

ФГУ «НИИ онкологии  
им. Н.Н. Петрова»  
Минздравсоцразвития РФ,  
Санкт-Петербург

*Современный клиницист,  
принимая решение  
о выборе терапии, все  
чаще нуждается в  
информации о  
молекулярно-биологических  
особенностях данной  
опухоли, свойствах генома  
раковой клетки, работе  
репаративных систем,  
апоптоза, активации  
сигнальных каскадов.*

# ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.Ш. Кулигина

## Факторы патогенеза РМЖ

Рак молочной железы (РМЖ) является чрезвычайно частой онкологической патологией; в развитых странах он поражает как минимум каждую десятую женщину. Обогащение популяции развитых стран все более пожилыми людьми является одной из основных причин возрастания числа онкологических больных. Действительно, риск развития РМЖ в возрасте после 65 лет в 5,8 раз выше, чем до 65 лет, и почти в 150 раз выше, чем в молодом возрасте (до 30 лет). Кроме увеличения возраста, называют еще несколько дюжин факторов риска развития РМЖ, однако все эти факторы можно разделить на две категории: повышенная экспозиция к эстрогенам и дефицит средств поддержания геномной целостности [48]. Современные представления о патогенезе РМЖ схематично представлены на рисунке 1.

## Негенетические факторы

Пролиферативный эффект эстрогенов на эпителий молочной железы описан более 10 лет назад. Но только недавно оказалось, что это не единственный механизм их воздействия: оказывается, некоторые метаболиты эстрогенов могут напрямую вызывать повреждения ДНК. В некоторых случаях эстрогенную перегрузку (раннее менархе или поздняя менопауза), по крайней мере, частично можно объяснить генетической вариабельностью. Однако обычно источником гиперэстрогении являются факторы, имеющие отношение к современному образу жизни: малое количество родов, поздние первые роды, ограничение продолжительности кормления грудью, переедание и недостаток физической нагрузки и т. д. Неблагоприятный вклад оральной контрацепции и гормональной заместительной терапии был неоднократно подтвержден, но полного единодушия в этом вопросе до сих пор нет. Роль экзогенных эндокринных дизрупторов в настоящее время также в процессе изучения [7, 29].

В отличие от рака легкого или мочевого пузыря, ни один из канцерогенов окружающей среды не удалось убедительно связать с провокацией рака молочной железы. Результаты исследований связи диетических добавок и риска рака также оказались неубедительны. Вопреки убеждению некоторых пациентов, психологический стресс не ассоциирован с РМЖ. Недавние сообщения свидетельствуют о связи между травмами молочной железы и последующим развитием рака [14]. Предметом оживленной дискуссии какое-то время являлся вопрос о вирусной природе некоторых РМЖ, однако, в результате, ученые склонились дать отрицательный ответ на этот вопрос [28].

Вторая группа факторов, предрасполагающих к РМЖ – это факторы, опосредующие дефицит средств поддержания геномной стабильности. Отметим две линии аргументов: во-первых, все известные гены предрасположенности к РМЖ задействованы в распознавании или репарации повреждений ДНК. Во-вторых, существуют очень убедительные исследования, которые демонстрируют связь между риском РМЖ и конститутивной хромосомальной нестабильностью [8, 23].

## Генетические факторы

*Наследственные высокочетные мутации.* В некоторых случаях РМЖ представляет собой классическую наследственную болезнь с Менделевской системой на-

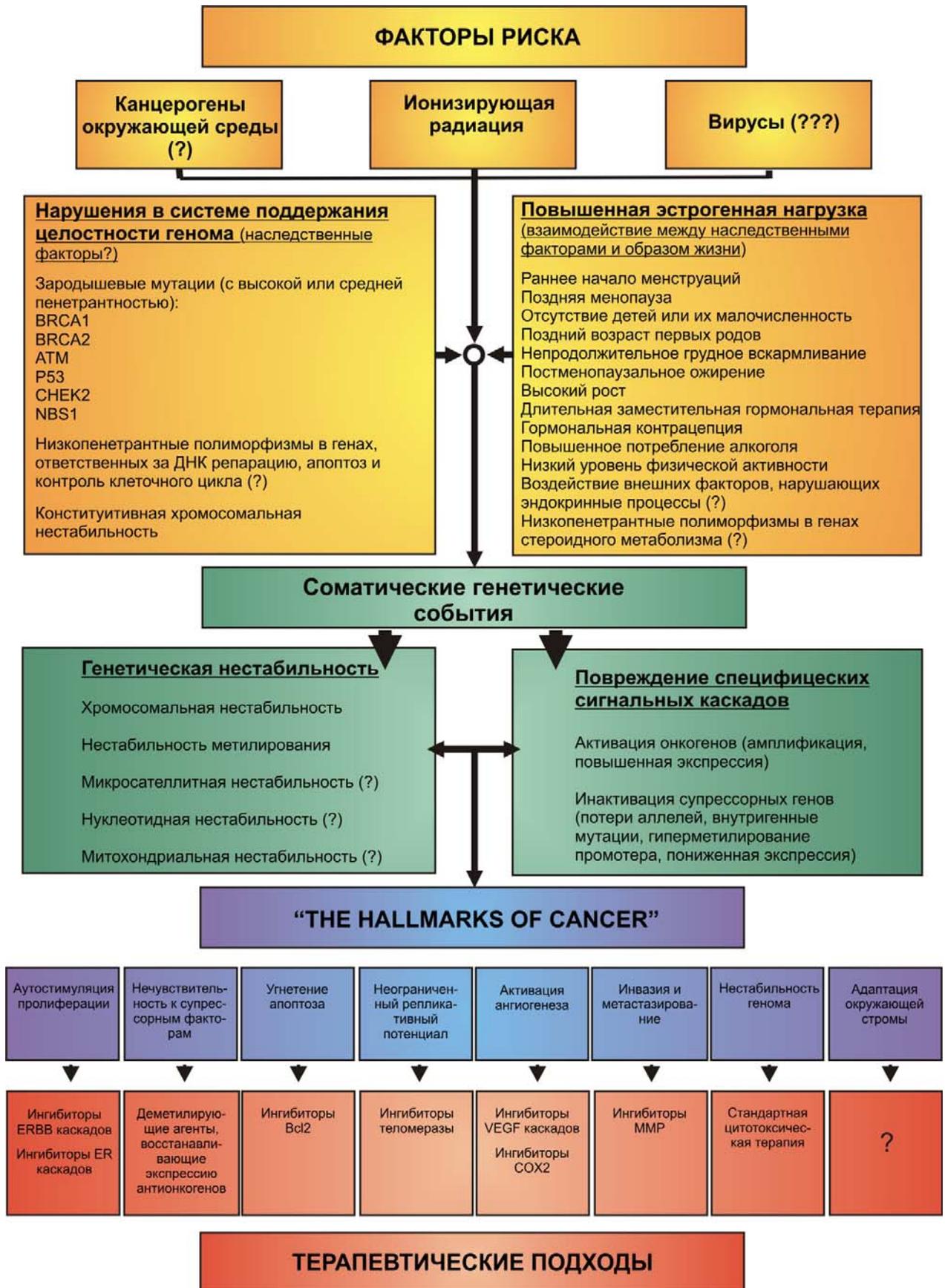


Рис. 1. Факторы риска и молекулярный патогенез рака молочной железы (адаптировано из Ilyanitov and Hanson, 2004 [21]).

