

Молекулярно-генетические маркеры рака молочной железы

К.А. Гришина¹, Т.А. Музаффарова¹, В.А. Хайленко², А.В. Карпукhin¹

¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»; Россия, 115478, Москва, ул. Москворечье, 1;

²ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Александр Васильевич Карпукhin karpukhin@med-gen.ru

Рак молочной железы (РМЖ) является 2-м по распространенности типом рака во всем мире и затрагивает 1 из 8 женщин в течение жизни. Персонализированный подход к лечению РМЖ способен существенно повысить эффективность лечения и, соответственно, сохранить деятельную жизнь многих людей. Это стимулирует исследователей и врачей к более глубокому изучению биологии опухоли для правильной диагностики, определения риска рецидива и подбора адекватной терапии. В данной статье рассматриваются основы молекулярной классификации РМЖ на экспрессионные подтипы, современные прогностические наборы, которые помогают врачам-онкологам в классификации подтипов рака и прогнозе развития заболевания. Имеющиеся тест-системы не универсальны, каждая из них применима только к ограниченной группе больных, но в совокупности они охватывают значительное число случаев. Охарактеризованные современными методами мутации в генах опухоли при РМЖ в ряде случаев способны служить предиктивными маркерами эффективности таргетной терапии.

Ключевые слова: рак молочной железы, молекулярная классификация, экспрессионные подтипы, современные прогностические системы, мутации

DOI: 10.17 650/1994-4098-2016-12-3-36-42

Molecular genetic markers of breast cancer

K.A. Grishina¹, T.A. Muzaffarova¹, V.A. Khaylenko², A.V. Karpukhin¹

¹Research Center of Medical Genetics; 1 Moskvorech'e St., Moscow, 115478, Russia;

²N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow, 115478, Russia

Breast cancer (BC) is the second most common type of cancer worldwide and affects 1 in 8 women over the course of their lifetime. A personalized approach to treating BC can substantially increase efficiency and consequently maintain the active life of many people. This encourages investigators and physicians to better understand tumor biology in order to make a correct diagnosis, to determine recurrence risk, and to choose adequate therapy. This paper discusses the bases for the molecular classification of BC into its expression subtypes, as well as current prognostic kits that assist oncologists in classifying the subtypes of cancer and in predicting the development of the disease. The existing test systems are not universal, each of them is applicable only to a limited group of patients, but they totally cover a considerable number of cases. The tumor gene mutations in BC, which have been characterized by up-to-date methods, can serve as predictive markers for the efficiency of targeted therapy.

Key words: breast cancer, molecular classification, expression subtypes, current prognostic systems, mutations

Введение

Рак молочной железы (РМЖ), злокачественная опухоль железистой ткани молочной железы, является одним из самых распространенных видов рака у женщин, им болеют около 12 % женского населения во всем мире. С РМЖ связано 14 % всех случаев рака, приводящих к смертельному исходу. РМЖ заболевают 1,3 млн женщин каждый год, что составляет 23 % всех случаев рака. Хотя хирургическое вмешательство является основным методом лечения, большое значение имеет адъювантная химиотерапия. До 40 % пациентов с I–II стадиями имеют рецидив болезни после хирургического вмешательства [1]. Этот факт, а также развитие персонализированной медицины ставит задачу более точного прогнозирования течения заболевания, связанного с этим объема хирургического вмешательства,

а также выбора средств таргетной терапии у больных РМЖ. В таком плане исследуются различные молекулярно-генетические биомаркеры рака, такие как мутации в геноме больных РМЖ и уровень экспрессии генов, ответственных за развитие заболевания.

РМЖ — гетерогенное заболевание, что подразумевает различия в типах морфологии опухоли и экспрессионных подтипах. Поскольку РМЖ несет широкий спектр мутаций генов в геномах, то они также могут служить маркерами в диагностике и лечении РМЖ. Быстрый прогресс в технологии секвенирования нового поколения (next-generation sequencing, NGS) привел к получению большого количества данных о мутациях [2]. Введение анализа экспрессионных микрочипов и быстрое продвижение в технологии обработки данных внесло огромный вклад в углубление знаний исследователей о молекулярных

