

Renata Duchnowska

Klinika Onkologii Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie

„Podpis genowy“ jako czynnik rokowniczy w uzupełniającym leczeniu raka piersi

Gene signature as a prognostic factor in breast cancer

Adres do korespondencji:

Dr med. Renata Duchnowska
 Klinika Onkologii Wojskowego Instytutu
 Medycznego
 ul. Szaserów 128, 00-909 Warszawa
 Tel.: +48 (22) 681 71 10
 Faks: +48 (22) 681 84 37
 e-mail: rdt@wp.pl

STRESZCZENIE

W ostatnich latach pojawiła się w onkologii koncepcja „medycyny personalizowanej” obejmującej indywidualny dobór strategii leczenia, co w ma założeniu zwiększyć korzyść terapeutyczną i zmniejszyć ryzyko powikłań. Największe nadzieje w tej dziedzinie wiąże się z opracowaniem „podpisów” („profilu”) molekularnych o dużej wartości rokowniczej i predykcyjnej. Nowotworem, w którym badania te są najbardziej zaawansowane, jest rak piersi, przy czym głównym celem badań jest wyodrębnienie kategorii chorych z grupy niskiego ryzyka, u których można by uniknąć stosowania pooperacyjnej chemioterapii. Dotychczasowe wyniki wskazują, że profile molekularne są bardziej wiarygodnymi czynnikami rokowniczymi niż dotychczas stosowane wskaźniki kliniczno-patologiczne. Już obecnie w zaleceniach konferencji St. Gallen, Amerykańskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej (ASCO) oraz amerykańskiej sieci onkologicznej NCCN dopuszcza się możliwość stosowania profili molekularnych w określeniu ryzyka nawrotu u chorych z niejednoznacznymi wskazaniami do uzupełniającej chemioterapii. Nadal jednak, w związku z retrospektywnym charakterem dotychczasowych badań oraz niewielką liczebnością badanych grup chorych, wartość profili molekularnych jest niejednoznaczna i wymaga weryfikacji w dużych prospektywnych badaniach klinicznych.

Słowa kluczowe: rak piersi, podpis genowy, profil genowy, mikromacierze DNA, metoda RT-PCR, czynniki rokownicze

ABSTRACT

Within the last years a concept of personalized medicine including individual treatment selection has appeared in oncology. This approach is hoped to increase treatment efficacy and decrease its toxicity. Most interest in this area attracts the development of molecular signatures (molecular profiles) with prognostic and predictive value. In this area, the most extensively studied malignancy is breast cancer, and the investigations have been focused on selection of low-risk groups of patients in whom postoperative chemotherapy may be avoided. The available data indicate that molecular profiles may carry stronger prognostic value than currently used clinical and pathological factors. Already now, the guidelines of St. Gallen conference, American Society of Clinical Oncology (ASCO) and National Comprehensive Cancer Network (NCCN) allow applying molecular profiles to predict prognosis in patients with ambiguous indications to adjuvant chemotherapy. However, due to retrospective nature of the studies to date and small series of patients, the real value of these assays is uncertain and warrants validation in large prospective studies.

Key words: breast cancer, molecular profile, molecular signature, DNA microarrays, RT-PCR method, prognostic factors

