

Radziław Kordek

Zakład Patologii Nowotworów, Katedra Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Rak piersi — badania molekularne w klinice

Breast cancer — molecular tests in clinical setting

Adres do korespondencji:

Prof. dr hab. n. med. Radziław Kordek
Zakład Patologii Nowotworów
Katedra Onkologii UM
ul. Pomorska 521, CKD-A4, 92-213 Łódź
e-mail: radzislaw.kordek@umed.lodz.pl

STRESZCZENIE

Nowe odkrycia w obszarze biologii nowotworów i nowe molekularne metody badawcze budzą nadzieje związane z ich predykcijnymi perspektywami i poprawą wyników terapii. Poniższy przegląd sygnalizuje wyniki najważniejszych badań u chorych na raka piersi: mutacje P53, zmiany BRCA1 i wielogenowe analizy ekspresji. Na dzisiaj żadna z tych koncepcji i metod nie przyniosła istotnego przełomu w terapii.

Słowa kluczowe: genetyka, rak piersi

ABSTRACT

New discoveries in the field of cancer biology and new molecular research methods raise hopes for their perspectives as predictors and improvement in the results of therapy. The following overview indicates the main results of the studies in patients with breast cancer: p53 mutations, changes in the BRCA1 and multigene expression analysis. As of today, none of the ideas and methods brought about a significant breakthrough in therapy.

Key words: genetics, breast cancer

Onkologia w Praktyce Klinicznej
2012, tom 8, nr 3, 100–104
Copyright © 2012 Via Medica
ISSN 1734-3542
www.opk.viamedica.pl

Onkol. Prak. Klin. 2012; 8, 3: 100–104

Praca finansowana z działalności statutowej Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi: 503/1-034-03/503-01

Wstęp

Nowotwór jest chorobą genetyczną, a jego przyczyną są zmiany w strukturze DNA oraz zmiany epigenetyczne prowadzące do zaburzenia kontroli proliferacji i dojrzewania komórek. Klasyczna teoria „drabiny” zdarzeń zakłada, że jest to proces stopniowy, w którym kumulują się zaburzenia molekularne, dając progresję złośliwości. Dzisiaj wiadomo, że ten mechanizm występuje w dużej grupie nowotworów, jednak część z nich wiąże się z izolowanymi, pojedynczymi zmianami genomu, nie tylko w obszarach kodujących białka. Wydaje się także, że istotną rolę w rozwoju wielu nowotworów złośliwych odgrywa tzw. katastrofa mitotyczna, gdzie fazę mitozy

przechodzą komórki z bardzo licznymi i powstałymi jednocześnie zaburzeniami molekularnymi, które powinny doprowadzić do śmierci okołomitotycznej (proces zbliżony do apoptozy).

Nowotwory mogą prezentować różny zakres i liczbę zmian genomowych. W jednym obserwuje się kilkadziesiąt tysięcy mutacji genowych, w innym — jedną mutację w obrębie miRNA, jeszcze niedawno zaliczanego do obszaru nazwanego „śmieciowym DNA”. Jeżeli geny i krótkie RNA są kodowane w około 5% naszego łańcucha, to nadal nie wiadomo, dlaczego transkrypcji ulega prawie 90%. Nowe odkrycia ujawniają bezkresne horyzonty naszej niewiedzy.

Postępy w biologii molekularnej nowotworów przynoszą odkrycia, które chcielibyśmy zastosować w skutecznej terapii chorych. Rodzą się nowe nadzieje, nie zawsze uzasadnione, rzadko spełnione. W niektórych typach nowotworów to się udaje, w innych nie. W tej pracy skupiono się na kilku problemach dotyczących raka piersi.

TP53 — wielkie, niespełnione nadzieje

Gen *TP53* został opisany w 1979 roku, ale dopiero pod koniec lat osiemdziesiątych skorelowano jego rolę z kluczowym etapem kancerogenezy i stwierdzono, że jest zmutowany w ponad połowie nowotworów złośliwych. W wielu pozostałych jest wyciszony w wyniku epigenetycznej hipermetylacji. W bazie PubMed ukazało się na temat tego genu ponad 56 tysięcy publikacji. Trwały prace eksperymentalne dotyczące zastosowania terapeutycznego (dostarczenia na wektorach wirusowych prawidłowego *TP53* do komórki). Publikowano ważne prace o predykcyjnej roli tego genu m.in. w terapii raka piersi. Nic z tego nie zostało wprowadzone do codziennej praktyki.

