

УДК 616.33-006.6-089.87]:575.191(476)

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ТЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НА ОСНОВЕ ОЦЕНКИ ЭКСПРЕССИИ микроРНК

Р. М. СМОЛЯКОВА¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет,
Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова,
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, Минск, Беларусь

Проанализирован молекулярно-генетический профиль экспрессии онкогенных микроРНК mir-21, mir-373, mir-155, тканевых антигенов рецепторов стероидных гормонов, эпидермального фактора роста Her-2/neu и p53 при раке молочной железы. Установлено, что уровень экспрессии miR-155, miR-373, miR-21 и белка-регулятора клеточного цикла p53 являются независимыми прогностическими факторами риска развития рецидива заболевания при раке молочной железы.

Ключевые слова: антропогенная нагрузка; рак молочной железы; экспрессия микроРНК; экспрессия рецепторов стероидных гормонов; прогностические факторы; группы риска; безрецидивная выживаемость.

PREDICTION OF THE COURSE OF THE BREAST CANCER BASED ON THE EVALUATION OF microRNA EXPRESSION

R. M. SMOLIAKOVA^a

^aBelarusian State University, International Sakharov Environmental Institute,
Dolgobrodskaya street, 23/1, 220070, Minsk, Belarus

The molecular genetic profile of the expression of oncogenic miRNA mir-21, mir-373, mir-155, tissue antigens of steroid hormone receptors, epidermal growth factor Her-2 / neu and p53 in breast cancer are analyzed. It was found that the expression level of miR-155, miR-373, miR-21 and the cell regulating cell regulator p53 are independent prognostic risk factors for the relapse of the breast cancer.

Key words: anthropogenic load; breast cancer; microRNA expression; steroid hormone receptor expression; prognostic factors; risk groups; disease-free survival.

Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения, рак молочной железы (РМЖ) занимает лидирующее место в структуре заболеваемости у женщин во всем мире. Рост числа заболевших РМЖ

Образец цитирования:

Смолякова Р. М. Прогнозирование течения заболевания при раке молочной железы на основе оценки экспрессии микроРНК // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2018. № 3. С. 87–93.

For citation:

Smoliakova R. M. Prediction of the course of the breast cancer based on the evaluation of microRNA expression. *J. Belarus. State Univ. Ecol.* 2018. No. 3. P. 87–93 (in Russ.).

Авторы:

Раиса Михайловна Смолякова – доктор биологических наук, доцент; заведующий кафедрой общей экологии, биологии и экологической генетики.

Authors:

Raisa M. Smoliakova, doctor of sciences (biology), associate professor; head of the department of general ecology, biology and environmental genetics
smol60@mail.ru

обусловлен сочетанием нескольких факторов: высокой антропогенной нагрузкой, значительным «постарением» женского населения, происшедшими в Беларуси за последние 40 лет и истинным ростом заболеваемости [1]. Следует особо отметить, что высокий уровень заболеваемости РМЖ наблюдается у женщин трудоспособного возраста, что повышает социальную и клиническую значимость изучения данной проблемы.

Важнейшим показателем актуальности проблемы и неудовлетворенности результатами лечения пациенток с РМЖ является сохраняющаяся высокая смертность. Изучение динамики течения заболевания позволило многим исследователям заключить, что РМЖ на доклинической стадии является диссеминированным процессом. Развитие локальных рецидивов и метастазов опухоли у 40–50 % радикально пролеченных пациентов на разных этапах наблюдения подтверждает данную гипотезу.

Рак молочной железы представляет собой гетерогенную опухоль, которая включает несколько молекулярно-генетических вариантов с различными фенотипами, отличающимися по агрессивности течения заболевания, чувствительности к противоопухолевым воздействиям [2].

С углублением молекулярно-генетических знаний об особенностях РМЖ и разработкой новых противоопухолевых средств проблема оценки, прогноза и выбора оптимальной стратегии лечения приобретает все большую актуальность.