Onkol. Prak. Klin. 2009; 5, 6: 237-243

Wstęp

Kwalifikacja chorych na wczesnego raka piersi do pooperacyjnej chemioterapii opiera się na ocenie ryzyka nawrotu. Dotychczas o podjęciu tej formy leczenia decydowały tradycyjne czynniki rokownicze, takie jak wiek, stan menopauzalny, typ histologiczny i zróżnicowanie guza, stopień zajęcia pachowych węzłów chłonnych oraz naciekania okołoguzowych naczyń. Wymienione czynniki pozwalają wyodrębnić grupy niskiego, pośredniego i wysokiego ryzyka nawrotu, przy czym ta ostatnia obejmuje jedynie około 10% ogółu chorych [1]. Ponieważ uzupełniającą chemioterapię zaleca się w grupach wysokiego i średniego ryzyka, otrzymuje ją obecnie niemal 90% ogółu chorych. Równocześnie szacuje się, że u około 80% chorych na raka piersi bez przerzutów do pachowych węzłów chłonnych i u około 50% chorych z przerzutami nigdy nie dojdzie do nawrotu choroby po zastosowaniu wyłącznie miejscowych metod leczenia. Oznacza to, że wiele chorych otrzymuje toksyczne i kosztowne leczenie, jakim jest chemioterapia, bez żadnej korzyści klinicznej. W tej sytuacji istotne stało się wyodrębnienie grup chorych o korzystnym profilu, u których bezpiecznie można uniknąć chemioterapii. W przeprowadzonej niedawno w dużej grupie ekspertów ankiecie opracowanie wiarygodnych czynników rokowniczych w raku piersi uznano za jedno z najważniejszych zagadnień współczesnej onkologii [2]. Wydaje się, że cel ten można osiągnąć przy zastosowaniu zaawansowanych technik biologii molekularnej. Obecnie w onkologii mają zastosowanie zarówno testy oparte na technologii mikromacierzy DNA, jak i reakcji łańcuchowej polimerazy DNA z analizą ilości produktu w czasie rzeczywistym (RT-PCR, *real time polymerase chain reaction*). Celem niniejszego przeglądu jest omówienie dotychczasowych doświadczeń w tej dziedzinie oraz toczących się obecnie prospektywnych badań weryfikujących wartość tych metod.

Molekularne podtypy raka piersi

Rozwój metod biologii molekularnej pozwolił na początku XXI wieku na wyodrębnienie 5 podtypów raka piersi: bazalnego, luminalnego A, luminalnego B, HER2-dodatniego oraz typu przypominającego normalną tkankę gruczołową piersi [3, 4]. Podtypy te charakteryzują się zasadniczo odmiennym przebiegiem klinicznym i rokowaniem. Klasyfikacja molekularna związana jest z fenotypem raka określonym na podstawie ekspresji receptora estrogenowego (ER, *estrogen receptor*) i naskórkowego czynnika wzrostu (HER2, *human epidermal growth factor re-*

ceptor 2), jak również z proliferacją i zróżnicowaniem histologicznym guza. W podtypie luminalnym ekspresja cytokeratyn i molekularnych markerów jest podobna do występującej w normalnej tkance gruczołowej piersi [5]. Z kolei rozpoznanie immunohistochemiczne podtypu bazalnego jest trudne z powodu braku szeroko przyjętych kryteriów klasyfikacji. W podtypie tym, poza brakiem ekspresji receptorów steroidowych (ER i PgR) i HER2, nieobecne są również charakterystyczne dla normalnej tkanki piersi komórki mioepiteliane. Z kolei w niektórych przypadkach tego podtypu stwierdza się ekspresję specyficznej cytokeratyny CK 5, receptorów c-kit, insulinopodobnego czynnika wzrostu i czynnika wzrostu hepatocytów [6, 7]. Innym czynnikiem różnicującym podtyp luminalny i bazalny jest dysfunkcja genu *BRCA1*. Prawdopodobnie gen ten wiąże się z procesem różnicowania komórek macierzystych i progenitorowych do komórek luminalnych z ekspresją ER [8]. Istotnie, w rakach piersi rozwijających się na podłożu dziedzicznej mutacji genu *BRCA1* najczęściej stwierdza się fenotyp „potrójnie ujemny” (*triple negative*), natomiast nie dotyczy to nosicielek mutacji *BRCA2* [5, 9].

Stopień zróżnicowania histologicznego i proliferacji pozwala wyodrębnić dwa podtypy raka luminalnego: A i B. Pierwszy z nich cechuje się niskim stopniem proliferacji i wysokim zróżnicowaniem, natomiast drugi jest zbliżony do podtypu bazalnego i HER2-dodatniego, czyli cechuje się wysokim stopniem proliferacji i niskim zróżnicowaniem [7]. Różnice w stopniu zróżnicowania histologicznego w podtypie luminalnym B znalazły również swoje odzwierciedlenie w tak zwanym molekularnym stopniu złośliwości (*genomic grade*), omówionym w dalszej części pracy [10, 11].