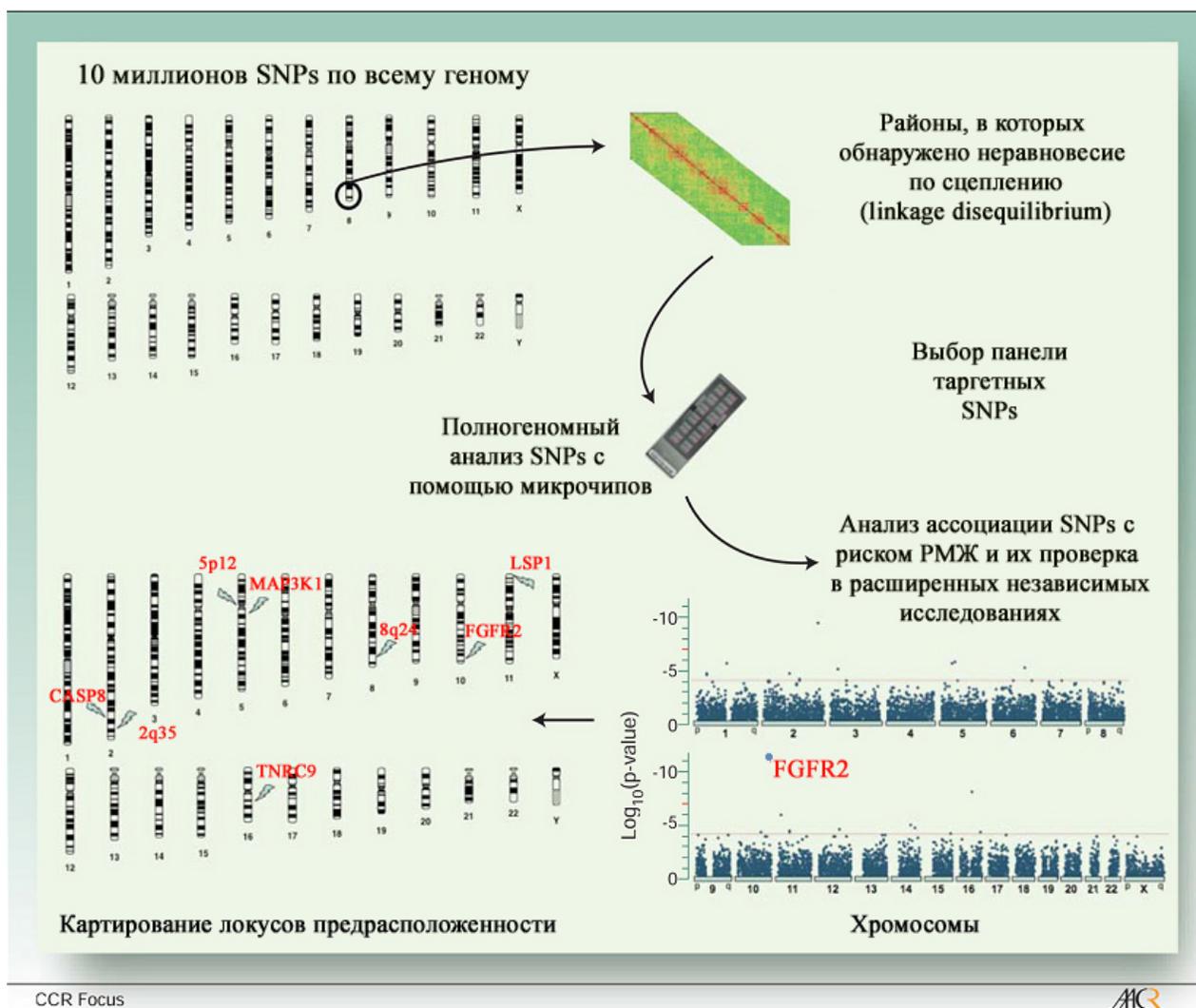


Рис. 2. Картирование локусов предрасположенности (SNPs) при помощи полногеномного анализа ассоциаций (адаптировано из Garcia-Closas and Chanock, 2008 [10])

следования. Самые знаменитые высокопенетрантные гены предрасположенности к PMЖ – это BRCA1 (номер в GenBank NM\_007294) и BRCA2 (номер в GenBank NM\_000059). Эти гены играют ключевую роль в репарации ДНК, регуляции клеточного цикла, транскрипции и ремоделировании хроматина. Идентификация генов BRCA1 и BRCA2 по праву считается главным достижением онкологии 90-х гг. XX в. Их вклад в частоту наследственных заболеваний раком молочной железы составляет около 20% [35].

Исследования на семьях с наследственным раком молочной железы продемонстрировали фатальный риск развития рака у носительниц мутаций BRCA. С другой стороны, среди случайной выборки PMЖ пенетрантность BRCA1 составляет 65%, и только 45% для BRCA2 (на возраст 70 лет) [2].

В широком смысле, гены ATM, p53, PTEN, наследственные мутации в которых предрасполагают к атаксии-телеангиэктазии, наследственному синдрому Ли-Фраумени и Коудена, также могут быть рассмотрены как гены предрасположенности к PMЖ, поскольку отмечено значительное увеличение частоты PMЖ среди гетерозиготных носительниц [20].

Большинство случаев PMЖ не связано с наследованием зародышевых мутаций. Тем не менее, эпидемиологические данные указывают на несомненное существование генетического компонента в патогенезе спорадических опухолей молочной железы.

*Низко- и среднепенетрантные аллели предрасположенности: SNPs.* Принято считать, что основная масса PMЖ имеют причиной неблагоприятный “генетический паспорт”, т. е. комбинацию предрасполагающих низкопенетрантных и относительно частых среднепенетрантных аллелей с умеренным, но в то же время существенным клинически значимым влиянием на риск PMЖ. К группе последних относят CHEK21100delC, NBS1657del5, BRIP1, PALB2 [30, 42, 47]. Как уже было сказано выше, все известные высоко- и среднепенетрантные гены, ассоциированные с раком, играют важную роль в поддержании целостности генома.

Попытки связать риск PMЖ с вариациями в системе ферментов, метаболизирующих канцерогены, оказались unsuccessful. Гораздо более перспективным в этом плане являются метаболизеры гормонов, поскольку убедитель-

но доказана наследственная природа гормонального портрета и несомненная роль гиперэстрогении в развитии рака молочной железы. Следом за успехом в выявлении герм-лайн мутаций среди “генов защиты генома” многие исследователи сконцентрировали свои усилия на анализе полиморфизмов в генах репарации ДНК. Однако и в этой сфере, несмотря на массовые усилия, не удалось получить воспроизводимых клинически значимых ассоциаций [23].

Сейчас на смену разрозненных поисков пришли современные техники тотального анализа генома с помощью микрочипов (GWAS – whole genome association study) [13, 19, 53]. Этот агностический подход предполагает

скрининг всех или почти всех полиморфных сайтов генома (SNP – single nucleotide polymorphisms) в группах больных и здоровых индивидуумов. Обнаруженные значимые ассоциации впоследствии уточняются на многотысячных выборках (рис. 2).

Тем не менее, оказалось, что эти исследования более плодотворны в плане выявления молекулярных патогенетических путей, чем клинически значимых предикторов риска: большая часть ассоциаций либо не воспроизводится в независимых “случай-контроль” исследованиях, либо оказываются функционально незначимыми, либо вносят ничтожный, не заслуживающий внимания вклад в суммарный риск [10]. Возможным способом пре-

Таблица 1.  
Низкопенетрантные гены predispositionности к раку молочной железы: зависимость от эстрогенного статуса опухоли (Gaudet et al., 2009 [10])

Ген/локус	Rs номер	Частота минорного аллеля	OR (per аллель) (95% CI)		Статистическая достоверность, P
			ER+	ER-	
FGFR2	rs2981582	0,38 0,41	1,31 (1,27–1,36) 1,29 (1,22–1,38)	1,08 (1,03–1,14) 0,99 (0,88–1,10)	10 <sup>-13</sup> 2.9x10 <sup>-5</sup>
5p12	rs10941679	0,24	1,27 (1,19–1,35)	1,05 (0,92–1,18)	0,004
TNRC9	rs3803662	0,27	1,23 (1,19–1,27) 1,32 (1,22–1,42)	1,14 (1,09–1,24) 1,07 (0,94–1,23)	0,015 0,0098
2q35	rs13387042	0,54	1,22 (1,14–1,31)	1,06 (0,94–1,19)	0,036
8q24	rs13281615	0,41	1,13 (1,10–1,17)	1,03 (0,96–1,08)	0,001
MAP3K1	rs889312	0,28	1,12 (1,09–1,16)	1,07(1,01–1,13)	0,11
LSP1	rs3817198	0,30	07 (1,04–1,11)	1,04 (0,99–1,10)	0,31
CASP8	rs1045485	0,13	0,89 (0,82–0,96)	0,95 (0,84–1,07)	0,24

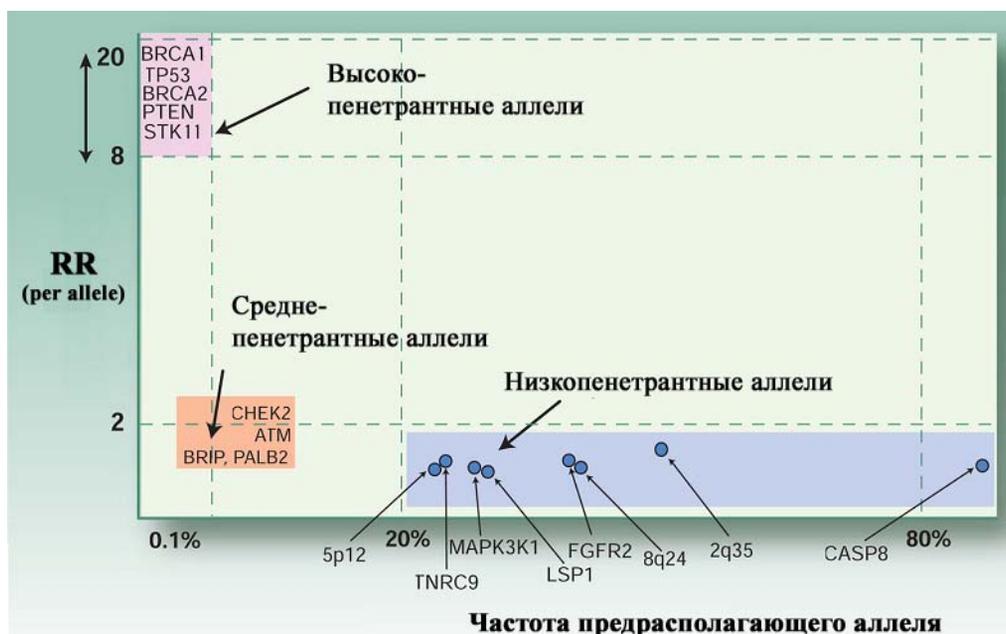


Рис. 3. Гены predispositionности к РМЖ: частота predispositionающего аллеля и величина относительного риска (RR) (адаптировано из Garcia-Closas and Chanock, 2008 [10])

одоления подобных неудач, вероятно, является более тщательный и остроумный подход к формированию сравнимых групп пациентов и контролей. В частности, очень перспективным представляется стратификация гетерогенной выборки пациентов РМЖ и поиск ассоциаций не во всей совокупности, а в пределах отдель-

ных молекулярных подтипов [11]. Наиболее убедительные и признанные примеры ассоциации генетических вариантов с риском РМЖ приведены в табл. 1.