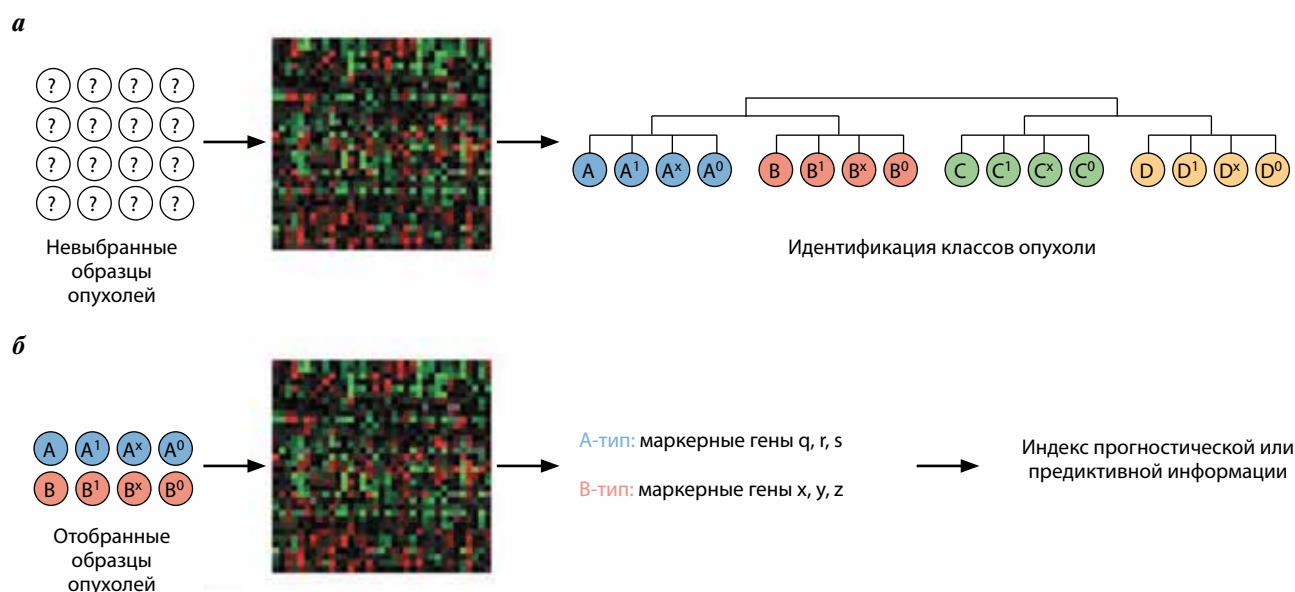


Рис. 1. Два пути изучения опухолей больных на основе определения экспрессионного профиля: а — исследования, направленные на выявление различных подгрупп среди смешанной популяции больных раком молочной железы с аналогичными изменениями в геноме и маркерами; б — исследования по поиску маркеров для прогноза развития заболевания или предсказания ответа на терапию. Анализируют отдельные группы пациентов, чтобы идентифицировать маркеры с наибольшими изменениями [4]

нарушениях в раковой клетке. Текущая задача состоит в том, чтобы наилучшим образом использовать большой объем накопленных данных для поиска маркеров, полезных врачам-онкологам при постановке диагноза, и выбора адекватного лечения [3].

Обнаруженная вариация опухолей больных на молекулярном уровне привела к формированию 2 путей изучения клинической значимости различий экспрессионных профилей (рис. 1). Некоторые исследования были направлены на систематизацию больных РМЖ, которая могла бы определить различные подтипы опухоли, в то время как другие были предназначены для выяснения конкретных изменений в целях предсказания результата действия терапии и имеющих прогностическое значение [4]. Некоторые исследования, основанные на анализе микрочипов, были направлены на выявление таких параметров, как прогноз рецидива заболевания [5] и склонность к метастазированию [6]. Наиболее актуальное направление, развивающееся в последнее время, посвящено поиску биомаркеров РМЖ, которые могут предсказать развитие и исход заболевания или ответ на терапию, а также позволят создать и дополнить молекулярную классификацию РМЖ.