Wydaje się, że największe znaczenie w molekularnej klasyfikacji raka piersi ma wyodrębnienie wśród chorych z ekspresją receptora estrogenowego podtypu luminalnego A, charakteryzującego się szczególnie dobrym rokowaniem.

Techniki mikromacierzy DNA

Metoda mikromacierzy DNA polega na umieszczeniu na szklanej, krzemowej lub plastikowej płytce w regularnych pozycjach miniatury pól zawierających różniące się od siebie sekwencją fragmenty. Fragmenty te są sondami, które wykrywają przez hybrydyzację komplementarne do siebie cząsteczki DNA lub RNA, mierząc w ten sposób nasilenie ekspresji tysięcy genów. Liczne prace obejmujące ocenę ekspresji genów związanych z proliferacją i cyklem komórkowym doprowadziły do opracowania molekular-

Tabela 1. Molekularne profile rokownicze w badaniach retrospektywnych

Table 1. Molecular prognostic profiles in retrospective studies

Autor	Analizowany profil genowy	Technika	n	Badana grupa	Względne ryzyko dla przerzutów odległych w okresie 5 lat [HR]	Względne ryzyko dla czasu całkowitego przeżycia
Sotiriou i wsp. [11]	97 genów molekularny indeks mitotyczny	Mikromacierz DNA	597	N0/N+	5 [95% CI: 3–8] p < 0,001	3 [95% CI: 2–6] p < 0,001
Van't Veer i wsp. [12]	70 genów MammaPrint	Mikromacierz DNAv	78	N0	18* [95% CI: 3–94] p = 0.00014	ND
Van de Vijver i wsp. [13]	70 genów MammaPrint	Mikromacierz DNA	295	N0/N+	5 [95% CI: 3–9] p < 0,001	9 [95% CI: 4–19] p < 0,001
Mook i wsp. [14]	70 genów MammaPrint	Mikromacierz DNA	148	N0 i N+	14 [95% CI: 2–122] p = 0,01	ND
Espinosa i wsp. [15]	70 genów MammaPrint	qRT-PCR	96	N0/N+	3 [95% CI: 1–7] p = 0,03	6 [95% CI: 1–31] p = 0,002
Buyse i wsp. [16]	70 genów MammaPrint	Mikromacierz DNA	307	N0	2 [95% CI: 1–4] p = 0,002	3 [95% CI: 2–5] p < 0,001
Wang i wsp. [17]	76 genów profil rotterdami	Mikromacierz DNA	171	N0	6 [95% CI: 3–12] p < 0,0001	20 [95% CI: 3–149] p < 0,0001
Foekens i wsp. [18]	76 genów profil rotterdami	Mikromacierz DNA	180	N0	7 [95% CI: 3–21] p < 0,001	5 [95% CI: 2–18] p = 0,002
Desmedt C i wsp. [19]	76 genów profil rotterdami	Mikromacierz DNA	198	N0	6 [95% CI: 2–19] p = 0,001	3 [95% CI: 1–7] p = 0,0126
Chang i wsp. [20]	Profil wound response	Mikromacierz DNA	295	N0/N+	7 [95% CI: 2–30] p = 0,006	11 [95% CI: 3–50] p = 0,001

n — liczba chorych; HR (*hazard ratio*) — współczynnik ryzyka; *OR (*odds ratio*) — iloraz szans; qRT-PCR (*reverse transcription polymerase chain reaction*) — reakcja łańcuchowa polimerazy z analizą w czasie rzeczywistym; N0 — bez przerzutów w pachowych węzłach chłonnych; N+ — z 1–3 przerzutami w pachowych węzłach chłonnych; ND (*no data*) — brak danych

larnych profili niezależnych od molekularnych podtypów raka piersi [11, 12–20] (tab. 1). Już pierwsze prace na ten temat wykazały, że profile oparte na technologii mikromacierzy DNA wydają się lepiej określać biologię guza oraz jego przebieg niż dotych-