Przypomnijmy funkcję genu *TP53* w komórce. Gen *TP53* był nazywany strażnikiem genomu, a jego funkcję można opisowo porównać do kontroli na bramce. Jeżeli w początkowej fazie podziału komórki wykryte są nieprawidłowości struktury DNA, uruchamiają się mechanizmy naprawy, a gen *P53* powoduje zatrzymanie podziału w fazie G1. Jeżeli uszkodzenia zostaną naprawione, komórka może ulec podziałowi, natomiast w przypadku braku naprawy — *TP53* indukuje apoptozę komórki, aby błędy nie były powielane. To wspaniały mechanizm przyrody, eliminujący poprzez śmierć nieprawidłowości genomu. Jest to zarazem mechanizm dużo bardziej skomplikowany, niż widać to na prostych schematach — indukcja apoptozy przez *TP53* wiąże się z ekspresją licznych genów, a komórki u zwierząt transgenicznych radzą sobie także w przypadku braku prawidłowego *TP53*. Już to przestrzega przed prostym rozumowaniem dotyczącym efektów terapeutycznych.

Intensywnie badano rokownicze i predykcyjne znaczenie mutacji *TP53* w rakach piersi. Eksony 5–8 genu *P53* wykazują obecność mutacji w około 20% przypadków tego raka i liczne prace dowodzą, że przeżycie u tych chorych jest krótsze [1, 2]. Wydawało się logiczne, że nowotwory z nieprawidłowym *TP53* mogą nie reagować na terapię uszkadzającą DNA, gdyż nienaprawialne błędy w sekwencji polinukleotydowej łańcucha mogą nie doprowadzać do śmierci komórek. Zatem, jeżeli terapia taka jak promienie lub chemioterapia ma zabijać komórki raka poprzez indukowanie apoptozy na drodze *TP53* zależnej, to w nowotworach z mutacją tego genu można oczekiwać, że efekt terapeutyczny nie wystąpi. DNA uszkadzają leki alkilujące i antracykliny, ale także fluorouracyl działa poprzez *TP53*, gdyż deplecja trifosforybonukleozydów wywołwana przez ten lek stanowi indukcję aktywności *TP53*. W takich przypadkach można stosować z wyboru inne leki, na przykład blokujące wrzecziono podziałowe. W rzeczywistości nie okazało się to takie proste.

Oporność na doksorubicynę wiąże się generalnie z obecnością mutacji *TP53*, lecz niektóre mutacje *TP53* szczególnie zwiększają oporność na antracykliny

[3, 4]. Podobnie zresztą markerami takiej oporności są: wysoka ekspresja *HER2*, wysoki stopień złośliwości histologicznej i brak ekspresji *BCL2*, nie jest to zatem zależność jednoznaczna i może wynikać z innych cech niż mutacja *P53* [4]. Nie wykazano takiej zależności w przypadku obecności *P53* wykrywanej immunohistochemicznie lub w przypadku faktu wystąpienia LOH tego genu, zatem konieczne jest sekwencjonowanie eksonów. Stąd zrodził się pomysł, aby pacjentów z mutacją *P53* w raku piersi poddawać terapii lekami z innej grupy, np. paklitaksemem. Ten lek stabilizuje polimeryzację tubuliny, a tym samym tworzenie wrzecziona podziałowego, ale także indukuje apoptozę [5, 6]. Są to działania niezależne od siebie, a zależne od stężenia: przy niskiej koncentracji leku indukują apoptozę, a przy wyższych (stosowanych terapeutycznie) działają cytostatycznie.