Молекулярная классификация рака молочной железы

В работе Т. Sørlie и соавт. [7] были определены основные подтипы РМЖ, связанные с изменениями в экспрессионном профиле определенных генов, участвующих в развитии РМЖ. Исследование проводили на 78 образцах ткани молочной железы, всего анализировали экспрессию 1753 генов, что позволило

статистическим методом с помощью кластерного иерархического анализа выделить 4 группы больных ($p < 0,001$): люминальный А подтип, люминальный В подтип, базальноподобный (трижды негативный, triple negative) подтип и HER-2⁺ подтип, каждый из которых имеет разный прогноз и свои перспективные мишени для терапии [8]. Для молекулярной классификации использовали маркеры [9], позволяющие охарактеризовать подтипы:

- люминальный А подтип (30–45 %): эстроген-зависимые малоагрессивные опухоли, избытка экспрессии рецепторов белка HER-2 нет (положительные по рецепторам эстрогенов (ER) и/или рецепторам прогестерона (PR), HER-2⁻), отличается высокой экспрессией гена *ER-α*, GATA-связывающего белка 3, X-box-связывающего белка 1, ядерного фактора гепатитов 3α и эстрогенрегулируемого LIV-1;

- люминальный В подтип (14–18 %): эстроген-зависимые агрессивные опухоли, выражена амплификация онкогена *HER-2* (ER⁺ и/или PR⁺, HER-2⁺), также выражена экспрессия гена *ER*, нескольких факторов транскрипции, люминально-специфических генов, особенностью является наличие набора высокой экспрессии генов, чья функция неизвестна, но она также повышена при базальноподобном и HER-2⁺ подтипах;

- HER-2⁺ (8–15 %): эстрогеннезависимые агрессивные опухоли, выражена амплификация онкогена *HER-2* (ER⁻, PR⁻, HER-2⁺), характеризуется высоким уровнем экспрессии генов *ERBB2* и *GRB7*;

Таблица 1. Молекулярные подтипы рака молочной железы и ключевые изменения в геномике опухоли [11]

Молекулярный подтип	Экспрессия рецепторов [9]	Доля подтипов [9]	Изменения в геномике
Люминальный А	ER ⁺ и/или PR ⁺ , HER-2 ⁻	30–45 %	Мутации в генах <i>PIK3CA</i> , <i>MAP3K1</i> , <i>GATA3</i> , <i>FOXA1</i> , выраженная экспрессия генов <i>ESR1</i> , <i>XBP1</i>
Люминальный В	ER ⁺ и/или PR ⁺ , HER-2 ⁺	14–18 %	Мутации в генах <i>TP53</i> , <i>PIK3CA</i> , амплификации циклина D1, <i>MDM2</i> , потеря гена <i>ATM</i>
HER-2 ⁺	ER ⁻ , PR ⁻ , HER-2 ⁺	8–15 %	Мутации в генах <i>TP53</i> , <i>PIK3CA</i> , <i>APOBEC</i> , амплификации <i>HER2</i> , циклина D1
Базальноподобный	ER ⁻ , PR ⁻ , HER-2 ⁻	27–39 %	Мутации в гене <i>TP53</i> , потеря генов <i>RBI</i> , <i>BRCA1</i> , активация <i>FOXO1</i>

Примечание. ER – рецепторы эстрогенов; PR – рецепторы прогестерона.

• базальноподобный (triple negative) подтип (27–39 %): эстрогеннезависимые агрессивные опухоли, избытка экспрессии рецепторов HER-2 нет, наихудшие показатели выживаемости (ER⁻, PR⁻, HER-2⁻), характеризуется высоким уровнем экспрессии цитокератинов 5 и 17, ламинина, белка 7, связывающего жирные кислоты, выражена экспрессия базальных эпителиальных генов. Наиболее часто определяется высокая экспрессия *EGFR* [10].

Недавние исследования, основанные на применении NGS, показали, что экспрессионные подтипы содержат различные классы мутаций (табл. 1) [11], что представляет значительный интерес для углубления знаний о биологии РМЖ. Масштабное исследование люминального А подтипа РМЖ с помощью NGS с высоким покрытием выявило около 1700 генных мутаций, но только 3 из этих генов мутировали с высокой частотой – *PIK3CA* (43,0 %), *TP53* (15,2 %), и *MAP3K1* (9,3 %) [12]. Мутации в гене *TP53* чаще происходят у больных с базальноподобным и HER-2⁺ подтипами РМЖ, в то время как мутация в гене *PIK3CA* часто встречается при РМЖ люминального А подтипа [13]. Это показывает связь мутаций в генах опухоли с молекулярными подтипами, однако этого недостаточно для создания более точной классификации [14].

Существенно, что в исследовании по проекту «Атлас ракового генома» (The Cancer Genome Atlas Project, TCGA) при массовом определении основных характеристик генома (экспрессия микроРНК и мРНК, метилирование, копияность генов и экспрессия на белковом уровне) в одних и тех же опухолях были выделены 4 основные группы, соотносящиеся с рассмотренными выше подтипами [15]. Это указывает на связь классификации по экспрессии генов с большинством процессов в геноме раковой клетки при РМЖ.