czas stosowane cechy kliniczno-patologiczne [12, 13, 17]. Pierwszy z tych profili, obejmujący analizę ekspresji 70 genów (MammaPrint®) został opracowany w Holenderskim Instytucie Onkologii w Amsterdamie [12]. Spośród chorych na wczesnego raka piersi

bez zajęcia pachowych węzłów chłonnych pozwolił on na wyodrębnienie podgrupy o doskonałym rokowaniu, w której ryzyko nawrotu po wyłącznym miejscowym leczeniu było minimalne. Wartość rokowniczą testu potwierdzono w kolejnych pracach, obejmujących również chore z przerzutami do pachowych węzłów chłonnych [13, 14]. Dokładność oceny ryzyka nawrotu choroby przy użyciu 70-genowego profilu wydaje się większa w porównaniu z opartym na klasycznych czynnikach kliniczno-patomorfologicznych i powszechnie stosowanym komputerowym systemem *Adjuvant!Online* [14].

Kolejny profil, obejmujący 76 genów, został opracowany w Szpitalu Uniwersyteckim Erazma — Centrum Daniela den Hoeda w Rotterdamie [17]. Mimo że profil ten zawiera niemal zupełnie inne geny niż „profil amsterdamski”, jego wartość rokownicza jest podobna [17–19]. W profilu *MammaPrint*® w grupie chorych o niekorzystnym rokowaniu w około 50% przypadków nie doszło do nawrotu po 10 latach mimo zastosowania wyłącznie miejscowego leczenia. Oznacza to, że również w tej grupie znajdują się chore o względnie dobrym rokowaniu, u których zastosowanie pooperacyjnej chemioterapii nie jest konieczne. Wyodrębnienie tej podgrupy wydaje się możliwe przy użyciu innego profilu molekularnego — „nigdy nie gojącej się rany” (*wound response*) [20].

W praktyce klinicznej wysoki stopień złośliwości histologicznej (cecha G3) jest standardowym wskazaniem do zastosowania pooperacyjnej chemioterapii, podczas gdy niski stopień złośliwości (cecha G1) pozwala niejednokrotnie jej uniknąć. Z kolei rola chemioterapii w stopniu pośrednim (cecha G2), stanowiącym blisko połowę ogółu przypadków, nie jest dobrze określona. Metodą pozwalającą spośród chorych z cechą G2 wyodrębnić podgrupy o dobrym i złym rokowaniu, a tym samym ułatwić kwalifikację chorych do pooperacyjnej chemioterapii, jest kolejny profil molekularny — tak zwany „molekularny stopień zróżnicowania”, obejmujący 97 genów [11].

Co ciekawe, łączna analiza profilu *MammaPrint*, „rotterdamskiego” oraz molekularnego stopnia złośliwości w tej samej populacji chorych nieotrzymującej uzupełniającej chemioterapii nie zwiększa dokładności oceny ryzyka nawrotu [21]. Prawdopodobnie wiąże się to z dominującą rolą we wszystkich dotychczasowych profilach genów związanych ze zróżnicowaniem i proliferacją, a tym samym — z wyodrębnieniem częściowo pokrywających się populacji o wysokim ryzyku nawrotu.

Istotnym ograniczeniem testów molekularnych opartych na technologii mikromacierzy DNA jest konieczność bezzwłocznego zamrożenia materiału tkankowego lub utrwalenia go w medium chroniącym mRNA.