Если просуммировать вклад всех известных генетических детерминант РМЖ в общий риск, то получается, что, в согласии с полигенной моделью, 8 подтвержденных

Таблица 2.

Молекулярно-генетические нарушения в опухолях молочной железы (адаптировано из Ilyanitov and Hanson, 2004)

Типы генетических повреждений	Гены и/или хромосомальные локусы Активирующие генетические события	Ссылка
Амплификация генов, сопровождающаяся увеличением их экспрессии	8q24: MYC; 11q13: CCND1, EMS1; 17q12–21: HER2, TOP2A; 20q13: AIB1	[26]
Увеличение экспрессии генов	BCL2, B94, Cathepsin D, CCNE, CD63, claudin-7, CRABP2, CTSD, GATA3, GZMH, hTERT, IGF1R, Ki-67, lactoferrin, lipocalin 2, MDM2, MUC1, MYBL2, neurosin, PAI1, PAI2, POH1, PS2, Rantes, SIX1, SMARCD2, STMY3, VEGF	[3, 26]
Увеличение копийности хромосомных локусов	1q (1q21, 1q32, 1q41), 8q (8q24), 11q (11q13), 16p (16p11), 17q (17q11.2, 17q24), 20q (20q13)	[26]
Генетические события с неясными последствиями		
Потери гетерозиготности (аллельные имбалансы), которые могут отражать как делецию, так и амплификацию одного из аллелей	1p (1p36.3), 2q (2q22.1), 3p (3p14.2), 4q (4q35.1), 6q (6q25.1), 7q (7q31.2), 8p (8p21.3), 9p (9p21.3), 13q (13q14), 16q (16q22.1, 16q24.3), 17p (17p13.3), 18p (18p11.32), 18q (18q21.2), 19p (19p13), 21q (21q11.1)	[32]
Инактивирующие генетические события		
Делеции генетического материала	1p (1p31–35, 1p36), 6q (6q13–21, 6q21–23.3, 6q25–27), 8p (8p21, 8p22–23), 11q (11q22–23, 11q24–25), 13q (13q12–13, 13q14.1), 16q (16q21–23.3, 16q24.3), 17p (17p13.1, 17p13.3), 22q (22q13)	[26]
Внутригенные мутации	p53, PIK3CA, CDH1	[19, 54]
Метилирование промоторов, сопровождаемое снижением экспрессии соответствующих генов	APC, BCSG1, BRCA1, CCND2, CDH1, CDH13, DAPK, ER, FHIT, GPC3, GSTP1, HIN1, HOXA5, Maspin, NES1, NM23-H1, NOEY2, PR, Prostatein, INK4, CIP1, RAR-beta, RASSF1A, RFC, RIZ1, SOCS1, SRBC, SYK, TGFBR2, THBS, TIMP3, TMS1, TWIST, ZAC, 14-3-3sigma	[64]
Снижение экспрессии генов	ATM, BAX, ITGA6, MGST1, OXTR, plakophilin 1, KIP1, RIG-like7-1, RB1, RBL2, SPARCL1, SPR1, TGFBR3, TFAP4, TNXA, 53BP2	[3, 26]

низкопенетрантных генов предрасположенности обеспечивают чуть более 5% генетического риска; 20-25% приходится на долю высокопенетрантных генов, и среднepenетрантные вносят менее 3% в суммарный риск (рис. 3) [40]. Эти подсчеты свидетельствуют о том, что большое число неизвестных локусов риска будут открыты в скором будущем. При этом особый акцент следует сделать на взаимодействии разных предрасполагающих генов между собой, с пассивным генетическим бэкграундом и с окружающими факторами.

### Соматические события в процессе патогенеза РМЖ

Взаимодействие между разными предрасполагающими факторами приводит к аккумуляции соматических мутаций в эпителиальных клетках. Условно эти события можно подразделить на активирующие и деактивирующие (табл. 2).

Хромосомальная нестабильность, которая выражается в аномальном количестве крупных хромосомных перестроек, является отличительной чертой генома опухолевой клетки РМЖ. Классический тип микросателлитной нестабильности практически не встречается в РМЖ в отличие, например, от рака прямой кишки или легкого, однако его обнаруживают в небольшой группе билатеральных опухолей. Недавно продемонстрировано, что многие карциномы несут изменения в митохондриальной ДНК.

Отдельные изменения в генах, ассоциированных с РМЖ, могут служить как пусковым механизмом для соматической нестабильности, так и быть следствием возросшей мутабельности.

*Делеции и амплификации.* Сотни отчетов посвящены каталогизации генетических дефектов, ассоциированных с РМЖ (например, Somatic Mutations in Human Cancers Database; <http://www.onco-is.com>). Эти события можно условно подразделить на активирующие и инактивирующие. Существенным событием при РМЖ являются амплификации и сверхэкспрессия некоторых онкогенов: HER2 (также известного как ERBB2), CCND1, C-MYC. Кроме известных онкогенов, в геноме обнаружено несколько участков с неизвестными функциями, которые также часто представлены в нескольких копиях в раковом геноме. Предстоит выяснить, содержат ли они активирующие онкогены или это просто фоновый шум – результат геномной нестабильности.

В 1990-х и ранних 2000-х многие исследователи пытались создать карту специфических для РМЖ делеций. Однако попытки идентифицировать новые гены РМЖ с помощью картирования делеций потерпели неудачу: во-первых, паттерны потерь гетерозиготности (LOH – loss of heterozygosity) оказались очень вариабельными и содержали значительную примесь неспецифических аллельных инбалансов. Во-вторых, при помощи обычного ПЦР анализа оказалось невозможным однозначно разграничить активирующие и деактивирующие события (например, потерю одного аллеля и амплификацию другого), а также идентифицировать гомозиготную делецию.

*Внутригенные мутации.* Внутригенные соматические мутации являются относительно редкими событиями в геноме РМЖ. Среди наиболее часто затронутых локусов следует назвать гены p53 (20-53%), PIK3CA (26%), CDH1 (21%) [54]. К настоящему моменту с помощью полногеномной секвенсации

Таблица 3.

МикроРНК, их функции и мишени в клетках РМЖ (адаптировано из O'Day and Lal, 2010 [37])

микроРНК	Мишень	Функция, клеточный процесс
Супрессорные микроРНК		
miR-206	ESR1	ER сигналинг
miR-17-5p	AIB1, CCND1, E2F1	Пролиферация
miR-125a,b	HER2, HER3	Рост закрепленных клеток (anchorage-dependent growth)
miR-200	BMI1, ZEB1, ZEB2	TGF-beta сигналинг
Let-7	H-RAS, HMGA2, LIN28, PEBP1	Пролиферация и дифференцировка
miR-34a	CCND1, CDK6, E2F3, MYC	Повреждения ДНК, пролиферация
miR-31	FZD3, ITGA5, M-RIP, MMP16, RDX, RHOA	Метастазирование
Онкогенные микроРНК		
miR-21	BCL-2, TMP1, PDCD4, PTEN, MASPIN	Апоптоз
miR-155	RHOA	TGF-beta сигналинг
miR-10b	HOXD10	Метастазирование
miR-373/520c	CD44	Метастазирование

номного секвенирования удалось выявить чуть более 120 специфических для РМЖ кандидатных раковых генов (CAN – candidate cancer genes) [49]. В среднем, в каждой опухоли удается насчитать около дюжины соматических драйвер-мутаций. Все эти гены, так или иначе, контролируют важнейшие клеточные функции, вовлеченные в неопластический процесс: клеточную адгезию, миграцию, апоптоз, трансформацию цитоскелета, пролиферацию и др. (рис. 4).