Между тем совпадение иммуногистохимической и молекулярной классификации далеко не полное. Для преодоления этой проблемы и более точной классификации, основанной на экспрессии генов, разрабатываются подходы, позволяющие повысить надежность отнесения опухоли к тому или иному типу

с использованием наиболее распространенной тест-системы PAM50 [16].

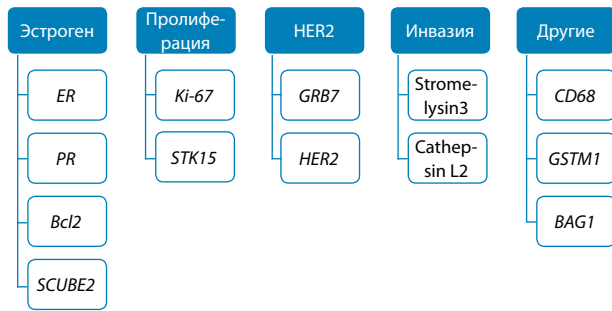
Выделение рассмотренных подтипов имеет не только классификационное, но и клиническое значение. В частности, при гормон-рецептор-положительном и HER-2⁻ РМЖ люминальные А и В подтипы предсказывают 10-летнюю выживаемость независимо от системной терапии. При HER-2⁺ заболевании могут быть выделены 4 основные подгруппы, отличающиеся по чувствительности к лекарственному воздействию [17]. При трижды негативном подтипе также были выделены 4 подгруппы, отличающиеся по ответу на неоадьювантную терапию [18].

Более точные предсказания развития РМЖ могут быть сделаны с помощью современных прогностических систем.

Современные прогностические системы

Прогностические маркеры направлены на выявление групп больных РМЖ с разным прогнозом течения болезни. Маркеры также имеют значение для определения групп пациентов с наилучшим ответом на лечение и наименьшими побочными эффектами от приема препаратов. На сегодняшний день наиболее авторитетными маркерами при РМЖ являются эстрогеновый рецептор и HER-2-рецептор. Оба маркера несут прогностическую информацию, а также являются мишенями для таргетной терапии. Несмотря на очевидную пользу определения этих маркеров у больных РМЖ, врачу-онкологу важно помнить, что не все опухолевые клетки у пациента, например, с ER⁺ подтипом РМЖ имеют данный рецептор [19]. Это привело исследователей к разработке коммерческого набора Oncotype DX, который оценивает уровень экспрессии 21 гена, подразделяя ER⁺ подтип РМЖ на группы с высоким или низким риском рецидива заболевания. Характеристики опухолей РМЖ, при которых возможно использование рассматриваемых здесь прогностических систем, указаны в соответствии с рекомендациями Американского общества клинических онкологов [20].

Гены, ассоциированные с раком молочной железы



5 референсных генов: β -actin, GAPDH, RPLPO, GUS, TFR5

Рис. 2. Гены, профили экспрессии которых анализируются в коммерческом наборе Oncotype DX [21]

Oncotype DX – коммерческий набор, разработанный в США в 2004 г., который анализирует уровень экспрессии 21 гена (5 референсных и 16 выбранных) методом количественной полимеразной цепной реакции. Анализируемые гены связаны с ER и HER-2, пролиферацией и инвазией (рис. 2). Их экспрессия определяется среди больных с ER⁺/PR⁺, HER-2⁻ РМЖ без метастазов в лимфатические узлы [21]. Данный набор не должен назначаться больным с HER-2⁺ или базальноподобными подтипами.

Клинические данные свидетельствуют о 15 % вероятности возникновения рецидива заболевания в течение 10 лет у больных ER⁺ РМЖ, которые принимают только тамоксифен, у многих из них проявляются побочные эффекты. Это привело исследователей к созданию набора для помощи врачу-онкологу при назначении адъювантной химиотерапии больным РМЖ с высоким риском рецидива и выживаемостью в течение 10 лет после установления диагноза [22]. Результат теста выражается как показатель риска рецидива и колеблется от 0 до 100, что делит пациентов на 3 категории: низкого (< 18), среднего (18–30) и высокого (\geq 31) риска рецидива [23].

Для анализа экспрессии генов, оценки прогноза рецидива заболевания и помощи врачам-онкологам в определении оптимальной индивидуальной программы лечения используют также такие технологии паттернов экспрессии, как MammaPrint, PAM50, Breast Cancer Index, Blueprint и EndoPredict.