Testy oparte na technologii RT-PCR

Rozwijająca się równocześnie z badaniami mikromacierzowymi technologia oparta na metodzie łańcuchowej reakcji polimerazy DNA z analizą produktu w czasie rzeczywistym (RT-PCR) pozwoliła na opracowanie 21-genowego testu *OncotypeDx*® o wysokiej wartości rokowniczej. Profil ten powstał w wyniku analizy ekspresji 250 genów związanych z przebiegiem klinicznym raka piersi, wyodrębnionych spośród około 33 000 genów składających się na ludzki genom. Wśród 21 genów składających się na test znajduje się 16 genów związanych z ryzykiem rozsiewu i 5 genów referencyjnych, które służą do normalizacji ekspresji pozostałych 16 genów. Test *OncotypeDx*® pozwala w grupie chorych z ekspresją receptora estrogenowego wyodrębnić 3 kategorie ryzyka wznowy mierzone tak zwanym wskaźnikiem nawrotu (RS, *recurrence score*). Pod względem klinicznym ważne jest, że w grupie chorych o niskim RS, niezależnie od zajęcia pachowych węzłów chłonnych, dołączenie chemioterapii do uzupełniającego leczenia tamoksyfenem nie przynosi dodatkowej korzyści [22–26] (tab. 2). Należy podkreślić, że test *OncotypeDX*®, podobnie jak omówione wcześniej profile oparte na mikromacierzach DNA, ma wyłącznie znaczenie rokownicze. Nie ma on natomiast wartości predykcyjnej, ponieważ nie określa wrażliwości na poszczególne metody onkologicznego leczenia systemowego [27, 28]. Jego niewątpliwą zaletą jest możliwość wykonania badania z użyciem materiału tkankowego przechowywanego w postaci parafinowego bloczka. W innym, mniej znanym, opartym na metodzie RT-PCR teście *Theros*®, u chorych z ekspresją receptora estrogenowego otrzymujących pooperacyjne leczenie tamoksyfenem ryzyko nawrotu ocenia się na podstawie różnicy w ekspresji dwóch genów: *homeobox (HOXB13)* i receptora 17B interleukiny (*IL17BR*) — (H/I) w połączeniu z oceną indeksu mitotycznego [29]. We wcześniejszych badaniach wykazano, że nadekspresja genu *HOXB13* wiąże się z ryzykiem nawrotu, podczas gdy nadekspresja *IL17BR* stanowi cechę związaną z korzystnym przebiegiem nowotworu [30].

Dyskusja

Wyniki dotychczasowych badań sugerują, że „podpis genowy” jest dokładniejszym czynnikiem rokowniczym niż dotychczas znane czynniki kliniczno-patomorfologiczne. Tymczasem jednak retrospektywny charakter dotychczasowych badań oraz niewielka liczebność badanych grup chorych nie pozwalają na jednoznaczne określenie wartości profili molekularnych w praktyce klinicznej. Ich rzeczywista wartość zostanie najpewniej ostatecznie zweryfikowana w realizo-

Tabela 2. Retrospektywne badania potwierdzające wartość rokowniczą testu *recurrence score* (RS) — Oncotype DX® u chorych z cechą ER(+)**Table 1. Molecular prognostic profiles in retrospective studies**

Autor	n	Badana grupa	Uzupełniające leczenie systemowe	Udział przerzutów odległych w ciągu 10 lat (średnia i 95% CI)		
				Niski RS	Pośredni RS	Wysoki RS
Paik i wsp. [22]	668	N0	TAM	7% [4–10]	14% [8–20]	31% [24–37]
Paik i wsp. [23]	651	N0	TAM vs.	3% [0–6]	9% [1–17]	40% [25–50]
			TAM + CHT	4% [1–7]	11% [4–18]	12% [6–18]
Cobleigh i wsp. [24]	78	N>	TAM ± i ± CHT	29% [0–53]	72% [38–88]	80% [63–89]
Esteva i wsp. [25]	149	N0	Bez ULS	18% [7–30]	38% [15–61]	28% [13–32]
Albain i wsp. [26]	367	N+	TAM vs.	40% [34–60]	51% [37–68]	37% [43–72]
			CHT → TAM	38% [25–50]	37% [26–52]	45% [33–60]