Несмотря на всю масштабность полногеномного подхода, список онкоассоциированных мутаций и делеций до сих пор не выглядит очень впечатляющим. Напротив, количество информации о генах со специфической для РМЖ aberrантной экспрессией стремительно растет. Особый интерес привлекают такие механизмы координированной регуляции экспрессии генов, как метилирование регуляторных областей генов и подавление транскрипции с помощью микроРНК.

*Гиперметилирование регуляторных элементов.* Повсеместное гиперметилирование регуляторных участков генов – обязательная особенность опухолей РМЖ. Часто снижение экспрессии супрессорных генов связано с метилированием промоторов. Наиболее частым и клинически значимым примером работы этого механизма можно назвать гиперметилирование промотора опухолевого супрессора RASSF1A, в результате чего в 60-77% карцином молочной железы этот белок не продуцируется. Этот же механизм часто приводит к “умолчанию” ключевых генов, задействованных в регуляции роста опухоли (ER $\alpha$ , PGR), репарации и клеточного старения (CCND2, p16, BRCA1, RAR $\beta$ ), инвазии и метастазирования (CDH1) [9].

*Ингибирование экспрессии с помощью микроРНК.* МикроРНК представляют собой короткие некодирующие эндогенные РНК, которые специфически посттранскрипционно подавляют экспрессию совокупности таргетных генов. В нормальных клетках микроРНК регулируют и координируют важнейшие клеточные процессы: пролиферацию, клеточный рост, дифференцировку, апоптоз. Процесс злокачественной трансформации и развитие опухоли могут сопровождаться подавлением или делецией супрессорных микроРНК и амплификацией или повышенной экспрессией онкогенных микроРНК. Аналогичным образом, метастазирование может быть спровоцировано усилением экспрессии про-метастатических микроРНК и/или подавлением анти-метастатических микроРНК. В большинстве РМЖ, как и в других опухолях, наблюдается глобальное снижение количества активных микроРНК, что говорит о том, что основная масса этих молекул работают как опухолевые супрессоры [37]. В таблице 4 перечислены наиболее известные микроРНК, вовлеченные в молекулярный патогенез РМЖ.

Таким образом, различные комбинации активирующих и инактивирующих мутаций и эпигенетических событий являются причиной совокупности свойств раковых клеток, которые были определены как “Характерные признаки рака” в классической работе Hanahan and Weinberg [15]. К ним относят самодостаточность в плане ростовых факторов и невосприимчивость к антиростовым факторам; способность избегать апоптоза, безлимитный потенциал деления, способность к инвазии и метастазированию, геномная нестабильность и непрерывный ангиогенез. Подобно прогрессу в понимании роли ангиогенеза в развитии опухоли, все более суще-

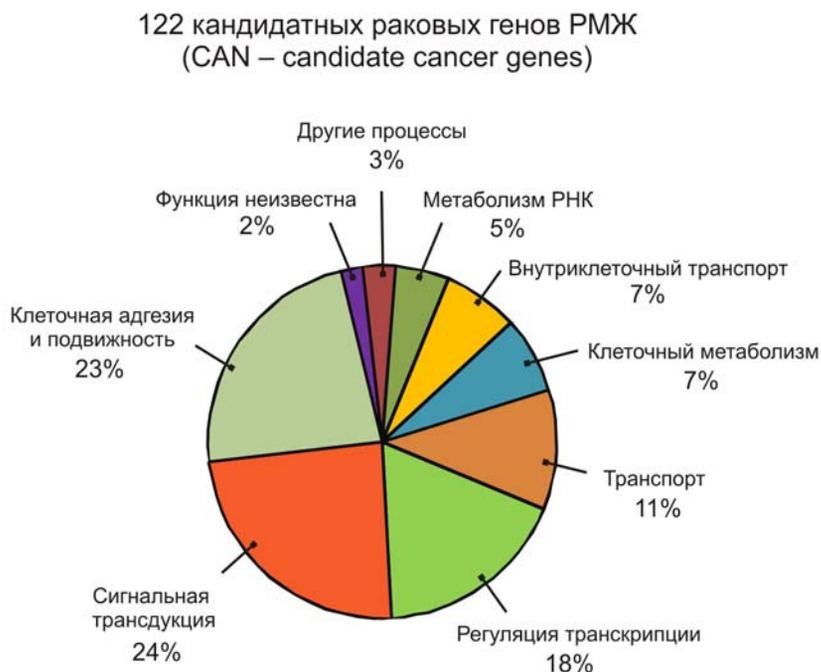


Рис. 4. Функциональная классификация кандидатных раковых генов (CAN) (Teschendorff and Caldas, 2009 [54])

ственная и активная роль в неопластической эволюции отводится клеткам окружающей стромы. Клетки рака молочной железы разделяют все вышеперечисленные характеристики с одним важным замечанием: более 50% РМЖ сохраняют, по крайней мере, частичную зависимость от эстрогенной стимуляции. Эта доброкачественная особенность РМЖ лежит в основе эффективности антиэстрогенной терапии.

Интересно, что при всем многообразии молекулярных событий и экспрессионных портретов карцином молочной железы, их можно сгруппировать вокруг нескольких давно известных молекулярных маркеров (таких как ER и HER2) и выделить несколько основных молекулярных вариантов.

### Молекулярная таксономия РМЖ

*Экспрессионные подтипы РМЖ.* В течение многих лет онкологи пытались классифицировать опухоли молочной железы, стремясь за физическим подобием обнаружить общие биологические механизмы. Попытки сгруппировать РМЖ вокруг клинико-патологических параметров оказались неубедительными. Moll в 1982 г. впервые предложил разделить все карциномы на “люминальные” и “базальные”, в зависимости от того, какие цитокерати-

ны в них экспрессируются (маркеры обозначены так по названию слоев нормального эпителия молочной железы). В 1987 г. Dairkee описал ассоциацию между скорыми рецидивами РМЖ и экспрессией базальных цитокератинов. В 1998 г. Malzahn и соавт. обратили внимание на то, что базальные РМЖ, как правило, эстроген-негативны, низко дифференцированы и имеют плохой прогноз.

Применение техники микрочипов для тотального скрининга транскрипционной активности генома раковой клетки позволило на новом уровне подойти к пониманию причин фенотипической гетерогенности опухолей молочной железы.

В 2000 г. Перу и соавторы [39] использовали микрочипы, содержащие гибридизационные пробы к 8102 мРНК, чтобы получить индивидуальные экспрессионные профили опухолей. Применение кластерного анализа позволило выделить “внутреннюю панель” из 465 генов, которые координированно варьировали между образцами, детерминируя пять различных экспрессионных паттернов. В соответствии с этими паттернами, авторы разделили все карциномы на несколько молекулярных подтипов: две группы с положительным статусом эстрогеновых рецепторов (ER), относящиеся к люминальным подтипам А и В; группу, в избытке эксп-

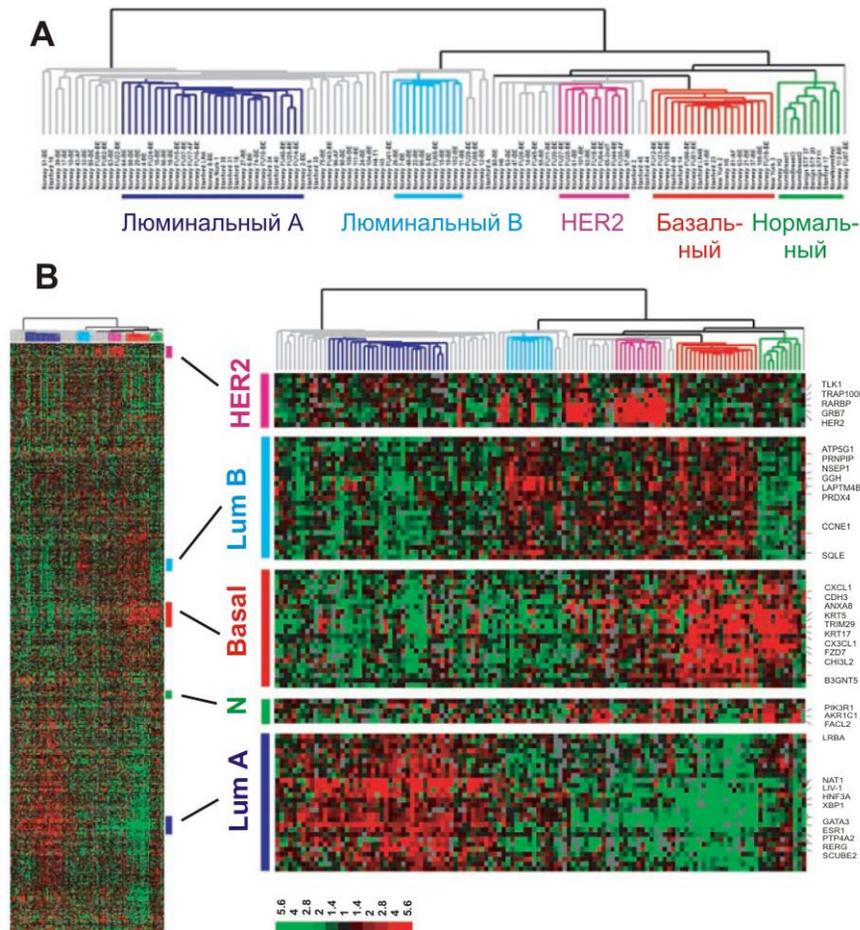


Рис. 5. А – экспериментальная дендрограмма иллюстрирует разделение опухолей на пять подтипов. В – кластеры генов, гиперэкспрессированные в разных молекулярных подтипах РМЖ (адаптировано из Sorlie et al, 2001 [51])