Уровень экспрессии стероидных гормонов и рецептора эпидермального фактора роста Her-2/neu, которые характеризуют клинически различные по степени агрессивности типы опухолей, изменяется во время прогрессирования опухолевого процесса и в ответ на проводимую противоопухолевую терапию. Установлено, что нарушение функционирования белка p53 – наиболее частое молекулярное изменение в злокачественных опухолях. В настоящее время однозначного мнения о клиническом значении мутаций белка p53 нет. По данным различных авторов, высокий уровень белка p53 чаще всего ассоциируется с неблагоприятными факторами прогноза течения РМЖ: опухолями молочных желез с отрицательным статусом по рецепторам стероидных гормонов, гиперэкспрессией Her-2/neu, высоким митотическим индексом, низкой степенью дифференцировки опухоли, а также низкой безрецидивной и общей выживаемостью [2].

В настоящее время особую актуальность имеет оценка нарушений экспрессии генов, кодирующих микроРНК, ассоциированных с эффективностью проводимой терапии и прогнозированием течения заболевания [3]. В отдельных научных работах авторы утверждают, что уровень экспрессии микроРНК miR-21 коррелирует с повышением активности белка Her-2/neu и функционально вовлечен в Her-2/neu-индуцированную клеточную инвазию через сигнальный путь MAPK(ERK1/2). Установлено, что при РМЖ ингибирование экспрессии miR-21 *in vitro* и *in vivo* приводит к усилению апоптоза и снижению уровня антиапоптотического фактора Bcl-2. Повышенный уровень экспрессии miR-21 клинически сопряжен с поражением лимфатических узлов, высоким пролиферативным индексом и прогрессированием опухолевого процесса [4].

Независимыми прогностическими факторами при прогнозировании раннего риска рецидива при радикальном хирургическом лечении пациенток, страдающих РМЖ II–III стадий, являются уровень экспрессии микроРНК miR-155, miR-373 и белка-регулятора клеточного цикла p53, причем при наличии умеренной/низкой экспрессии miR-155, гиперэкспрессии miR-373, p53 прогнозируют высокий риск развития рецидива заболевания в раннем послеоперационном периоде со снижением безрецидивной выживаемости [5]. Определение данных прогностических факторов позволяет выделить группы пациенток низкого, умеренного и высокого риска неблагоприятного прогноза течения заболевания.

Исследование, проведенное отдельными авторами на клеточной линии здоровой эпителиальной ткани молочной железы мышей (NMG-клетки), показало, что miR-155 является онкогеном при РМЖ и участвует в регуляции TGF- β /Smad4 сигнального пути, играющего важную роль в TGF- β /Smad4-индуцированном эпителиально-мезенхимальном переходе (ЭМП) и клеточной инвазии [6]. Установлено, что повышенная экспрессия miR-155 в NMG-клетках нарушает межклеточные взаимодействия и способствует клеточной инвазии и метастазированию за счет прямого ингибирования экспрессии гена RhoA (Ras homologous family, member A), регулирующего большое количество процессов, протекающих в клетках, включая клеточную адгезию, подвижность, поляриность, а также способность клеток образовывать прочные структуры между собой и их стабильность.

Существует точка зрения, что высокая экспрессия miR-155 ассоциирована с инвазивным РМЖ и не выявляется при неинвазивной карциноме молочной железы [7]. По данным ряда авторов, высокий уровень miR-155 коррелирует с экспрессией рецепторов Her-2/neu и стероидных гормонов, поражением регионарных лимфатических узлов, размером первичной опухоли, статусом РМЖ по белку p53, однако не установлена взаимосвязь между уровнем экспрессии miR-155 и стадией заболевания [8]. В то же время, по данным Kong с соавторами, высокая экспрессия miR-155 коррелирует со стадией опухолевого процесса, трижды-негативным РМЖ и плохим прогнозом [9].