*n — liczba chorych; N0 — bez przerzutów w pachowych węzłach chłonnych; N+ — z 1–3 przerzutami w pachowych węzłach chłonnych; N > — przerzuty w > 10 pachowych węzłach chłonnych; TAM — tamoksyfen; CHT — chemioterapia; ULS — uzupełniające leczenie systemowe; CI (*confidence interval*) — przedział ufności

wanych obecnie dużych prospektywnych badaniach: MINDACT i TAILORx. Pierwsze z nich ma odpowiedzieć na pytanie, czy na podstawie analizy MammaPrint® można bezpiecznie uniknąć zastosowania pooperacyjnej chemioterapii u chorych w I–II stopniu zaawansowania z cechą pN0 i pN1 (do 3 węzłów chłonnych zajętych przerzutami). Z kolei celem amerykańskiego badania TAILORx jest wyodrębnienie spośród chorych w I–II stopniu zaawansowania klinicznego z cechą N0, ER (+) i z pośrednią kategorią ryzyka wznnowy ocenionej testem Oncotype DX® (RS 11–25) podgrupy, która nie odniesie korzyści z dołączenia chemioterapii do hormonoterapii. Dodatkowym atutem obu projektów jest możliwość stworzenia banku tkanek i perspektywa opracowania testów predykcyjnych dla stosowanych w tych badaniach metod systemowego leczenia [31, 32].

Mimo że wyniki obu tych badań będą dostępne dopiero za kilka lat, już obecnie zalecenia konferencji St. Gallen, Amerykańskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej (ASCO, *American Society of Clinical Oncology*) oraz amerykańskiej sieci onkologicznej (NCCN, *National Comprehensive Cancer Network*) dopuszczają możliwość stosowania profili molekularnych w określeniu ryzyka nawrotu u chorych z niejednoznacznymi wskazaniami do uzupełniającej chemioterapii [33, 34]. Zaleca się jednak, aby wyniki tych testów interpretować ostrożnie i z uwzględnieniem tradycyjnych czynników kliniczno-patomorfologicznych. Testy MammaPrint® i OncotypeDx®, obok dwóch mniej znanych: Theros® (Biotheranostics) i MapQuantDx® (Ipsogen), są już dostępne komercyjnie, choć ich zastosowanie jest

dotychczas ograniczone. Pierwsze analizy z ośrodków amerykańskich i duńskich wykazały jednak, że zastosowanie testu Oncotype DX® wiązało się ze zmianą decyzji leczniczej (hormonoterapia zamiast chemioterapii) w około 30% przypadków [35–37].

Istotną barierą utrudniającą upowszechnienie molekularnych testów rokowniczych jest ich wysoki koszt, sięgający kilku tysięcy amerykańskich dolarów, a także ograniczona możliwość ich wykonania (badania wykonywane są w nielicznych licencjonowanych laboratoriach). Niewątpliwie technika oparta na metodzie RT-PCR jest dogodniejsza, ponieważ pozwala ona na wykonanie badania z użyciem materiału tkankowego przechowywanego w parafinowych bloczkach. Co ciekawe, w jednym z badań potwierdzono rokowniczą wartość 70-genowego profilu mikromacierzy przy zastosowaniu metody qRT-PCR [15].

W tym kontekście warto wspomnieć o innym teście rokowniczym stosowanym we wczesnym raku piersi, opartym na technologii immunoenzymatycznej (ELISA, *enzyme-linked immunosorbent assay*), polegającym na pomiarze ekspresji dwóch cząsteczek systemu aktywacji plazminogenu — aktywatora plazminogenu typu urokinazy (uPA, *urokinase plasminogen activator*) i inhibitora aktywatora plazminogenu 1 (PAI-1, *plasminogen activator inhibitor 1*) [38]. Ten względnie prosty i tani test przeszedł już walidację na dużym materiale klinicznym i może stanowić wartościową alternatywę dla profili wielogenowych. Jego istotnym ograniczeniem, podobnie jak w przypadku testu MammaPrint®, jest jednak konieczność wykonania badania na świeżo zamrożonym tkankowym wycinku guza.