рессирующую рецепторы HER2; группу, в которой экспрессия генов молочной железы остается в норме, и базальные или “трижды-негативные” опухоли (рис. 5). Впоследствии существование этих молекулярных подтипов неоднократно было подтверждено в независимых исследованиях [18, 52]. Более того, оказалось, что паттерн экспрессии остается похожим у первичной и метастатической опухоли, даже если последняя развивается несколько лет спустя [62]. РНК профайлинг карцином *in situ*, также продемонстрировал правомочность этой молекулярной классификации [60].

Жизнеспособность экспрессионной классификации и повсеместное ее признание обеспечил тот факт, что разные подтипы РМЖ не просто имели отличные друг от друга наборы молекулярных маркеров. Оказалось, что они характеризуются специфической биологией, прогнозом и требуют особых терапевтических подходов. Пациенты с опухолями люминального А типа имеют самое длительное время выживаемости. Базальные и HER2-позитивные РМЖ характеризуются наихудшим прогнозом и наименьшей выживаемостью. Люминальные В опухоли занимают промежуточное место. Обнаружено, что молекулярный подтип является независимым прогностическим признаком и с высокой акkuratностью предсказывает эффективность терапии [38].

*Характеристики молекулярных подтипов РМЖ.*

а) Люминальный А (luminal A)

Частота: 30-45%.

Кластер генов, высоко экспрессированных в опухолях: эстрогеновый рецептор (ESR1), XBP1, FOXA1, GATA3, TTF3, LIV3, HER4, PIK3RI, люминальные цитокератины (KRT8/18) [16].

ИНС маркеры: ER/ PR+, HER2-, KRT8/18+.

Активированные пути и процессы: ER сигнальный путь, метаболизм жирных кислот.

Клинико-патологические и прогностические особенности: эстроген-зависимые опухоли; характерен более поздний возраст на момент диагноза, высокая степень дифференцировки, низкий пролиферативный индекс. Опухоли этого типа менее агрессивны, характеризуется лучшим прогнозом по сравнению с рецептор-негативными раками [4]. У таких пациентов существенно снижен риск развития рецидивов в течение первых 2 лет; увеличена общая выживаемость. Отмечают высокую эффективность гормональной терапии (тамоксифен и ингибиторы ароматазы) и неoadъювантной химиотерапии (доксирубицин, паклитаксель, фторурацил, циклофосамид) [38]. Значительное количество BRCA2-ассоциированных раков относится к этому типу.

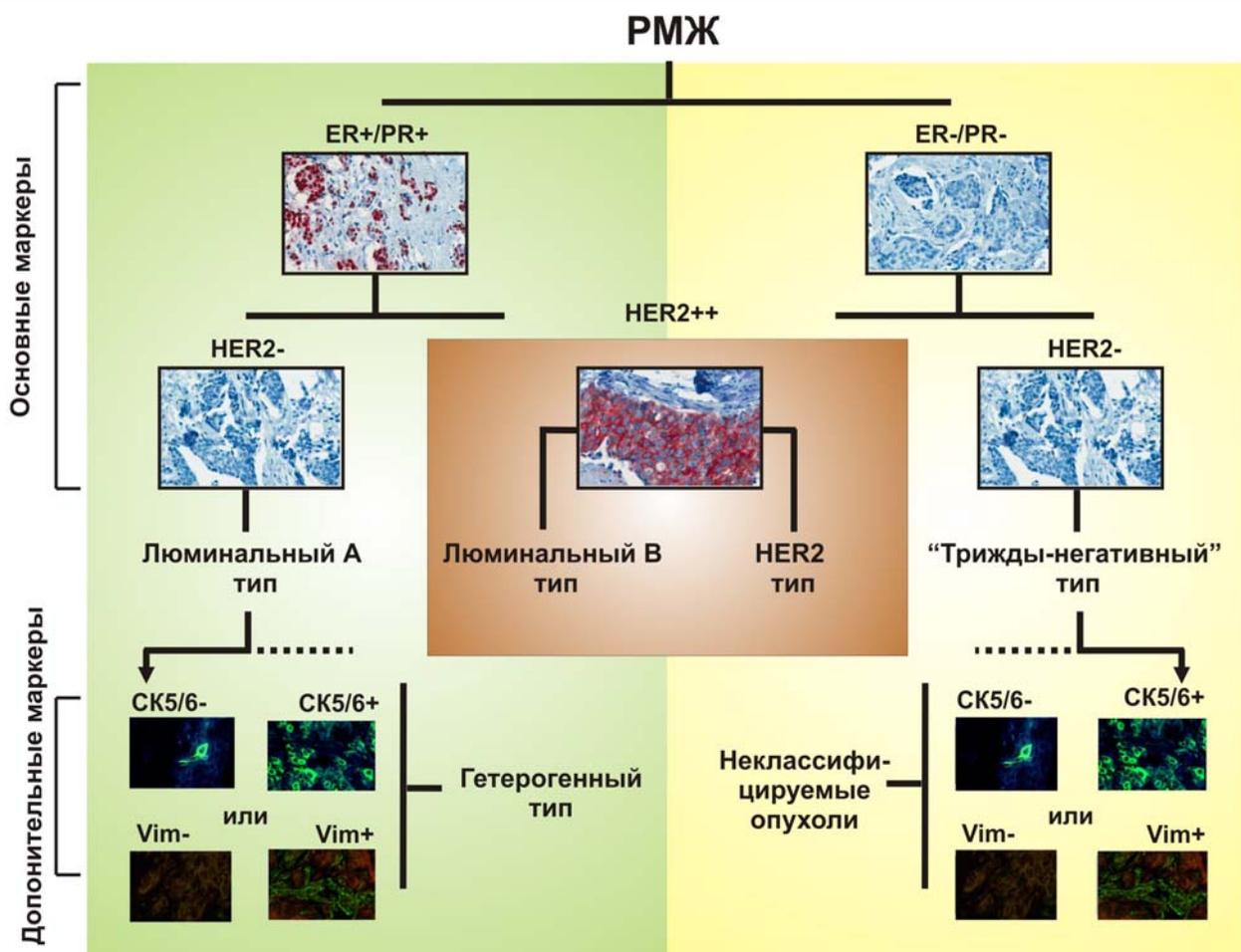


Рис. 6. Классификация РМЖ с помощью иммуногистохимических (ИНС) суррогатных маркеров.

Молекулярно-генетические особенности: +1q, +16p, -16q, LOH BRCA2, амплификация 11q13 [31]. Высокий тотальный уровень метилирования генома; специфически метилированы гены RASSF1, GSTP1, MMP7, PEG10, APC [17].

б) Люминальный В (luminal В)

Частота: 14-18%.

Кластер генов, высоко экспрессированных в опухолях: ESR1, CCNB1, MKI67 (Ki-67), MYBL, CCNE1, ERBB2, GRB7, HRAS [16].

ИНС маркеры: ER/PR+; HER+; Ki-67 > 13% [5].

Активированные пути и процессы: HER2 сигнальный путь, пролиферация.

Клинико-патологические и прогностические особенности: эстроген-зависимые агрессивные опухоли; характерен ранний возраст диагноза, низкая дифференцировка, высокий пролиферативный индекс, большой размер опухоли, вовлечение лимфатических узлов. Опухоли этого типа имеют значительно худший прогноз и большую вероятность рецидивов, чем другие рецептор-позитивные опухоли. Они часто не чувствительны к тамоксифену и ингибиторам ароматазы, но обладают чувствительностью к трастузумабу [5].

Молекулярно-генетические особенности: амплификация онкогена HER2 и генов 17q ампликона. Повышенная частота амплификаций высокого уровня, в частности, 8p11-p12, 8q21-q24, 20q13. Гиперактивация ключевых промоторов клеточного цикла (например, cyclin E1) и клеточного роста (например, TOP2II) [31]. Наивысший тотальный уровень метилирования генома среди всех подтипов; специфически метилированы гены RASSF1, GSTP1, CH13L2 [17].