Pierwsze prace, nie tylko dotyczące raka piersi, były bardzo entuzjastyczne [4, 7]. Jednak z opublikowanych ostatnio badań klinicznych, w sumie ponad 10 lat po pojawieniu się tej koncepcji, wynika dość jednoznacznie, że mutacje *TP53* nie mają znaczenia predykcyjnego dla terapii opartej na taksanach lub innych schematach [8]. Nie potwierdzono także wcześniejszych doniesień o istotności mutacji *TP53* dla efektywności radioterapii.

Zmiany genu *BRCA1* a analogi platyny

Geny *BRCA1*, znane z rodzinnych zespołów występowania raka piersi i jajnika, biorą udział m.in. w naprawie uszkodzeń podwójnej nici DNA. Ponieważ analogi platyny powodują właśnie takie uszkodzenia, powstała koncepcja, że w rakach piersi z mutacją *BRCA1* terapia tymi lekami powinna być szczególnie skuteczna. Koncepcja pojawiła się po koniec lat dziewięćdziesiątych, a prace eksperymentalne wstępnie potwierdzały taką teorię [9]. Polscy badacze zastosowali terapię cisplatyną u chorych z rakiem piersi w rodzinnych zespołach związanych z mutacją *BRCA1*, uzyskując całkowitą patomorfologiczną odpowiedź u 10 na 12 leczonych chorych [10, 11]. W grupie kontrolnej leczonej antracykliną i cyklofosfamidem (AC) taką odpowiedź uzyskano u 22%, co jest jednak liczbą co najmniej dwukrotnie mniejszą od uzyskiwanych w innych badaniach.

Zastosowanie cisplatyny u tych chorych budzi zapytania i emocje. W edytorskim komentarzu do ostatniej publikacji w *Journal of Clinical Oncology* (2010; 28: 361–363) dr Carey podaje szereg wątpliwości i stwierdza, że brak jest podstaw do wdrożenia takiej terapii. Z kolei entuzjaści twierdzą, że czekając na wyniki badań kontrolowanych, pomija się potencjalną możliwość skutecznej terapii.

Wyniki badań eksperymentalnych studzą nieco ten entuzjazm. W modelu mysim, mimo 100% całkowitych

odpowiedzi po cisplatynie, po 2–3 miesiącach następował nawrót całkowicie oporny na chemioterapię [12]. Może zatem całkowite remisje u ludzi również nie zapowiadają istotnej redukcji umieralności? Potrzeba czasu, aby odpowiedzieć na te pytania.

Zainteresowanie predykcijnym znaczeniem zmian genów *BRCA1* nie ogranicza się do rodzinnych zespołów związanych z ich mutacją. Także raki piersi typu podstawnego (*basal-like*) mają podobne profile molekularne do raków u chorych z mutacją *BRCA1/2* i często mają niską ekspresję tych genów, głównie w wyniku ich hipermetylacji [13]. Wyniki wstępnych prób są obiecujące, i to zarówno w typie bazalnym, jak i w zbliżonej grupie raków potrójnie negatywnych, jednocześnie trwa duże badanie mające wyjaśnić ten problem [14].

Nie można jednak ograniczać problemu do *BRCA1* i platyny. W rakach potrójnie negatywnych profil związany z mutacją *BRCA1* i tzw. sygnaturą naprawy wiązał się z większą wrażliwością na antracykliny i większą opornością na taksany [15]. Optymalizacja leczenia wymaga zatem analizy większej liczby zmiennych i skupianie się na prostych zależnościach może nie przynieść istotnego postępu. Warto przypomnieć, że geny rzadko działają w pojedynkę, na zasadzie „wszystko albo nic”. Wiele z nich funkcjonuje w skomplikowanych, wieloelementowych pętlach, a wyłączenie jednego z nich, pozornie bardzo ważnego, niekiedy nie powoduje istotnych zmian w funkcjonowaniu komórki (redundancja). Oznacza to, że szukanie pozornie logicznych i prostych zależności, mimo optymistycznych obserwacji w małych grupach, nie owocuje istotnym postępem terapeutycznym — *TP53* pozostanie dobrym przykładem.