Wnioski

Wydaje się, że w przyszłości algorytm oceny ryzyka nawrotu powinien uwzględniać łączną ocenę klasycznych czynników kliniczno-patomorfologicznych i molekularnych. Połączenie obu metod powinno umożliwić najbardziej wiarygodną ocenę indywidualnego ryzyka nawrotu i wskazać kategorie chorych, u których można uniknąć chemioterapii. Ponadto w leczeniu systemowym raka piersi wybór leczenia w coraz większym stopniu uzależnia się od przewidywanej wrażliwości na leczenie. Według ostatnich założeń konferencji w St. Gallen cechą tę uważa się wręcz za bardziej istotną niż ocenę ryzyka nawrotu [33]. Opracowaniu nowych testów rokowniczych towarzyszyć zatem musi opracowanie wiarygodnych testów predykcyjnych, które pozwolą na wybór optymalnego leczenia systemowego. Efektem tych strategii powinna być dalsza poprawa wyników leczenia, a także zmniejszenie jego toksyczności i kosztów.

Artykuł jest częścią wykładu wygłoszonego podczas XII Kongresu Polskiego Towarzystwa Onkologii Klinicznej w Sopocie 12 września 2009.

Autorka składa podziękowanie dr. med. Michałowi Jarzabowi za cenne uwagi.

Piśmiennictwo

- Goldhirsch A., Wood W.C., Gelber R.D. i wsp. Progress and promise: Highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2007. *Ann. Oncol.* 2007; 18: 1133–1144.
- Dowsett M., Goldhirsch A., Hayes D.F., Hans-Joerg Senn H.J., Wood W., Viale G. International Web-based consultation on priorities for translational breast cancer research. *Breast Cancer Res.* 2007; 9: R81.
- Perou C.M., Sorlie T., Eisen M.B. i wsp. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406: 747–752.
- Sorlie T., Perou C.M., Tibshirani R. i wsp. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001; 98: 10869–10874.
- Rakha E.A., El-Sayed M.E., Green A.R. i wsp. Biologic and clinical characteristics of breast cancer with single hormone receptor positive phenotype. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25: 4772–4778.
- Sorlie T., Tibshirani R., Parker J. i wsp. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003; 100: 8418–8423.
- Sotiriou C., Neo S.Y., McShane L.M. i wsp. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003; 100: 10393–10398.
- Liu S., Ginestier C., Charafe-Jauffret E. i wsp. BRCA1 regulates human mammary stem/progenitor cell fate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2008; 105: 1680–1685.
- Kreike B., van Kouwenhove M., Hurlings H. i wsp. Gene expression profiling and histopathological characterization of triple-negative/basal-like breast carcinomas. *Breast Cancer Res.* 2007; 9: R65.
- Loi S., Haibe-Kains B., Desmedt C. i wsp. Definition of clinically distinct molecular subtypes in estrogen receptor-positive breast carcinomas through genomic grade. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25: 1239–1246.
- Sotiriou C., Wirapati P., Loi S. i wsp. Gene expression profiling in breast cancer: understanding the molecular basis of histologic grade to improve prognosis. *J. Natl. Cancer Inst.* 2006; 98: 262–272.
- van't Veer L.J., Dai H., van de Vijver M.J. i wsp. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002; 415: 530–536.
- 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.
- Mook S., Schmidt M.K., Weigelt B. i wsp. The 70-gene prognosis signature predicts early metastasis in breast cancer patients between 55 and 70 years of age. *Ann. Oncol.* 2009 [w druku].
- Espinosa E., Fresno Vara J.A., Redondo A. i wsp. Breast cancer prognosis determined by gene expression profiling: a quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction study. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 7278–7285.
- Buyse M., Loi S., van't Veer L. i wsp. Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 2006; 98: 1183–1192.
- Wang Y., Klijn J.G., Zhang Y. i wsp. Gene-expression profiles to predict distant metastasis of lymph-node-negative primary breast cancer. *Lancet* 2005; 365: 671–675.
- Foekens J.A., Atkins D., Zhang Y. i wsp. Multicenter validation of a gene expression-based prognostic signature in lymph node-negative primary breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 1665–1671.
- Desmedt C., Piette F., Loi S. i wsp. TRANBIG Consortium: Strong time-dependency of the 76-gene prognostic signature for node-negative breast cancer patients in the TRANBIG multi-centre independent validation series. *Clin. Cancer Res.* 2007; 13: 3207–3214.
- Chang H.Y., Nuyten D.S., Sneddon J.B. i wsp. Robustness, scalability, and integration of a wound-response gene expression signature in predicting breast cancer survival. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005; 102: 3738–3743.
- Haibe-Kains B., Desmedt C., Piette F. i wsp. Comparison of prognostic gene expression signatures for breast cancer. *BMS Genomics* 2008; 9: 394.
- Paik S., Shak S., Tang G. i wsp. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351: 2817–2826.
- Paik S., Shak S., Tang G. i wsp. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 3726–3734.
- Cobleigh M.A., Tabesh B., Bitterman P. i wsp. Tumor gene expression and prognosis in breast cancer patients with 10 or more positive lymph nodes. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11: 8623–8631.
- Esteva F.J., Sahin A.A., Cristofanilli M. i wsp. Prognostic role of a multigene reverse transcriptase-PCR assay in patients with node-negative breast cancer not receiving adjuvant systemic therapy. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11: 3315–3319.
- Albain K., Barlow W., Shak S. i wsp. Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal, node-positive, ER-positive breast cancer (S8814,INT0100). *Breast Cancer Res. Treat.* 2007; 106: S10 (abstrakt).
- Goldstein L.J., Gray R., Badve S. i wsp. Prognostic utility of the 21-gene assay in hormone receptor-positive operable breast cancer compared with classical clinicopathologic features. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 4063–4071.
- Gianni L., Zambetti M., Clark K. i wsp. Gene expression profiles in paraffin embedded core biopsy tissue predict response to chemotherapy in women with locally advanced breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 7265–7277.
- Ma X.J., Salunga R., Dahiya S. i wsp. A five-gene molecular grade index and HOXB13:IL17BR are complementary prognostic factors in early stage breast cancer. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14: 2601–2608.
- Ma X.J., Wang Z., Ryan P.D. i wsp. A two gene expression ratio predicts clinical outcome in breast cancer patients treated with tamoxifen. *Cancer Cell.* 2004; 5:607–616.
- Cardoso F., Van't Veer L., Rutgers E., Loi S., Mook S., Piccart-Gebhart M.J. Clinical application of the 70-gene profile: the MIN-DACT trial. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 729–735.
- Sparano J.A., Paik S. Development of the 21-gene assay and its application in clinical practice and clinical trials. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 721–728.
- Goldhirsch A., Ingle J.N., Gelber R.D., Coates A.S., Thurlimann B., Senn H.J. and Panel members. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the

