nguyen A.T., Hancock B.A., Stout M., Skaar T., Flockhart D.A. Association of polymorphisms of angiogenesis genes with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2008 Sep; 111 (1): 157–63.
26. Dorjgochoo T., Zheng Y., Gao Y.T., Ma X., Long J., Bao P., Zhang B., Wen W., Lu W., Zheng W., Shu X.O., Beeghly-Fadiel A. No association between genetic variants in angiogenesis and inflammation pathway genes and breast cancer survival among Chinese women. *Cancer Epidemiol*. 2013 Oct; 37 (5): 619–24. doi: 10.1016/j.canep.2013.06.005.

Received 26.02.16
Accepted 29.04.16

ABOUT THE AUTHORS

Babyshkina Natalia N., MD, PhD, Senior Researcher, Molecular Oncology and Immunology Laboratory, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russian Federation). E-mail: nbabyshkina@mail.ru. SPIN-code: 2738-9275.

Zavyalova Marina V., DSc, Professor, Senior Researcher of the Department of Pathological Anatomy and Cytology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Head of Pathological Anatomy Department of Siberian State Medical University (Tomsk, Russian Federation). E-mail: zavyalovamv@mail.ru. SPIN-code: 1229-0323.

Bragina Olga D., MD, PhD, physician, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russian Federation). E-mail: rungis@mail.ru. SPIN-код: 7961-5918.

Dronova Tatiana A., undergraduate, Biology Institute of the National Research Tomsk State University (Tomsk, Russian Federation). E-mail: tanyadronova@mail.ru.

Slonimskaya Elena M., DSc, Professor, Head of General Oncology Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russian Federation). E-mail: slonimskaya@rambler.ru. SPIN-code: 7763-6417.

Cherdyntseva Nadezhda V., DSc, Professor, Deputy Director for Basic Science, Head of Laboratory of Molecular Oncology and Immunology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russian Federation). E-mail: nvch@oncology.tomsk.ru. SPIN-code: 5344-0990.

Authors declare lack of the possible conflicts of interests