BRCA1 wydaje się także istotnym celem molekularnym dla terapii inhibitorami PARP (*adenosine diphosphate [ADP]-ribose-polymerase*). PARP jest niezbędnym elementem naprawy DNA w mechanizmie wycinania zasad. Inhibitory PARP wydają się szczególnie obiecujące w przypadkach z mutacjami *BRCA1/2*, jednak badania kliniczne nie są zakończone [16].

Profilowanie molekularne (wielogenowe analizy ekspresji)

Badania raków piersi z zastosowaniem mikromacierzy DNA wykazały istnienie grup raka znacznie różniących się profilem molekularnym [17, 18]. Największą grupę stanowią raki o profilu komórek warstwy wewnętrznej gruczołu piersiowego (typ „luminalny”), Druga, mniejsza grupa to raki o profilu komórek warstwy podstawnej, a trzecia grupa jest zbliżona do „typu podstawnego” i charakteryzuje się obecnością silnej ekspresji *HER2* i genów spokrewnionych. Co jest na swój sposób interesujące i zabawne, publikacja na ten temat [17] spotkała się z wielkim zainteresowaniem, chociaż

opisano w niej to, co od lat było wiadomo. O jej popularności zadecydowała jednak niezwykle atrakcyjność nowej, spektakularnej metody badawczej.

W bardzo nagłośnionej pracy z użyciem technik mikromacierzy DNA wydzielono grupę 70 genów tworzących istotny profil o znaczeniu rokowniczym, który okazał się silniejszym narzędziem prognostyczno-predykcijnym niż system St Gallen czy też konsensus Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) [19]. W dalszych badaniach van de Vijver i wsp. wykorzystali badania opracowanych wcześniej 70 markerów dobrego/złego rokowania do statystycznej analizy raka piersi w grupie 295 pacjentek. Okazało się, że molekularne profilowanie prognostyczne jest rzeczywiście skorelowane z uznanymi wcześniej i powszechnie stosowanymi markerami prognostycznymi, takimi jak: wiek pacjentki, obraz histologiczny nowotworu i status receptora estrogenu [20]. Jednak trzeba zwrócić uwagę na fakt, że chociaż profilowanie zastosowane przez van de Vijvera i wsp. umożliwia dużo lepsze prognozowanie niż dotychczas wykorzystywane metody, to nie jest one bezwzględnie pewne. Przeżywalność 10 lat w grupie o dobrym rokowaniu wynosiła 94,5%, a w grupie ze złym rokowaniem 54,6%. Wyniki te wskazują na niewielki, kilkuprocentowy odsetek pacjentek w grupie określonej jako dobrze rokująca, które wymagają dalszej, bardziej precyzyjnej diagnostyki i leczenia adiuwantowego: w grupie o dobrym rokowaniu prawdopodobieństwo niewystąpienia rozsiewu w okresie 10 lat wynosiło 85,2%. Trzeba przy tym pamiętać, że metoda profilowania zastosowana przez van de Vijvera i wsp. jest prawdziwa dla pacjentek poniżej 55. roku życia ze stosunkowo małymi guzami w I bądź II stopniu zaawansowania klinicznego [20, 21]. W kolejnych latach podobne wyniki, oparte na innych zestawach genów, uzyskiwali inni autorzy, co spowodowało wzrost zainteresowania metodą i nieuchronny jej kontakt z kliniką.

Wielogenowe profilowanie molekularne ma jedną wielką zaletę — jest bardzo widowiskowe w czasie prezentacji. Oczywiście to nie jest jedyna zaleta. Ma też jednak kilka istotnych wad, na które często nie zwraca się uwagi. Pierwszą jest istotna możliwość wystąpienia błędów w pojedynczym odczycie, co w dużej mierze zależy od warunków technicznych. Co także ważne, analiza matematyczna wyników — wbrew pozorom obiektywizm — nie jest obiektywna i zależy od algorytmów liczenia ustalanych przez badaczy. Zatem, badając ekspresję setek (a tym bardziej tysięcy) genów, otrzymany zestaw 70 genów związany z rokowaniem lub terapią nie jest bynajmniej unikalny i modyfikując program liczący, można uzyskać kilka innych — równie istotnych statystycznie — zestawów genów [22, 23].