- Primary Therapy of Early Breast Cancer 2009. *Ann. Oncol.* 2009; 20: 1319–1329.
34. NCCN. Practice guidelines in oncology v.1.2008. Dostępne na: www.nccn.org.
 35. Mumby P.B., Lo S.S., Norton J. i wsp. Prospective multicenter study of the impact of the 21-gene recurrence score assay on patient satisfaction, anxiety and decisional conflict for adjuvant breast cancer treatment selection. *Breast Cancer Res. Treat.* 2007; 106: S73 (abstrakt).
 36. Liang H., Burfsky A.M., Lembersky B.B. i wsp. A retrospective analysis of the impact of OncotypeDX low recurrence score results on treatment decisions in a single academic breast cancer center. *Breast Cancer Res. Treat.* 2007; 106: S105 (abstrakt).
 37. Oratz R., Paul D., Cohn A.L., Sedlacek S.M. Impact of a commercial reference laboratory Test Recurrence Score on Decision Making in Early-Stage Breast Cancer. *J. Oncol. Pract.* 2007; 3: 182–186.
 38. Jänicke F., Prechtl A., Thomssen C. i wsp. Randomized adjuvant chemotherapy trial in high-risk, lymph node-negative breast cancer patients identified by urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1. *J. Natl. Cancer Inst.* 2001; 93: 913–920.