Результаты исследований подтверждают, что повышение уровня экспрессии микроРНК miR-373 приводит к инвазии и миграции опухолевых клеток молочной железы *in vitro* и *in vivo*, но в тоже время не оказывает влияния на пролиферацию опухоли [10]. Выявлен уровень экспрессии miR-373, который выше в метастазах РМЖ, по сравнению с первичной опухолью. Установлено, что miR-373 регулирует экспрессию CD44 по принципу отрицательной обратной связи. Как отмечено авторами, экспрессия CD44 коррелирует с общей выживаемостью при РМЖ [11].

Материалы и методы исследования

Объектом исследования послужили операбельные пациентки, страдающие РМЖ II–III стадий, находившиеся на обследовании и лечении в ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н. Н. Александро́ва».

Материал для исследования – это образцы опухолевой ткани молочной железы, заключенной в парафиновые блоки. Пациентки включались в исследование после клинико-лабораторного, рентгенологического и эндоскопического обследования с обязательным морфологическим подтверждением диагноза. Всем пациенткам проводилось специальное противоопухолевое лечение с обязательным включением хирургического компонента.

Предметом исследования явилась экспрессия микроРНК miR-155, miR-21, miR-373, а также молекулярно-биологических прогностических факторов: маркера пролиферативной активности Ki-67, мутантного онкосупрессора 53, рецепторов эпидермального фактора роста Her-2/neu, эстрогенов и прогестерона.

По степени распространенности опухолевого процесса пациентки распределены следующим образом: ПА ст. диагностирована в 20,7 %, ПВ – 44,8 %, ППА – 6,9 %, ППВ – в 27,6 % случаев соответственно.

Возраст пациенток, включенных в исследование, варьировал от 32 до 63 лет, средний возраст составил 50,7±8,5 года.

У 70,4 % пациенток установлен умеренно дифференцированный рак, низкодифференцированный – у 29,6 % соответственно.

Люминальный А подтип РМЖ составил 37,98 %, люминальный В – 44,8 %, Her-2/neu+ – 10,3 %, базальный – 6,9 %.

Протоковая карцинома наблюдалась у 74 %, дольковая – 21,7 %, дольково-протоковая – у 4,3 % пациенток с РМЖ.

У пациенток, страдающих РМЖ, иммуногистохимическим (ИГХ) методом оценивали экспрессию рецепторов стероидных гормонов, Her-2/neu, индекса пролиферативной активности Ki-67, онкопротеина p53 согласно общепринятым методикам.

Оценка экспрессии тканевых антигенов с использованием ИГХ-анализа проводилась врачом-патологоанатомом. Анализ результатов исследования проводили с применением светового микроскопа при увеличении объектива ×10, ×20, ×40.

Уровень экспрессии онкопротеина Her-2/neu оценивали по интенсивности окрашивания мембраны и количеству окрашенных клеток, согласно общепринятым критериям (score 0, 1+, 2+, 3+): score 0 — полное отсутствие мембранного окрашивания или при окрашивании менее 10 % клеток; score 1+ — неполное окрашивание мембран у более 10 % клеток слабой интенсивности; score 2+ — полное окрашивание мембраны более 10 % клеток средней интенсивности; score 3+ — полное окрашивание мембраны более 10 % клеток высокой интенсивности.

При оценке экспрессии Her-2/neu в 0,1+ балла — опухоль считалась отрицательной по Her-2/neu, в 3+ балла — положительной. При оценке исследуемого показателя в 2+ балла определяли уровень амплификации Her-2/neu методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH).

Опухоль считали позитивной по рецепторам стероидных гормонов при окрашивании ядер более 10 % клеток высокой интенсивности, слабопозитивной при неполном либо полном окрашивании ядер 1–10 % клеток любой интенсивности, отрицательной при окрашивании ядер менее 1 % клеток.