в) Базальный, или «трижды-негативный» (basal-like, triple-negative)

Частота: 27-39%.

Кластер генов, высоко экспрессированных в опухолях: онкогены NRAS, KRAS, C-KIT, кадгерин P (CDH3), ламинин альфа/гамма (LAMA5, LAMC1), MCM3/4/7, базальные цитокератины (KRT5/6/17) [16].

ИНС маркеры: ER-/PR-; HER2-; CK5/6+, EFGR (HER1)+, cadherin-P+; виментин+; c-kit+ [27, 36].

Активированные пути и процессы: p21, p53, FAS сигнальные пути, фосфорилирование белков, стимуляция клеточного цикла и пролиферации, дедифференцировка.

Клинико-патологические и прогностические особенности: эстроген-независимые агрессивные опухоли. Характерен ранний возраст диагноза, протоковый или метапластический гистологический тип, низкая дифференцировка, высокий пролиферативный индекс, большой размер опухоли, вовлечение лимфатических узлов, ядерный плеоморфизм, некрозы, стромальный лимфатический ответ [24, 43]. Базальные опухоли отличаются высокой агрессивностью, большой вероятностью развития метастатических форм. У пациенток с базальным РМЖ очень плохие перспективы выздоровления независимо от поражения лимфатических узлов. Выживаемость в этой группе ниже, чем для

любого другого молекулярном подтипа, включая HER2-позитивный [38].

Несмотря на удручающий прогноз, «трижды-негативные» опухоли чувствительны к стандартным химиотерапевтическим схемам, включая антрациклин- и таксан-содержащие. Большинство BRCA1-ассоциированных раков относится к этому типу. Дисфункция репаративных систем делает раковые клетки уязвимыми для таких агентов, как препараты платины, ингибиторы топоизомеразы I и полиADP-рибополимераз (PARP) [2, 22].

Молекулярно-генетические особенности: высокая частота соматических p53 мутаций [1]. Высокий уровень геномной нестабильности, LOH BRCA1; +3q, -3p, -4p, 4q, -5q; PTEN абберации; инактивация RB; повышенная экспрессия теломеразы [31]. Низкий тотальный уровень метилирования генома; специфически метилированы гены ARHGDI1B, GRB7, SEMA3B [17].

г) ERBB2 (HER2) позитивный

Частота: 8-15%.

Кластер генов, высоко экспрессированных в опухолях: ERBB2 (HER2), GRB7, HRAS, MEK1/MEK2, AKT1 [17].

ИНС маркеры: ER-/PR-; HER2+; Ki-67 > 13% [5].

Активированные пути и процессы: EGFR/HER2 сигнальный путь, пролиферация.

Клинико-патологические и прогностические особенности: эстроген-независимые агрессивные опухоли с высоким пролиферативным индексом. Характерна низкая дифференцировка, большой размер опухоли, вовлечение лимфатических узлов. Эффективно адъювантное назначение трастузумаба; не чувствительны к гормонотерапии. Высокая вероятность негативного исхода заболевания [4, 55].

Молекулярно-генетические особенности: амплификация онкогена HER2 и генов 17q ампликона. +1q, -8p [31].

#### *Методические аспекты классификации опухолей.*

Описанная выше экспрессионная классификация РМЖ по Sorlie была принята повсеместно, но не безоговорочно. До сих пор ведутся дискуссии о том, какую панель генов следует использовать для наиболее аккуратной классификации опухолей, насколько гомогенны описанные подтипы, и не надо ли вычлнить дополнительные группы (например, группу с низкой экспрессией клаудина (claudin-low) [41]. Также ставится под сомнение существование отдельной группы с «нормальным» паттерном экспрессии. По данным Weigelt et al (2010) [63] применение тщательной микродиссекции с целью избавления от примеси нормальных тканей, приводит к исчезновению этого подтипа.

Изначально классификация опухолей основывалась на иерархическом кластерном анализе и на применении «внутренней панели» генов (560-1300 локусов) [39, 51]. Недостатком этого подхода являлось то, что он годился только для ретроспективного анализа большой когорты пациентов. На смену этой модели были разработаны методы определения молекулярного подтипа для выборочных единичных опухолей с помощью SSP-предикторов

(SSP – single sample predictor). Эти методы оценивали с помощью коэффициента корреляции близость экспрессионного профиля анализируемой опухоли и «центроида», или «среднего экспрессионного профиля», специфического для каждого подтипа [18, 58]. Экспрессионная классификация с помощью панелей SSP-предикторов широко распространилась в клиниках и лабораториях для предсказания эффективности терапии, клинического исхода, сайтов рецидива [44, 50]. Однако применение разных панелей SSP-предикторов дает далеко не идентичные результаты; этот подход требует изощренной статистической обработки, исход классификации весьма зависит от выбора статистических методов и панели генов. Сравнение результатов классификаций с помощью трех разных панелей показало, что с высокой воспроизводимостью и аккуратностью вычлняется только группа базальных опухолей. Что касается люминальных А, В и HER2 групп, то конкордантность между разными вариантами группировки оказывается скорее неутешительной ( $k=0.238-0.780$ ) Кроме того, очень подозрительно, что 10-30% опухолей вообще не удается с уверенностью отнести ни к одной из групп [63]. Эти данные свидетельствуют о том, что способы молекулярной классификации РМЖ с помощью экспрессионного профайлинга и SSP-предикторов еще далеки от совершенства. Поэтому преждевременно внедрять их в широкую клиническую практику в том виде, в котором они сейчас существуют. Эти методы дорогостоящи, трудоемки и с трудом применимы к анализу архивных фиксированных в формалине парафиновых образцов из-за плохого качества содержащихся в них иРНК.

Для классификации архивных образцов целесообразно использовать метод количественной РТ-ПЦР в реальном времени (real-time qRT-PCR). Минимальная панель генов для дискриминации люминальных, базальных и НЕК2/ER- опухолей составляет 40 генов по протоколу Mullins et al., 2007 [34] и 54 гена по протоколу Sorlie et al. [52]. Эти методы демонстрирует совпадение с данными экспрессионного профайлинга и кластерного анализа 94% и 88%, соответственно, являясь при этом не менее хлопотными.

Фенотипическая характеристика разных молекулярных типов РМЖ с помощью иммуногистохимических и иммунофлуоресцентных методов позволила убедиться, что в большинстве случаев для аккуратной классификации можно ограничиться анализом небольшого числа специфических маркерных белков, прежде всего, традиционно используемых ER, PR и HER2.

Классификация опухолей на молекулярные подтипы с помощью суррогатных иммуногистохимических маркеров получила большое распространение и признание. Этот метод прост и не требует микродиссекции опухолевых клеток. Однако не стоит забывать, что он имеет ограниченную разрешающую способность и иногда может приводить к мисклассификации, прежде всего из-за «ложно эстроген-позитивных» и «ложно эстроген-негативных» случаев. По данным Cianfrocca and Gradishar [6]

среди опухолей с позитивным иммуногистохимическим окрашиванием на эстрогеновые и прогестероновые рецепторы только 73% классифицируются как люминальные А и В опухоли по данным РНК-профайлинга; 11% оказываются HER2-позитивными, 5% – базальными и 12% «нормального» экспрессионного подтипа. Напротив, среди ER-негативных карцином около 11% относятся к люминальным А или В по экспрессионным данным. Среди HER2-позитивных опухолей 6% являются базальными, в то время как почти 9% случаев с негативным окрашиванием на HER2 оказываются HER2 подтипа по экспрессионным данным. Использование дополнительных миоэпителиальных маркеров и анализ индекса пролиферации помогает снизить до минимума процент ошибок и добиться высокой аккуратности классификации. По крайней мере, наиболее клинически релевантные группы – базальную и HER2 – удается вычлнить с большой точностью.

На сегодняшний день «золотым стандартом» признают использование панели из следующих суррогатных иммуногистохимических маркеров: ER, PR, HER2, Ki-67, CK5/6, EGFR или виментин (VIM) [27, 36, 43]. Единого алгоритма классификации пока не существует; один из примеров приведен на рис. 6.

Описывая иммунофенотип опухоли, часто приходится сталкиваться с проблемой гетерогенности опухоли по окрашиванию на базальные и люминальные маркеры. В связи с этим Laakso et al. [25] предлагают выделять особый «гетерогенный» или «базолюминальный» тип. В этом случае очевидно, что разные популяции опухолевых клеток имеют разную биологию и будут специфически реагировать на терапевтическое воздействие. Заметим, что подобная гетерогенность остается за пределами «экспрессионного подхода», т.к. в последнем случае анализируется тотальная иРНК из совокупности всех опухолевых клеток, и на выходе мы оцениваем средний уровень экспрессии.

*Частная эпидемиология молекулярных подтипов РМЖ.* Данные эпидемиологических исследований показывают, что факторы риска могут различаться в зависимости от молекулярного подтипа.