Wyniki uzyskane z wielogenowych analiz ekspresji nie pokrywają się z wynikami klasycznych standardów terapeutycznych, co może powodować poważne rozterki medyczne. I tak, przy odsetku chorych zaliczonych do

grupy złego rokowania w metodzie „70 genów” równym 49% uzyskano [24]:

- dla Dutch CBO guidelines: 43% (30% niezgodności);
- dla Adjuvant! Online: 69% (37% niezgodności);
- dla Nottingham Prognostic Index: 42% (27% niezgodności);
- dla St Gallen: 83% (39% niezgodności).

Ponieważ żadna z tych metod nie ma 100-procentowej swoistości i czułości dla korzyści z zastosowania chemioterapii, a ich wartości rokownicze są podobne, dodatkowy czynnik w postaci sygnatur ekspresji genów nie daje obiektywnego narzędzia, lecz jest interpretowany w zależności od nastawienia. Poszukiwanie nowych, lepszych narzędzi do wskazywania chorych na raka piersi, którym chemioterapia pomaga, ma ważny cel unikania leczenia chorych, które nie odnoszą korzyści z tego postępowania. Zatem — co oczywiste — dobre narzędzie powinno zmniejszać liczbę leczonych chorych, a w szczególności w grupie chorych, w której takie poważne wątpliwości istnieją (ER+, N-). Czy jednak w grupie chorych, u których „klasyczne” zalecenia wskażą uzupełniającą chemioterapię, ktoś jej nie poda na podstawie „dobrej sygnatury”? I co zrobić z chorą, u której „klasyczne” zalecenia pozwolą na uniknięcie adiuwanta, a sygnatury wskażą wysokie ryzyko? Dzisiaj nikt rozsądny nie udzieli jednoznacznej, opartej na wiedzy, odpowiedzi na te pytania. Osoby nadmiernie wierzące w badania genetyczne będą postępowały inaczej niż osoby wątpiące. Trwają badania (MINDACT), lecz biorąc pod uwagę badaną, dość dobrze rokującą grupę, na wyniki poczekamy kilka lat. Tymczasem na rynku są już dostępne testy oparte na tych metodach i są one stosowane coraz powszechniej jako dodatkowe elementy podejmowania decyzji terapeutycznych.

Na rynku dominują dwa testy. Amerykański Oncotype DX został opracowany w Uniwersytecie Stanforda dla kobiet z rakiem w I lub II stopniu zaawansowania klinicznego, N0, ER+. Z kolei MammaPrint został przygotowany na bazie holenderskich publikacji i jest przeznaczony dla kobiet w wieku do 61 lat, N0, guzy do 5 cm. Obydwa testy kosztowały niedawno po 3000 dolarów/euro za 1 badanie, przy czym trzeba pamiętać że 15–20% badań nie daje miarodajnych wyników, głównie z powodów technicznych.

Dość liczne prace wskazują na wartość Oncotype DX (NSABP B-14, B-20) i American Society of Clinical Oncology (ASCO) w 2007 roku zawarło w swoich zaleceniach terapeutycznych rekomendację testu. Z kolei National Comprehensive Cancer Network zaleciło dodanie testu (OncotypeDX) do procesu decyzji o włączeniu chemioterapii, ale tylko po uwzględnieniu innych elementów oceny ryzyka (poziom 2B, *recommendation nonuniform with no major disagreement*). W Stanach Zjednoczonych eksperci najczęściej rekomendują

OncotypeDX, podczas gdy inne testy (MammaPrint, MapQuantDx, PAM50) nie znalazły się w zaleceniach, głównie z powodu braku wystarczających badań, w tym wykazujących lepsze przeżycia u chorych kwalifikowanych zgodnie z tymi testami [24]. Jednak pozostają istotne wątpliwości także dotyczące klinicznej użyteczności OncotypeDX, a przede wszystkim jego wartości (wyższości?) w porównaniu z klasycznymi przewodnikami klinicznymi [26].