Прролиферативная активность опухолевых клеток оценивалась по ядерному окрашиванию более 10 % опухолевых клеток в области максимальной экспрессии маркера. Высокая пролиферативная активность опухоли соответствовала экспрессии Ki-67 в ≥20 % клеток, низкая экспрессия Ki-67 – в <20 % клеток.

Опухоль являлась положительной по p53 при окраске более 5 % ядер опухолевых клеток, причем слабо позитивной – при 6–30 %, умеренно позитивной – при 31–70 % и сильно позитивной – при 71–100 %.

Биологическим материалом для проведения молекулярно-генетических исследований явилась опухолевая ткань молочной железы, фиксированная формалином и заключенная в парафин. Определение уровня экспрессии панели микроРНК осуществлялось методом ПЦР в режиме реального времени.

Этапы метода: выделение общей фракции мРНК из образцов опухолевой ткани молочной железы; синтез двухцепочечной комплементарной дезоксирибонуклеиновой кислоты (кДНК) – реакция обратной

транскрипции (ОТ); амплификация в режиме реального времени фрагментов кДНК генов микроРНК, с использованием геноспецифичных олигонуклеотидных праймеров и анализ полученных результатов.

Выделение РНК их образцов опухолевой ткани проводили с использованием набора реагентов «miR-NeasyFFPEKit» (Qiagen, Германия) согласно инструкции производителя. Определение чистоты и концентрации выделенной общей фракции клеточной РНК проводили на спектрофотометре.

Для синтеза кДНК использовали набор «NCode™ VILO™ miRNA cDNA Synthesis Kit» (Invitrogen, США).

Исследование экспрессии микроРНК miR-155, miR-373, miR-21 осуществляли с использованием набора реагентов EXPRESS SYBR® GreenER™ miRNA qRT-PCR Kits (Invitrogen, США).

Оценка уровня экспрессии микроРНК производилась с использованием метода $2^{-\Delta\Delta C_p}$. Для определения пороговых значений в экспрессии исследуемого спектра микроРНК использовали 20 образцов нормальной ткани молочной железы, забранных у пациенток, получивших хирургическое лечение по поводу доброкачественных заболеваний молочных желез.

Для определения экспрессии исследуемой панели микроРНК с помощью программы OriginPro v.8.1 получали значения максимума второй производной для каждого образца нормальной и опухолевой ткани молочной железы. Полученные численные значения обозначали как C_p .

Полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени для выявления уровня экспрессии микроРНК проводили с использованием амплификатора 7300 Real Time PCR System фирмы «Applied Biosystems» (США).

Статистическая обработка данных выполнялась с помощью программного обеспечения SPSS (версия 21, США), STATISTICA (версия 10, США) и включала проверку нормальности распределения количественных показателей в выборке с использованием критерия Shapiro-Wilk. Количественные значения показателей не подчинялись нормальному закону распределения и описывались в виде медиано-квартильных характеристик: медианы, 25-го и 75-го перцентилей – Me (25–75 %). При изучении статистических различий исследуемых показателей использовали критерии Mann–Whitney и Kruskal–Wallis, для апостериорных сравнений применяли критерий Dunn. Сравнение категориальных переменных осуществляли посредством критериев Pearson's и Fisher–Freeman–Halton.

Анализ безрецидивной и скорректированной выживаемости проводился методом Kaplan–Meier, статистическая значимость полученных различий в выживаемости оценивалась при помощи теста Log–rank.

Во всех случаях различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В исследуемой группе пациенток эстроген-положительные опухоли диагностированы в 67,5 %, эстроген-отрицательные – в 32,5 % наблюдениях (рис. 1).