Опухоли люминального А типа встречаются наиболее часто; для них характерны факторы риска, которые традиционно указывали ранее для РМЖ (см. рис. 1): поздний возраст первых родов и отсутствие детей или их малочисленность. Противоположная ситуация наблюдается для базальных карцином. Для них ранние первые роды и многочисленное потомство являются факторами повышенного риска. Особенно высок риск «базального» рака у многодетных женщин, которые не кормили грудью, и женщин, которые прошли через медикаментозное прерывание лактации. Продолжительность лактации существенно снижает риск РМЖ в обеих группах [57].

Высокий коэффициент «талия-бедра» является фактором риска для постменопаузальных «люминальных» раков и для «базальных» раков, вне зависимости от

менопаузального статуса. Опухоли люминального типа А, как правило, возникают в более позднем возрасте, чем остальные группы; а базальные – в более раннем [4].

Известно также, что базальный тип РМЖ значительно чаще возникает у молодых афро-американок, по сравнению с белыми женщинами. По подсчетам Миллкана и соав. в этой группе можно предотвратить до 68% базальных РМЖ, посредством поощрения грудного вскармливания и борьбы с аномальной полнотой [33].

Частота HER2-подтипа не зависит ни от расовой принадлежности, ни от менопаузального статуса.

Если рассмотреть генетические факторы риска, то окажется, что такие популярные низкопенетрантные гены предрасположенности как FGFR2, TNRC9, 8q24, 2q35 и 5p12 вносят значительный вклад в развитие именно эстроген-положительных вариантов РМЖ, но не эстроген-негативных [10]. Подавляющее большинство BRCA1-ассоциированных раков являются «трижды-негативными»; экспрессионные профили таких карцином аналогичны профилям базальных РМЖ [46, 56]. Напротив, у носительниц BRCA2 мутаций чаще возникают люминальные А и В опухоли [61]. Описанная закономерность распространяется и на карциномы *in situ* [60].

Совокупность приведенных данных убедительно свидетельствует о том, что эстроген-положительный люминаль-

ный, эстроген-негативный базальный РМЖ и HER2-положительный РМЖ – это, безусловно, разные болезни, с различной этиологией и молекулярным патогенезом. Важное обстоятельство, что факторы организма как генетические, так и физиологические играют первостепенную роль при выборе пути молекулярного патогенеза опухоли [45].

## Заключение

Анализ этиологической и молекулярной гетерогенности РМЖ служит основой для лучшего понимания механизмов канцерогенеза и опухолевой прогрессии. Однако оживленные дискуссии вокруг молекулярной таксономии РМЖ направлены не столько на развитие описательного аспекта этой классификации, сколько на то, чтобы оптимальным образом внедрить достижения молекулярной таксономии в стандарты лечения больных. Современный клиницист, принимая решение о выборе терапии, все чаще нуждается в информации о молекулярно-биологических особенностях данной опухоли, свойствах генома раковой клетки, работе репаративных систем, апоптоза, активации сигнальных каскадов. Таким образом, молекулярная классификация и анализ паттернов экспрессии становится мощным инструментом индивидуализации терапии и предсказания ее эффективности.

## Литература

1. *Anders CK, Carey LA.* Biology, metastatic patterns, and treatment of patients with triple-negative breast cancer // *Clin. Breast. Cancer.* – 2009. – Suppl.2. – P.73-81.
2. *Antoniou A. et al.* Average risks of breast and ovarian cancer associated with BRCA1 or BRCA2 mutations detected in case Series unselected for family history: a combined analysis of 22 studies // *Am. J. Hum. Genet.* – 2003. – Vol.72. – P.1117-1130.
3. *Bertucci F. et al.* Breast cancer revisited using DNA array-based gene expression profiling // *Int. J. Cancer.* – 2003. – Vol.103. – P.565-571.
4. *Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Covan D, Conway K, Karaca G, Troester MA, Tse CK, Edmiston S, Deming SL, Geradts J, Cheang M.C., Nielsen T.O., Moorman P.G., Earp H.S., Millikan R.C.* Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study // *JAMA.* – 2006. – Vol.295. – P.2492-2502.
5. *Cheang M.C., Chia S.K., Voduc D., Gao D., Leung S. et al.* Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer // *J. Natl. Cancer. Inst.* – 2009. – Vol.101. – P.736-750.
6. *Cianfrocca M. and Gradishar W.* New Molecular Classifications of Breast Cancer // *CA: A Cancer Journal for Clinicians.* – 2009. – Vol.59, №5. – P.303.
7. *Clemons M. and Goss P.* Estrogen and the risk of breast cancer // *N. Engl. J. Med.* – 2001. – Vol. 344. – P.276-285.
8. *Colleu-Durel S. et al.* Alkaline single-cell gel electrophoresis (comet assay): a simple technique to show genomic instability in sporadic breast cancer // *Europ. J. Cancer.* – 2004. – Vol.40. – P.445-451.
9. *Dworkin AM, Huang TH, Toland AE.* Epigenetic alterations in the breast: Implications for breast cancer detection, prognosis and treatment // *Semin. Cancer. Biol.* – 2009. – Vol.19, №3. – P.165-171.
10. *Garcia-Closas M., Chanock S.* Genetic susceptibility loci for breast cancer by estrogen receptor status // *Clin Cancer Res.* – 2008. – Vol.14, №2. – P.8000-8009.
11. *Garcia-Closas M., Hall P., Nevanlinna H., Pooley K. et al.* Heterogeneity of breast cancer associations with five susceptibility loci by clinical and pathological characteristics // *PLoS. Genet.* – 2008. – Vol. 4(4). – P.1000054.
12. *Gasco M. et al.* The p53 pathway in breast cancer // *Breast. Cancer Res.* – 2002. – Vol. 4. – P.70-76.
13. *Gaudet M.M., Milne R.L., Cox A., Camp N.J. et al.* Five polymorphisms and breast cancer risk: results from the Breast Cancer Association Consortium // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 2009. – Vol.18. – P.1610-1616.
14. *Gerber B. et al.* Nutrition and lifestyle factors on the risk of developing breast cancer // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2003. – Vol.79. – P.265-276.
15. *Hanahan D., Weinberg RA.* The hallmarks of cancer // *Cell.* – 2000. – Vol.100, №1. – P.57-70.