Ciekawą odpowiedź daje porównanie wyników testów ekspresji genów. Dla trzech zestawów stosowanych do prognozowania przeżycia u chorych leczonych tamoksyfenem zgodność klasyfikacji do tej samej grupy rokowniczej wynosiła tylko 45–61% [27]. Wyniki uzyskane w testach MammaPrint i OncotypeDX również są często różne dla tych samych guzów [28].

Postęp w badaniach genetycznych obudził nadzieję na personalizację leczenia, czyli dostosowywanie terapii do konkretnego guza u wskazanej chorej, uwzględniającej zarówno zmiany genetyczne w nowotworze, jak i osobnicze polimorfizmy. Wielogenowe analizy ekspresji jawią się jako idealne narzędzia do takich działań, i to nie określających rokowanie u tych chorych, jak OncotypeDX, ale wskazujących optymalną terapię. W 2007 roku ukazała się publikacja Bonnefoi i wsp., w której zaprezentowano sygnatury o nieprawdopodobnej wartości predykcyjnej: predyktor FEC miał czułość 96%, swoistość 66%, a predyktor TET miał czułość 93%, swoistość 69% [29], przy czym były to jedyne niezależne od innych czynników zmienne przewidujące całkowitą remisję. Nadzieje prysnęły, gdy ukazały się krytyczne analizy publikacji, którą w końcu wycofano [30].

Wielogenowe analizy ekspresji nie przyniosły przełomu, co jednak nie powinno załamywać. Pozostaje oczekiwanie na odpowiedź w kwestii platyn i *BRCA1*, obiecujące wyniki przynoszą badania nad skutecznością P-FEC w guzach z amplifikacją *c-myc*, pojawiają się nowe koncepcje [31].

Piśmiennictwo

1. Berns E.M., Foekens A., Vossen R. i wsp. Complete sequencing of TP53 predicts poor response to systemic therapy of advanced breast cancer. *Cancer Res.* 2000; 60: 2155–2162.
2. Powell B., Soong R., Iacopetta B. i wsp. Prognosis significance of mutations to different structural and functional regions of the P53 gene in breast cancer. *Clin. Cancer Res.* 2000; 6: 443–451.
3. Aas T., Barresen A.L., Geisler S. i wsp. Specific p53 mutations are associated with de novo resistance to doxorubicin in breast cancer patients. *Nat. Med.* 1996; 2: 811–814.
4. Geisler S., Lonning P.E., Aas T. i wsp. Influence of TP53 gene alterations and c-erb-2 expression on the response to treatment with doxorubicin in locally advanced breast cancer. *Cancer Res.* 2001; 61: 2505–2512.
5. Derry W.B., Wilson L., Jordan M.A. Low potency of taxol at microtubule minus ends: implication for its antimetabolic and therapeutic mechanism. *Cancer Res.* 1998; 58: 1177–1184.
6. Gan Y., Wientjes M.G., Lu J. i wsp. Cytostatic and apoptotic effects of paclitaxel in human breast tumors. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1998; 42: 177–182.