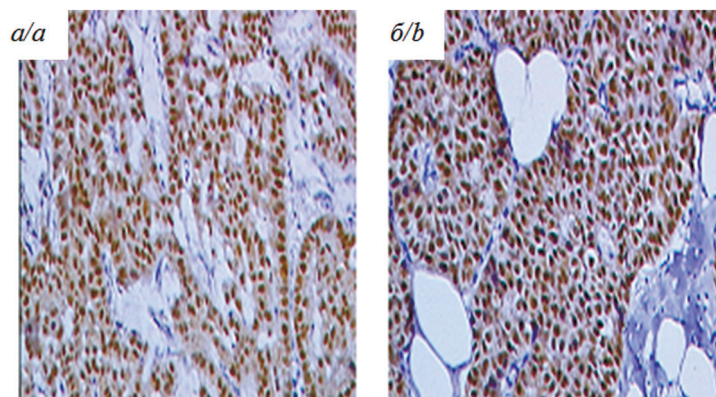


Рис. 1. Ядерная экспрессия рецепторов стероидных гормонов в опухолевых клетках при РМЖ $\times 40$:
а – экспрессия рецепторов эстрогенов; б – экспрессия рецепторов прогестерона

Fig. 1. Nuclear expression of steroid hormone receptor sin tumor cells in breast cancer $\times 40$:
a – expression of estrogen receptors; b – progesterone receptor expression

Положительный статус по рецепторам прогестерона в первичной опухоли отмечен у 58,3 %, у 41,7 % пациенток экспрессия рецепторов прогестерона отсутствовала.

Козэкспрессия гормональных рецепторов (РЭ+РП+), а также отсутствие их экспрессии (РЭ–РП–) диагностировано у 55,8 % и 32,5 % пациенток соответственно. Положительный статус опухоли по рецепторам эстрогенов и отрицательный по рецепторам прогестерона (РЭ+РП–) выявлен в 9,2 % наблюдениях.

Иммуногистохимический анализ экспрессии выявил положительный статус (score3+) опухоли по Her-2/neu у 32,5 % пациенток, отрицательный (score0, 1+) – 67,5 % (рис. 2).

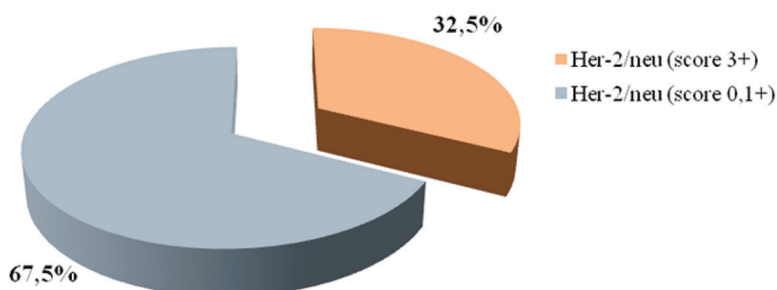


Рис. 2. Распределение пациенток в зависимости от статуса опухоли по Her-2/neu

Fig. 2. Distribution of patients depending on the status of the tumor by Her-2 / neu

Системный рецидив РМЖ установлен у 31,3 % пациенток, отсутствие возврата заболевания детектировано в 68,7 % случаях.

Высокая экспрессия белка пролиферативной активности опухоли (Ki-67 ≥ 20 %) диагностирована у 59,5 %, низкая (Ki-67 ≤ 20 %) – в 40,5 %.

Повышенный уровень экспрессии белка p53 выявлен у 43 % пациенток, при этом высокий (71–100 %) уровень экспрессии установлен в 11,5 % случаях, умеренный – в 16,2 %, низкий – в 14,9 % наблюдениях. Отрицательный (≤ 5 %) статус опухоли по p53 установлен у 57 % пациенток, страдающих РМЖ.

Проведенный сравнительный анализ экспрессии тканевых антигенов в зависимости от гормонального статуса РМЖ показал преобладание высокой экспрессии Ki-67 у пациенток с отрицательным рецепторным статусом РМЖ ($n = 41$; 78,9 %) ($p_{\text{Pearson's } \chi^2} = 0,002$). В группе пациенток с наличием экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона в опухоли высокий индекс пролиферативной активности Ki-67 установлен в 49,5 % случаях. У пациенток с эстроген-положительным и прогестерон-отрицательным РМЖ высокая экспрессия антигена диагностирована в 53,3 % наблюдениях.