16. Hoadley KA, Weigman VJ, Fan C, Sawyer LR, He X, Troester MA, Sartor CJ, Rieger-House T, Bernard PS, Carey LA, Perou CM. EGFR associated expression profiles vary with breast tumor subtype // BMC Genomics. – 2007. – Vol.8. – P.258.
17. Holm K, Hegardt C, Staaf J, Vallon-Christersson J, Jönsson G, Olsson H, Borg A, Ringnér M. Molecular subtypes of breast cancer are associated with characteristic DNA methylation patterns // Breast Cancer Res. – 2010. – Vol.12, №3. – P.36.
18. Hu Z, Fan C, Ob D.S., Marron J.S., He X, Qaqish B.F. et al. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms // BMC Genomics. – 2006. – Vol.7. – P.96.
19. Hunter D.J., Kraft P., Jacobs K.B. A genome-wide association study identifies alleles in FGFR2 associated with risk of sporadic postmenopausal breast cancer // Nat. Genet. – 2007. – Vol.39. – P.870-874.
20. Iau P.T. et al. Germ line mutations associated with breast cancer susceptibility // Europ. J. Cancer. – 2001. – Vol. 37. – P.300-321.
21. Imyanitov E.N. and Hanson K.P. Mechanisms of breast cancer // Drug discovery today: Disease mechanisms. – 2004. – Vol.1, №2. – P.235-245.
22. Imyanitov E.N. Breast cancer therapy for BRCA1 carriers: moving towards platinum standard? // Hered Cancer Clin. Pract. – 2009. – Vol.7, №1. – P.8.
23. Imyanitov E.N. et al. Searching for cancer-associated gene polymorphisms: promises and obstacles // Cancer Lett. – 2004. – Vol.204. – P.3-14.
24. Juppänen M, Gruwberger-Saal S, Kauraniemi P, Tanner M, Bendahl P.O., Lundin M, Krogh M, Kataja P, Borg A, Fernö M, Isola J. Basal-like phenotype is not associated with patient survival in estrogen-receptor-negative breast cancers // Breast Cancer Res. – 2007. – Vol.9, №1. – P.16.
25. Laakso M, Tanner M, Nilsson J, Wiklund T. et al. Basolateral carcinoma: a new biologically and prognostically distinct entity between basal and luminal breast cancer // Clin. Cancer Res. – 2006. – Vol.12. – P.4185-4191.
26. Lerebours F. and Lidereau R. Molecular alterations in sporadic breast cancer // Crit. Rev. Oncol. Hematol. – 2002. – Vol. 44. – P.121-141.
27. Livasy CA, Karaca G, Nanda R, Tretiakova M.S., Olopade O.I., Moore D.T., Perou C.M. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma // Mod. Pathol. – 2006. – Vol.19. – P.264-271.
28. Mant C. et al. A viral aetiology for breast cancer: time to reexamine the postulate // Intervirology. – 2004. – Vol.47. – P.2-13.
29. McPherson K. et al. ABC of breast diseases. Breast cancer epidemiology, risk factors, and genetics // Brit. Med. J. – 2000. – Vol.321. – P.624-628.
30. Meijers-Heijboer H, van den Ouweland A, Klijn J, Wasielewski M. et al. Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2(\*)1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations // Nat. Genet. – 2002. – Vol.31. – P.55-59.
31. Melchor L, Benítez J. An integrative hypothesis about the origin and development of sporadic and familial breast cancer subtypes // Carcinogenesis. – 2008. – Vol.29. – P.1475-1482.
32. Miller B.J. et al. (2003) Pooled analysis of loss of heterozygosity in breast cancer: a genome scan provides comparative evidence for multiple tumor suppressors and identifies novel candidate regions // Amer. J. Hum. Genet. – 2003. – Vol.73. – P.748-767.
33. Millikan R.C., Newman B, Tse C.K., Moorman P.G. et al. Epidemiology of basal-like breast cancer // Breast Cancer Res Treat. – 2008. – Vol.109. – P.123-139.
34. Mullins M, Perreard L, Quackenbush J.F., Gauthier N, Bayer S, Ellis M, Parker J, Perou C.M., Szabo A, Bernard PS. Agreement in breast cancer classification between microarray and quantitative reverse transcription PCR from fresh-frozen and formalin-fixed, paraffin-embedded tissues // Clin. Chem. – 2007. – Vol.53. – P.1273-1279.
35. Nathanson K.L. et al. Breast cancer genetics: what we know and what we need // Nat. Med. – 2001. – Vol. 7. – P.552-556.
36. Nielsen T.O., Hsu F.D., Jensen K, Cheang M. et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma // Clin. Cancer Res. – 2004. – Vol.10, №16. – P.5367-5374.
37. O'Day and Lal, 2010 O'Day E., Lal A. MicroRNAs and their target gene networks in breast cancer // Breast Cancer Res. – 2010. – Vol.12, №2. – P.201.
38. Parker JS, Mullins M, Cheang M.C., Leung S, Voduc D, Vickery T, Davies S, Fauron C, He X, Hu Z, Quackenbush J.F., Stijleman IJ, Palazzo J, Marron J.S., Nobel A.B., Mardis E., Nielsen T.O., Ellis M.J., Perou C.M., Bernard PS. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes // J. Clin. Oncol. – 2009. – Vol.27. – P.1160-1167.
39. Perou C.M., Sørlie T, Eisen M.B., van de Rijn M., Jeffrey S.S., Rees C.A., Pollack J.R., Ross D.T., Johnsen H, Aksten LA, Fluge O., Pergamenschikov A, Williams C, Zhu S.X., Lønning P.E., Børresen-Dale A.L., Brown P.O., Botstein D. Molecular portraits of human breast tumours // Nature. – 2000. – Vol.406. – P.747-752.
40. Pharoah P.D., Antoniou A.C., Easton D.F., Ponder B.A. Polygenes, risk prediction, and targeted prevention of breast cancer // N. Engl. J. Med. – 2008. – Vol.358. – P.2796-2803.
41. Prat A. et al., 2010 Prat A., Parker J.S., Karginova O, Fan C, Livasy C, Herschkowitz J.I., He X, Perou C.M. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer // Breast Cancer Res. – 2010. – Vol.12, №5. – P.68.

42. *Rabman N, Seal S, Thompson D, Kelly P, Renwick A et al.* PALB2, which encodes a BRCA2-interacting protein, is a breast cancer susceptibility gene // *Nat. Genet.* – 2007. – Vol.39. – P.165-167.
43. *Rakha EA, El-Sayed ME, Reis-Filho JS, Ellis IO.* Expression profiling technology: its contribution to our understanding of breast cancer // *Histopathology.* – 2008. – Vol.52, №1. – P.67-81.
44. *Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Ibrahim N et al.* Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy // *Clin. Cancer Res.* – 2005. – Vol.11. – P.5678-5685.
45. *Russnes H, Kuligina E, Susptsin E, Jordanova E, Cornelisse CJ, Borresen-Dale A-L, Imyanitov EN.* Paired distribution of molecular subtypes in bilateral breast carcinomas // *Cancer Genet. Cytogenet.* – 2010. In press
46. *Schneider BP, Winer EP, Foulkes WD, Garber J, Perou CM, Richardson A, Sledge GW, Carey LA.* Triple-negative breast cancer: risk factors to potential targets // *Clin Cancer Res.* – 2008. – Vol.14, №24. – P.8010-8018.
47. *Seal S, Thompson D, Renwick A, Elliott A et al.* Truncating mutations in the Fanconi anemia J gene BRIP1 are low-penetrance breast cancer susceptibility alleles // *Nat. Genet.* – 2006. – Vol.38. – P.1239-1241.
48. Singletary S.E. Rating the risk factors for breast cancer // *Ann. Surg.* – 2003. – Vol.237. – P.474-482.
49. *Sjöblom T, Jones S, Wood LD, Parsons D.W et al.* The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers // *Science.* – 2006. – Vol.314. – P.268-274.
50. *Smid M, Wang Y, Zhang Y, Sieuwerts AM, Yu J, Klijn J.G, Foekens JA, Martens J.W.* Subtypes of breast cancer show preferential site of relapse // *Cancer Res.* – 2008. – Vol.68. – P.3108-3114.
51. *Sortie T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T et al.* Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications // *Proc. Natl. Acad. Sci U S A.* – 2001. – Vol.98. – P.10869-10874.
52. *Sortie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, Deng S, Jobnsen H, Pesich R, Geisler S, Demeter J, Perou CM, Lunning PE, Brown P.O., Burresen-Dale AL, Botstein D.* Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2003. – Vol.100. – P.8418-8423.
53. *Stacey SN, Manolescu A, Sulem P, Rafnar T et al.* Common variants on chromosomes 2q35 and 16q12 confer susceptibility to estrogen receptor-positive breast cancer // *Nat. Genet.* – 2007. – Vol. 39. – P.865-869.
54. *Teschendorff AE, Caldas C.* The breast cancer somatic ‘muta-ome’: tackling the complexity // *Breast Cancer Res.* – 2009. – Vol.11. – P.301.
55. *Theillet C.* What do we learn from HER2-positive breast cancer genomic profiles? // *Breast Cancer Res.* – 2010. – Vol.12, №3. – P.107.
56. *Turner NC, Reis-Filho JS.* Basal-like breast cancer and the BRCA1 phenotype // *Oncogene.* – 2006. – Vol. 25. – P.5846-5853.
57. *Ursin G, Bernstein L, Lord SJ, Karim R et al.* Reproductive factors and subtypes of breast cancer defined by hormone receptor and histology // *Brit. J. Cancer.* – 2005. – Vol. 93. – P.364-371.
58. *van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, Dai H, Hart AA et al.* A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer // *N. Engl. J. Med.* – 2002. – Vol.347. – P.1999-2009.
59. *van der Groep P, van Diest PJ, Menko FH, Bart J et al.* Molecular profile of ductal carcinoma in situ of the breast in BRCA1 and BRCA2 germline mutation carriers // *J. Clin. Pathol.* – 2009. – Vol.62, №10. – P.926-930.
60. *van der Groep P, van Diest PJ, Menko FH, Bart J, de Vries EG, van der Wall E.* Molecular profile of ductal carcinoma in situ of the breast in BRCA1 and BRCA2 germline mutation carriers // *J. Clin. Pathol.* – 2009. – Vol.62, №10. – P. 926-930.
61. *Waddell et al, 2010 Waddell N, Arnold J, Cocciardi S, da Silva L et al.* Subtypes of familial breast tumours revealed by expression and copy number profiling // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2010. – Vol.123, №3. – P. 661-677.
62. *Weigelt B, Hu Z, He X, Livasy C, Carey LA, Ewend M.G, Glas AM, Perou CM, Van't Veer LJ.* Molecular portraits and 70-gene prognosis signature are preserved throughout the metastatic process of breast cancer // *Cancer Res.* – 2005. – Vol.65. – P.9155-9158.
63. *Weigelt B, Mackay A, A'hern R, Natrajan R, Tan DS, Dowsett M, Ashworth A, Reis-Filho JS.* Breast cancer molecular profiling with single sample predictors: a retrospective analysis // *Lancet Oncol.* – 2010. – Vol.11, №4. – P.339-349.
64. *Widschwendter M. and Jones PA.* DNA methylation and breast carcinogenesis // *Oncogene.* – Vol.21. – P.5462-5482.