Технология MammaPrint является самой первой панелью экспрессии генов, одобренной Food and Drug Administration в феврале 2007 г. Микрочипы состоят из 70 классифицирующих генов, которые в результате многочисленных исследований показали различие в паттернах экспрессии между группами пациентов с высоким или низким риском рецидива в течение 10 лет [24]. Тест выполняется на образцах опухоли [25]. Не назначается больным с ER⁺/PR⁺, HER-2⁺/–, базальноподобными подтипами РМЖ.

PAM50 для предсказания риска рецидива является наиболее современной технологией, получившей одобрение FDA в сентябре 2013 г. Особенностью является использование новой цифровой технологии, которая позволяет измерять несколько транскриптов с высокой чувствительностью. Панель состоит из 53 классификационных и 5 референсных генов, которые участвовали в классификации РМЖ по экспрессионным подтипам [26]. Данная панель показала высокую способность к прогнозированию риска рецидива заболевания. Назначается больным с ранней стадией инвазивного ER⁺/PR⁺ РМЖ в постменопаузе после 5 лет гормонального лечения, у которых есть метастазы не более чем в 3 лимфатических узла. Врач-онколог использует тест для решения о дальнейшей гормональной терапии больной, имеющей высокий риск рецидива, при назначении тамоксифена. Исследования показали, что прием тамоксифена в течение 10 лет вместо 5 снижает риск рецидива заболевания и улучшает общую выживаемость у женщин с высоким риском рецидива. Тест выполняется на образцах опухоли [27].

Технология Breast Cancer Index оценивает отношение экспрессии 2 генов (*HOXB13* и *IL17BR*) на основе количественной полимеразной цепной реакции в сочетании с молекулярным индексом Grade. Молекулярный индекс Grade является выражением 5 генов, которые связаны с гистологической характеристикой и прогрессированием опухоли [28]. Анализируя экспрессию 7 генов, технология предсказывает риск рецидива для больных ER⁺/PR⁺, HER-2⁻ РМЖ на ранней стадии без метастазов в лимфатические узлы, а также помогает в принятии решения о продлении гормональной терапии после 5 лет приема [29].

Коммерческий набор Blueprint позволяет использовать профили 80 генов для молекулярной классификации (люминальный подтип – 58 генов, HER-2⁺ – 4, базальноподобный подтип – 28), оказывая помощь в терапевтическом процессе принятия решений о назначении неoadъювантной терапии [30].

Тест EndoPredict, получивший одобрение в Европе, анализирует экспрессионный уровень 12 генов в клетках РМЖ, что позволяет определить низкий или высокий риск отдаленного метастазирования. Назначается больным ER⁺/PR⁺, HER-2⁻ РМЖ на ранней стадии без метастазов в лимфатические узлы (или с наличием до 3 метастазов) для решения о проведении химиотерапии [31].

Применение молекулярной классификации и рассмотренных тестов позволяет более точно персонифицировать лечение РМЖ и повысить его эффективность, что отражено и в рекомендациях St. Gallen (2015) [32].

Некоторые другие подходы к персонификации терапии РМЖ рассмотрены в работе [33].

Мутации в опухолях при раке молочной железы

При исследовании 776 образцов опухолевой ткани методом NGS были выявлены основные мутации в генах и их частота (табл. 2) [34]. Как следует из данных табл. 2, наиболее часто мутации находят в генах *PIK3CA* и *TP53* — в более чем 1/3 образцов РМЖ. Установлено, что *PIK3CA* обладает онкогенной активностью, а *TP53* — онкосупрессор опухоли. Мутации в обоих генах выявляются при многих онкологических заболеваниях. Ген *PIK3CA* может быть многообещающей мишенью для таргетной терапии РМЖ, учитывая высокую частоту мутаций в данном гене [35]. Ген-супрессор опухоли *TP53* мутирует более чем в половине всех случаев онкологических заболеваний у человека. Следовательно, противоопухолевые препараты, связанные с восстановлением его функции, могут быть потенциально эффективными для большого числа больных раком.