Следует отметить, что характер экспрессии белка p53 не зависел от уровня экспрессии рецепторов стероидных гормонов в опухоли ($p > 0,05$).

Анализ данных современной литературы показал, что взаимосвязь уровней экспрессии тканевых белков с клинико-морфологическими характеристиками РМЖ носит неоднозначный характер и требуют дальнейшего изучения.

В анализируемой группе пациенток, страдающих РМЖ, установлены aberrантные нарушения в экспрессии микроРНК miR-155 у 25,2 %, miR-21 – у 69,8 %, miR-373 – у 15,7 %.

У пациенток с РМЖ отмечен высокий уровень экспрессии (свыше 4,46 отн. ед.) онкогенной miR-155.

Аберрантная экспрессия miR-373 при РМЖ характеризовалась увеличением ее уровня в диапазоне от 6,15 отн. ед. до 35,9 отн. ед.

Оценка уровня экспрессии miR-21 при прогрессировании опухолевого процесса и/или развитии метастатического поражения при РМЖ имеет решающее клиническое значение для стратификации пациентов в группу неблагоприятного прогноза и персонализированной интенсификации лечения данной категории пациенток.

Результаты выполненного исследования свидетельствуют, что при повышенном значении ($> 5,53$ отн. ед.) уровня экспрессии miR-21 у пациенток, страдающих РМЖ, отмечено развитие рецидива заболевания в раннем послеоперационном периоде и неблагоприятный прогноз в отношении выживаемости, а при пониженном значении ($< 0,18$ отн. ед.) экспрессии данного маркера установлено увеличение общей выживаемости пациенток от 2 и более лет в раннем послеоперационном периоде.

Особо следует отметить, что повышенные уровни экспрессии miR-21 наиболее часто выявлялись при протоковой карциноме молочной железы с локальной распространенностью опухолевого процесса II стадии и умеренной или низкой степенью дифференцировки опухоли.

Анализ экспрессии онкогенных микроРНК в зависимости от возраста пациенток, стадии РМЖ, размера первичного очага, статуса регионарных лимфатических узлов, степени дифференцировки опухо-

ли, уровня экспрессии рецепторов стероидных гормонов не выявил статистически значимого различия между подгруппами ($p > 0,05$).

Наряду с этим, выявлена ассоциация высокого уровня экспрессии miR-155 ($p_{\text{Pearson's } \chi^2} = 0,009$) и miR-21 ($p_{\text{Pearson's } \chi^2} = 0,006$) с Her-2/neu-положительными опухолями молочной железы (рис. 3).

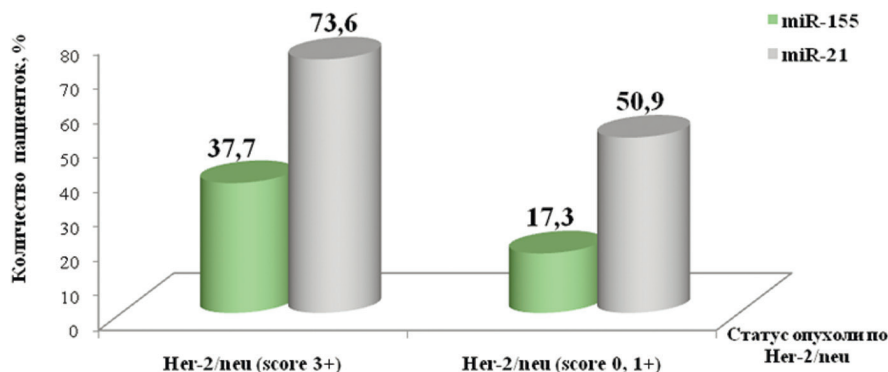


Рис. 3. Аберрантная экспрессия miR-21 и miR-155 в зависимости от статуса РМЖ по Her-2/neu

Fig. 3. Aberrant expression of miR-21 and miR-155 depending on the status of breast cancer by Her-2 / neu

Следует отметить, что уровень экспрессии miR-21 выше в группе пациенток с Her-2/neu-положительным статусом РМЖ, чем у пациенток с Her-2/neu-отрицательным РМЖ ($p_{\text{Mann-Whitney}} = 0,006$).