7. Kandioler-Eckersberger D., Kappel S., Mittlböck M. i wsp. The TP53 genotype but not immunohistochemical result is predictive of response to cisplatin-based neoadjuvant therapy in stage III non-small cell lung cancer. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1999; 117: 744–750.
8. Bonnefoi H., Piccart M., Bogaerts J. i wsp. TP53 status for prediction of sensitivity to taxane versus non-taxane neoadjuvant chemotherapy in breast cancer (EORTC 10994/BIG 1-00): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncology* 2011; 12: 527–539.
9. Husain A., He G., Venkatraman E.S., Spriggs D.R. BRCA1 up-regulation is associated with repair-mediated resistance to cis-diamminedichloroplatinum(II). *Cancer Res.* 1998; 58: 1120–1123.
10. Byrski T., Gronwald J., Huzarski T. i wsp. Pathologic complete response rates in young women with BRCA1-positive breast cancers after neoadjuvant chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28: 375–379.
11. Byrski T., Huzarski T., Dent R. i wsp. Response to neoadjuvant therapy with cisplatin in BRCA1-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res. Treat.* 2009; 115: 359–363.
12. Shafee N., Smith C.R., Wei S. i wsp. Cancer stem cells contribute to cisplatin resistance in Brca1/p53-mediated mouse mammary tumors. *Cancer Res.* 2008; 68: 3243–3250.
13. Molyneux G., Geyer F.C., Magnay F.A. i wsp. BRCA1 basal-like breast cancers originate from luminal epithelial progenitors and not from basal stem cells. The Breakthrough Breast Cancer Research Centre, The Institute of Cancer Research, 237 Fulham Road, London SW3 6JB, UK. *Cell Stem Cell* 2010; 7: 403–417.
14. Sirohi B., Arnedos M., Popat S. i wsp. Platinum-based chemotherapy in triple-negative breast cancer. *Ann. Oncol.* 2008; 19: 1847–1852.
15. Rodriguez A.A., Makris A., Wu M.F. i wsp. DNA repair signature is associated with anthracycline response in triple negative breast cancer patients. *Breast Cancer Res. Treat.* 2010; 123: 189–196.
16. Rios J., Puhalla S. PARP inhibitors in breast cancer: BRCA and beyond. *Oncology* 2011; 25: 1014–1025.
17. Perou Ch.M., Jeffrey S.S., van de Rees R.M. i wsp. Distinctive gene expression patterns in human mammary epithelial cells and breast cancers. *PNAS USA* 1999; 96: 9212–9217.
18. Perou Ch.M., Sorlie T., Eisen M.B. i wsp. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406: 747–752.
19. van't Veer L.J., van de Vijver M.J., Dai H. i wsp. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002; 415: 530–535.
20. van de Vijver M.J., He Y.D., van't Veer L.J. i wsp. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 2002; 347: 1999–2009.
21. van't Veer L.J., Dai H., van de Vijver M.J., He Y.D., Hart A.A., Bernards R., Friend S.H. Expression profiling predicts outcome in breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2003; 5: 57–58.
22. Ein-Dor L., Kela I., Getz G., Givol D., Domany E. Outcome signature genes in breast cancer: is there a unique set? *Bioinformatics* 2005; 21: 171–178.
23. Haury A.C., Gestraud P., Vert J.P. The influence of feature selection methods on accuracy, stability and interpretability of molecular signatures. *PLoS One* 2011; 6: e28210.
24. Bueno-de-Mesquita J.M., van Harten W.H., Retel V.P. i wsp. Use of 70-gene signature to predict prognosis of patients with node-negative breast cancer: a prospective community-based feasibility study (RASTER). *Lancet Oncol.* 2007; 8: 1079–1087.
25. Paik S. Is gene array testing to be considered routine now? *Breast* 2011; 20 (supl. 3): S87–S91.
26. Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention (EGAPP) Working Group. Recommendations from the EGAPP Working Group: can tumor gene expression profiling improve outcomes in patients with breast cancer? *Genet. Med.* 2009; 11: 66–73.
27. Kok M., Linn S.C., Van Laar R.K. i wsp. Comparison of gene expression profiles predicting progression in breast cancer patients treated with tamoxifen. *Breast Cancer Res. Treat.* 2009; 113: 275–283.
28. Kao K.J., Chang K.M., Hsu H.C., Huang A.T. Correlation of microarray-based breast cancer molecular subtypes and clinical outcomes: implications for treatment optimization. *BMC Cancer* 2011; 11: 143.
29. Bonnefoi H., Potti A., Delorenzi M. i wsp. Validation of gene signatures that predict the response of breast cancer to neoadjuvant chemotherapy: a substudy of the EORTC 10994/BIG 00-01 clinical trial. *Lancet Oncol.* 2007; 8: 1071–1078.
30. Bonnefoi H., Potti A., Delorenzi M. i wsp. Retrakcja. *Lancet Oncol.* 2011; 12: 116.
31. Yasojima H., Shimomura A., Naoi Y. i wsp. Association between c-myc amplification and pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Eur. J. Cancer* 2011; 47: 1779–1788.