Гены *BRCA1* и *BRCA2* экспрессируются в нормальных клетках и участвуют в поддержании стабильности генома, в частности в гомологичной рекомбинации при репарации разрывов двухцепочечной ДНК. Герминальные мутации этих генов приводят к возникновению наследственного РМЖ и рака яичников (20–25 % всех случаев наследственного РМЖ, 15 % случаев рака яичников) [36]. Идентифицировано около 1000 мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*, многие из которых связаны с повышенным риском развития рака (особенно РМЖ у женщин). Также было проведено исследование, показывающее, что гиперэкспрессия *ANXA1* (белок, который регулирует секрецию гормона, деградацию EGFR, мембранный транспорт, апоптоз и дифференцировку клеток, связан с канцерогенезом) у больных наследственным РМЖ с мутацией в *BRCA1* или *BRCA2* коррелирует с плохим прогнозом [37]. Врачи-онкологи принимают во внимание герминальные мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2* при выборе объема хирургического вмешательства.

GATA3 кодирует белок, который принадлежит к семейству транскрипционных факторов GATA, а также регулирует дифференцировку люминальной эпителиальной клетки в молочной железе [38]. Из табл. 2 следует, что *GATA3* является 3-м наиболее часто мутирующим геном РМЖ в образцах ткани (около 10 %). Потеря экспрессии этого гена-супрессора опухоли была связана с плохим прогнозом для больных РМЖ.

ERBB2, известный как *HER2/neu*, является хорошо изученным онкогеном, который связан с развитием и прогрессированием РМЖ у 15–20 % больных. Гиперэкспрессия *ERBB2* была связана с высоким риском рецидива РМЖ. Амплификация рецептора HER2 является прогностическим маркером, а также молекулярной мишенью для таргетной терапии трастузумабом, пертузумабом и лапатинибом. Соматические мутации в гене *HER2* выявляются с частотой 1,68 %

Таблица 2. Гены с наиболее частыми мутациями в опухоли при раке молочной железы [32]

Ген	Частота мутаций, %
<i>PIK3CA</i>	33,89
<i>TP53</i>	33,25
<i>GATA3</i>	10,44
<i>MAP3K1</i>	7,35
<i>CDH1</i>	7,09
<i>MAP2K4</i>	4,12
<i>PTEN</i>	3,74
<i>RUNX1</i>	3,22
<i>PIK3R1</i>	2,71
<i>MED12</i>	2,58
<i>AKT1</i>	2,45
<i>NF1</i>	2,45
<i>CTCF</i>	2,32
<i>ATM</i>	2,19
<i>ARID1A</i>	2,06
<i>CBFB</i>	2,06
<i>SPEN</i>	2,06
<i>RB1</i>	1,80
<i>SF3B1</i>	1,80
<i>BRCA2</i>	1,68
<i>ERBB2</i>	1,68
<i>MLL2</i>	1,68
<i>BRCA1</i>	1,55
<i>GRIN2A</i>	1,55
<i>MTOR</i>	1,55
<i>ERBB3</i>	1,42
<i>SETD2</i>	1,42

и находятся преимущественно среди HER-2⁺ подтипов РМЖ, что вызывает устойчивость к таргетной терапии трастузумабом и лапатинибом [39].

Заключение

Исследования последних лет привели к разработке молекулярной классификации РМЖ и ряда прогностических систем, преимущественно на основе экспрессии мРНК в опухоли. Достигнутые результаты дают информацию о характеристиках развития опухоли, риске

рецидива болезни, что необходимо для определения объема хирургического вмешательства и назначения адекватной терапии. Обнаруженные мутации в генах