Уровень экспрессии miR-155 при РМЖ с Her-2/neu-положительным статусом также выше, чем при Her-2/neu-отрицательных опухолях молочной железы ($p_{\text{Mann-Whitney}} = 0,009$).

Проведенный углубленный анализ экспрессии тканевого антигена p53 и микроРНК miR-155, miR-373 установил высокий риск развития рецидива заболевания в раннем послеоперационном периоде (до 2 лет) со снижением безрецидивной выживаемости при наличии умеренной/низкой экспрессии miR-155, гиперэкспрессии miR-373 и p53 у пациенток, страдающих раком молочной железы.

Таким образом, анализ полученных результатов показал наличие значительных нарушений в системе онкогенных микроРНК miR-21, miR-155, miR-373 при РМЖ.

Заключение

Таким образом, в результате исследования:

1. Аберрантные нарушения в системе микроРНК выявлены у 93,9 % пациенток, страдающих раком молочной железы. При раке молочной железы установлены высокие уровни экспрессии онкогенных микроРНК miR-21, miR-155, miR-373.

2. Высокие уровни экспрессии онкогенных микроРНК miR-21 ($p_{\text{Pearson's } \chi^2} = 0,006$) и miR-155 ($p_{\text{Pearson's } \chi^2} = 0,009$) преобладали при Her-2/neu-положительном раке молочной железы. Выявлена взаимосвязь высокой экспрессии антигена пролиферативной активности Ki-67 с отрицательным статусом РМЖ по рецепторам стероидных гормонов ($p_{\chi^2} = 0,002$).

3. Высокий уровень экспрессии микроРНК miR-21 (свыше 5,53 отн. ед.) позволяет прогнозировать высокий агрессивный морфотип опухоли и высокий риск развития рецидива заболевания в раннем послеоперационном периоде (до 2 лет), что является независимым фактором неблагоприятного прогноза и снижение бессобытийной и общей выживаемости ($p < 0,05$).

4. Установлено, что уровень экспрессии miR-155 ($p = 0,015$), miR-373 ($p < 0,001$) и белка-регулятора клеточного цикла p53 ($p < 0,001$) являются независимыми прогностическими факторами при оценке риска рецидива заболевания у пациенток, страдающих РМЖ.

Библиографические ссылки

1. Океанов А. Е., Моисеев П. И., Левин Л. Ф. Статистика онкологических заболеваний в Республике Беларусь (2006–2015). Минск, 2016.
2. Кулигина Е. Ш. Эпидемиологические и молекулярные аспекты рака молочной железы // Практическая онкология. 2010. Т. 11, № 4. С. 203–216.
3. Joensuu H., Isola J., Lundin M., et al. Amplification of erbB2 and erbB2 expression are superior to estrogen receptor status as risk factors for distant recurrence in pT1N0M0 breast cancer // Clin. Cancer Res. 2003. Vol. 9. P. 923–930.
4. Bombonati A., Sgroi D. C. The molecular pathology of breast cancer progression // J. Pathol. 2011. Vol. 223. P. 307–317.

5. Piva R., Spandidos D. A., Gambari R. From microRNA functions to microRNA therapeutics: Novel targets and novel drugs in breast cancer research and treatment (Review) // *International Journal of Oncology*. 2013. Vol. 43. P. 985–994.
6. Enders K. O. Ng., Chris L. P. Wong, Edmond S. K. Ma, et al. MicroRNAs as new players for diagnosis, prognosis, and therapeutic targets in breast cancer // *Journal of Oncology*. 2009. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19644558> (date of access: 16.02.2017).
7. Wang Wei, Luo Yun-ping MicroRNAs in breast cancer: oncogene and tumor suppressors with clinical potential // *Biomed & Biotech*. 2015. Vol. 16, № 1. P. 18–31.
8. Sayed D. Abdellatif M. MicroRNAs in development and disease // *Physiol. Rev*. 2011. Vol. 91. P. 827–887.
9. Hui Zeng, Cheng Fang, Seungyoon Nam, et al. The clinicopathological significance of microRNA-155 in breast cancer: a meta-analysis // *BioMed Research International*. 2014. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4137503> (date of access: 16.02.2017).
10. Eleni van Schooneveld, Hans Wildiers, Ignace Vergote, et al. Dysregulation of microRNAs in breast cancer and their potential role as prognostic and predictive biomarkers in patient management // *Breast Cancer Research*. 2015. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25849621> (date of access: 16.02.2017).
11. Clark G. M. G., Allred D. C., Hilsenbeck S. G., et al. Mitosin (a new proliferation marker) correlates with clinical outcome in node-negative breast cancer // *Cancer Res*. 1997. Vol. 57. P. 5505–5508.

References

1. Okeanov A. E., Moiseev P. I., Levin L. F. [Statistics of oncological diseases in the Republic of Belarus (2006–2015)]. Minsk, 2016 (in Russ.).
2. Kuligina E. Sh. [Epidemiological and molecular aspects of breast cancer] *Practical oncology*. 2010. Vol. 11, No. 4. P. 203–216 (in Russ.).
3. Joensuu H., Isola J., Lundin M., et al. Amplification of erbB2 and erbB2 expression are superior to estrogen receptor status as risk factors for distant recurrence in pT1N0M0 breast cancer. *Clin. Cancer Res*. 2003. Vol. 9. P. 923–930.
4. Bombonati A., Sgroi D. C. The molecular pathology of breast cancer progression. *J. Pathol*. 2011. Vol. 223. P. 307–317.
5. Piva R., Spandidos D. A., Gambari R. From microRNA functions to microRNA therapeutics: Novel targets and novel drugs in breast cancer research and treatment (Review). *International J. of Oncology*. 2013. Vol. 43. P. 985–994.
6. Enders K. O. Ng., Chris L. P. Wong, Edmond S. K. Ma, et al. MicroRNAs as new players for diagnosis, prognosis, and therapeutic targets in breast cancer. *J. of Oncology*. 2009. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19644558> (date of access: 16.02.2017).
7. Wang Wei, Luo Yun-ping MicroRNAs in breast cancer: oncogene and tumor suppressors with clinical potential. *Biomed & Biotech*. 2015. Vol. 16, No. 1. P. 18–31.
8. Sayed D. Abdellatif M. MicroRNAs in development and disease. *Physiol. Rev*. 2011. Vol. 91. P. 827–887.
9. Hui Zeng, Cheng Fang, Seungyoon Nam, et al. The clinicopathological significance of microRNA-155 in breast cancer: a meta-analysis. *Bio Med Research International*. 2014. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4137503> (date of access: 16.02.2017).
10. Eleni van Schooneveld, Hans Wildiers, Ignace Vergote, et al. Dysregulation of microRNAs in breast cancer and their potential role as prognostic and predictive biomarkers in patient management. *Breast Cancer Research*. 2015. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25849621> (date of access: 16.02.2017).
11. Clark G. M. G., Allred D. C., Hilsenbeck S. G., et al. Mitosin (a new proliferation marker) correlates with clinical outcome in node-negative breast cancer. *Cancer Res*. 1997. Vol. 57. P. 5505–5508.

Статья поступила в редколлегию 26.06.2018
Received by editorial board 26.06.2018