опухоли при РМЖ выявляют потенциальные мишени таргетной терапии и в ряде случаев способны служить предиктивными маркерами ее эффективности.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Siegel R., Ma J., Zou Z., Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014;64(1):9–29. DOI: 10.3322/caac.21208. PMID: 24399786.
2. Meyerson M., Gabriel S., Getz G. Advances in understanding cancer genomes through second-generation sequencing. *Nat Rev Genet* 2010;11(10):685–96. DOI: 10.1038/nrg2841. PMID: 20847746.
3. Pfeifer G.P., Hainaut P. Next-generation sequencing: emerging lessons on the origins of human cancer. *Curr Opin Oncol* 2011;23(1):62–8. DOI: 10.1097/CCO.0b013e3283414d00. PMID: 21119514.
4. Russnes H.G., Navin N., Hicks J., Borresen-Dale A.L. Insight into the heterogeneity of breast cancer through next-generation sequencing. *J Clin Invest* 2011;121(10):3810–8. DOI: 10.1172/JCI57088. PMID: 21965338.
5. van de Vijver M.J., He Y.D., van't Veer L.J. et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002;347(25):1999–2009. DOI: 10.1056/NEJMoa021967. PMID: 12490681.
6. Wang Y., Klijn J.G., Zhang Y. et al. Gene-expression profiles to predict distant metastasis of lymph-node-negative primary breast cancer. *Lancet* 2005;365(9460):671–9. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)17947-1. PMID: 15721472.
7. Sørlie T., Perou C.M., Tibshirani R. et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98(19):10869–74. DOI: 10.1073/pnas.191367098. PMID: 11553815.
8. Wirapati P., Sotiriou C., Kunkel S. et al. Meta-analysis of gene expression profiles in breast cancer: toward a unified understanding of breast cancer subtyping and prognosis signatures. *Breast Cancer Res* 2008;10(4):R65. DOI: 10.1186/bcr2124. PMID: 18662380.
9. Nielsen T.O., Hsu F.D., Jensen K. et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004;10(16):5367–74. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0220. PMID: 15328174.
10. Yadav B.S., Chanana P., Jhamb S. Biomarkers in triple negative breast cancer: A review. *World J Clin Oncol* 2015;6(6):252–63. DOI: 10.5306/wjco.v6.i6.252. PMID: 26677438.
11. Ellis M.J., Ding L., Shen D. et al. Analysis of luminal-type breast cancer by massively parallel sequencing. Presented Saturday, April 2, 2011 at the 102nd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research in Orlando, Florida, USA.
12. Vuong D., Simpson P.T., Green B. et al. Molecular classification of breast cancer. *Virchows Arch* 2014;465(1):1–14. DOI: 10.1007/s00428-014-1593-7. PMID: 24878755.
13. Hennessy B.T., Gonzalez-Angulo A.M., Stemke-Hale K. et al. Characterization of a naturally occurring breast cancer subset enriched in epithelial-to-mesenchymal transition and stem cell characteristics. *Cancer Res* 2009;69(10):4116–24. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3441. PMID: 19435916.
14. Langerød A., Zhao H., Borgan et al. TP53 mutation status and gene expression profiles are powerful prognostic markers of breast cancer. *Breast Cancer Res* 2007;9(3):R30. DOI: 10.1186/bcr1675. PMID: 17504517.
15. Zhao X., Rødland E.A., Tibshirani R., Plevritis S. Molecular subtyping for clinically defined breast cancer subgroups. *Breast Cancer Res* 2015;17:29. DOI: 10.1186/s13058-015-0520-4. PMID: 25849221.
16. Prat A., Pineda E., Adamo B. et al. Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes of breast cancer. *Breast* 2015;24 Suppl 2:S26–35. DOI: 10.1016/j.breast.2015.07.008. PMID: 26253814.
17. Lehmann B.D., Jovanović B., Chen X. et al. Refinement of triple-negative breast cancer molecular subtypes: implications for neoadjuvant chemotherapy selection. *PLoS One* 2016;11(6):e0157368. DOI: 10.1371/journal.pone.0157368. PMID: 27310713.
18. Perou C.M., Sørlie T., Eisen M.B. et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000;406(6797):747–52. PMID: 10963602.
19. Harris L.N., Ismaila N., McShane L.M. et al. Use of biomarkers to guide decisions on adjuvant systemic therapy for women with early-stage invasive breast cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline. *J Clin Oncol* 2016;34(10):1134–50. DOI: 10.1200/JCO.2015.65.2289. PMID: 26858339.
20. Partin J., Mamounas E. Impact of the 21-gene recurrence score assay compared with standard clinicopathologic guidelines in adjuvant therapy selection for node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2011;18(12):3399–406. DOI: 10.1245/s10434-011-1698-z. PMID: 21537874.
21. Roberts M.C., Weinberger M., Dusetzina S.B. et al. Wheeler racial variation in the uptake of Oncotype DX testing for early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2016;34(2):130–8. DOI: 10.1200/JCO.2015.63.2489. PMID: 26598755.
22. Paik S., Shak S., Tang G. et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2004;351(27):2817–26. DOI: 10.1056/NEJMoa041588. PMID: 15591335.
23. Beumer I., Witteveen A., Delahaye L. et al. Equivalence of MammaPrint array types in clinical trials and diagnostics. *Breast Cancer Res Treat* 2016;156(2):279–87. DOI: 10.1007/s10549-016-3764-5. PMID: 27002507.
24. MammaPrint Test. URL: <http://www.breastcancer.org/symptoms/testing/types/mammaprint>.
25. Yu K., Jiang Y., Hao S., Shao Z.M. Molecular essence and endocrine responsiveness of estrogen receptor-negative, progesterone receptor-positive, and HER2-negative breast cancer. *BMC Med* 2015;13:254. DOI: 10.1186/s12916-015-0496-z. PMID: 26437901.
26. Prosigna Breast Cancer Prognostic Gene Signature Assay. URL: <http://www.breastcancer.org/symptoms/testing/types/prosigna>.
27. Sgroi D.C., Chapman J.A., Badovinac-Crnjevic T. et al. Assessment of the prognostic and predictive utility of the Breast Cancer Index (BCI): an NCIC CTG MA.14 study. *Breast Cancer Res* 2016;18(1):1. DOI: 10.1186/s13058-015-0660-6. PMID: 26728744.
28. Breast Cancer Index Test. URL: <http://www.breastcancer.org/symptoms/testing/types/breast-cancer-index-test>.
29. Ruocco N., Costantini S., Costantini M. Blue-Print autophagy: potential for cancer treatment. *Mar Drugs* 2016;14(7). DOI: 10.3390/md14070138. PMID: 27455284.
30. EndoPredict Test. URL: <http://www.breastcancer.org/symptoms/testing/types/endopredict-test>.
31. Viale G., Slaets L., Bogaerts J. et al. High concordance of protein (by IHC), gene (by FISH; HER2 only), and microarray readout

(by TargetPrint) of ER, PgR, and HER2: results from the EORTC 10041/BIG 03-04 MIND-ACT trial. *Ann Oncol* 2014;25(4):816–23. DOI: 10.1093/annonc/mdl026. PMID: 24667714.

32. Семиглазов В.Ф., Палтуев Р.М., Семиглазов В.В. и др. Общие рекомендации по лечению раннего рака молочной железы St. Gallen 2015, адаптированные экспертами Российского общества онкомаммологов. Опухоли женской репродуктивной системы 2015;11(3):43–60. [Semiglazov V.F., Paltuev R.M., Semiglazov V.V. et al. General St. Gallen-2015 guidelines for the treatment of early breast cancer (adapted by the experts of the Russian Society of Breast Oncologists). *Opukholi zhenskoy reproduktivnoy sistemy* = Tumors of Female Reproductive System 2015;11(3):43–60. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/1994-4098-2015-11-3-43-60.

33. Апанович Н.В., Шубин В.П., Коротаева А.А. и др. Современные молеку-

лярно-генетические маркеры рака молочной железы. Опухоли женской репродуктивной системы 2011;(1):19–28. [Apanovich N.V., Shubin V.P., Korotaeva A.A. et al. Current molecular genetic markers of breast cancer. *Opukholi zhenskoy reproduktivnoy sistemy* = Tumors of Female Reproductive System 2011;(1):19–28. (In Russ.)]. DOI:10.17650/1994-4098-2011-0-1-19-28.

34. Wang X. An exploration of mutation status of cancer genes in breast cancers. *Next Gener Seq Appl* 2014;1:103. DOI: 10.4172/2469-9853.1000103.

35. Cizkova M., Vacher S., Meseure D. et al. PIK3R1 underexpression is an independent prognostic marker in breast cancer. *BMC Cancer* 2013;13:545. DOI: 10.1186/1471-2407-13-545. PMID: 24229379.

36. Pal T., Permuth-Wey J., Betts J.A. et al. *BRCA1* and *BRCA2* mutations account

for a large proportion of ovarian carcinoma cases. *Cancer* 2005;104(12):2807–16. DOI: 10.1002/cncr.21536. PMID: 16284991.

37. Sobral-Leite M., Wesseling J., Smit V. et al. Annexin A1 expression in a pooled breast cancer series: association with tumor subtypes and prognosis. *BMC Med* 2015;13:156. DOI: 10.1186/s12916-015-0392-6. PMID: 26137966.

38. Dydensborg A.B., Rose A.A., Wilson B.J. et al. GATA3 inhibits breast cancer growth and pulmonary breast cancer metastasis. *Oncogene* 2009;28(29):2634–42. DOI: 10.1038/onc.2009.126. PMID: 19483726.

39. Ng C.K., Martelotto L.G., Gauthier A. et al. Intra-tumor genetic heterogeneity and alternative driver genetic alterations in breast cancers with heterogeneous *HER2* gene amplification. *Genome Biol* 2015;16:107. DOI: 10.1186/s13059-015-0657-6. PMID: 25994018.