



*М.В. Макарова^{1,2,3}, М.В. Немцова^{1,4,5}, Д.А. Чекини³, Д.К. Черневский^{1,6}, Е.В. Косова¹,
 Е.Е. Баранова^{1,7}, О.В. Сагайдак¹, А.А. Криницына¹, М.С. Беленикин¹*

Возможности молекулярно-генетического тестирования опухолевой ткани для персонализированного подхода в лечении рака молочной железы

¹ООО «Эвоген», Москва

²ФГБУ «РНЦРР» Минздрава России, Москва

³ГК «Мать и дитя», Москва

⁴ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва

⁵ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

⁶ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России, Н. Новгород

⁷ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Москва

*M.V. Makarova^{1,2,3}, M.V. Nemtsova^{1,4,5}, D.A. Chekini³, D.K. Chernevskiy^{1,6}, E.V. Kosova¹,
 E.E. Baranova^{1,7}, O.V. Sagaydak¹, A.A. Krinitsyna¹, M.S. Belenikin¹*

Possibilities of Molecular Genetic Testing of Tumor Tissue for Personalized Breast Cancer Treatment

¹Evogen LLC, Moscow, the Russian Federation

²Russian Scientific Center of Roentgen Radiology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, the Russian Federation

³Mother and Child GC, Moscow, the Russian Federation

⁴Research Centre of Medical Genetics named after N.P. Bochkov, Moscow, the Russian Federation

⁵I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Moscow, the Russian Federation

⁶Privolzhsky Research Medical University of the Ministry of Health of Russia, Nizhny Novgorod, the Russian Federation

⁷Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of Russia, Moscow, the Russian Federation

Сегодня результаты развития геномных технологий меняют подход к диагностике и лечению онкологических заболеваний. Так, клинические подходы к профилактике, диагностике и лечению рака молочной железы сместились в сторону использования молекулярно-генетической и иммуногистохимической информации.

Целью настоящего обзора является описание возможностей применения различных молекулярно-генетических исследований опухолевой ткани с целью повышения эффективности лечения рака молочной железы. В обзоре обсуждаются результаты применения современных молекулярных (The Cancer Genome Atlas) и иммуногистохимических (суррогатных) маркеров, обеспечивающих разделение РМЖ по молекулярным подтипам, приведены преимущества и недостатки такого разделения. Представлены основные характеристики современных экспрессионных прогностических тестов, обсуждается целесообразность и сложности применения высокопроизводительного секвенирования, в том числе расширенных мультигенных NGS-панелей в клинической практике. Обзор предназначен для ординаторов и аспирантов, врачей-генетиков и врачей-онкологов, использующих в своей работе результаты современных молекулярно-генетических тестов.

Ключевые слова: рак молочной железы; молекулярные опухолевые подтипы; экспрессионное тестирование; соматическое мутационное профилирование; гены-драйверы; таргетная терапия опухолей

Today, the modern genomic technologies are changing the approach to diagnostics and treatment of cancer. For example, clinical approaches to the prevention, diagnosis and treatment of breast cancer have shifted towards the use of molecular genetic and immunohistochemical testing.

The review aims to describe the possibilities of using various tumor tissue genetic testing to improve the efficacy of breast cancer treatment. The review discusses the results of application of modern molecular (The Cancer Genome Atlas) and immunohistochemical (surrogate) markers for breast cancer subtypes classification, the advantages and disadvantages of such separation are presented. The main characteristics of modern expression-based prognostic tests are presented, and the feasibility and difficulties of using next-generation sequencing, including extended multigene NGS panels in clinical practice are discussed. The review targets residents and postgraduates, geneticists and oncologists, who use the results of modern molecular genetic tests in their work.

Keywords: breast cancer; molecular subtypes of breast cancer; gene expression; somatic mutation profiling; driver genes; targeted therapy

Для цитирования: Макарова М.В., Немцова М.В., Чекини Д.А., Черневский Д.К., Косова Е.В., Баранова Е.Е., Сагайдак О.В., Криницына А.А., Беленикин М.С. Возможности молекулярно-генетического тестирования опухолевой ткани для персонализированного подхода в лечении рака молочной железы. *Вопросы онкологии*. 2023;69(6):00–00. doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-6-1002-1013

For citation: Makarova MV, Nemtsova MV, Chekini DA, Chernevskiy DK, Kosova EV, Baranova EE, Sagaydak OV, Krinitsyna AA, Belenikin MS. Possibilities of molecular genetic testing of tumor tissue for personalized breast cancer treatment. *Voprosy Onkologii = Problems in Oncology*. 2023;69(6):1002–1013 (In Russ.). doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-6-1002-1013

✉ Контакты: Макарова Мария Владимировна, makarova@evogenlab.ru

Введение

Начало XXI в. знаменуется зарождением эры геномики благодаря завершению проекта «Геном человека» в 2003 г. [1]. Результаты позволили выдвинуть новые гипотезы, меняющие общепринятые представления о природе различных заболеваний, в т. ч. онкологических. Доказано, что рак является заболеванием генома, которое связано с накоплением в опухоли соматических мутаций в онкогенах, генах-супрессорах или генах, сохраняющих стабильность генома [2, 3, 4]. В результате развития технологического прогресса с внедрением методов высокопроизводительного параллельного секвенирования (NGS) и использованием технологии микрочипов, улучшением компьютерного анализа полученных данных, развитием общедоступных международных компьютерных баз данных, вычислительных биологических методов появилась возможность перехода к персонализированной (прецизионной) медицине и, в частности, развитию персонализированной онкологии [5, 6].

Рак молочной железы (РМЖ) занимает первое место среди всех онкологических заболеваний у женщин в мире. По оценкам за 2020 г., РМЖ диагностирован у 2,3 млн человек по всему миру. Согласно статистике Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), к концу 2020 г. в мире насчитывалось 7,8 млн женщин, у которых за последние пять лет был диагностирован РМЖ [7]. По данным ВОЗ, в 2020 г. от РМЖ по всему миру умерло 685 тыс. женщин. Это онкологическое заболевание стало самым распространенным в мире, опередив рак легкого [8].

РМЖ является самым распространенным типом рака у женщин в России, лидируя по показателям заболеваемости и смертности среди женского населения [9].

За последние два десятилетия научные стратегии по профилактике, диагностике и лечению РМЖ радикально сместились с подходов, основанных на гистологии, на подходы, использующие молекулярно-генетическую и иммуногистохимическую информацию. В результате осуществления программы The Cancer Genome Atlas (TCGA) впервые появились охарактеризованные молекулярные подтипы основных видов рака — молочной железы (РМЖ), колоректаль-

ного (КРР), рака желудка, рака щитовидной железы и др. [10].

Известно, что опухолевый геном содержит многочисленные геномные aberrации и эпигенетические изменения, определяющие характеристики роста, инвазию и метастазирование, взаимодействие между опухолевыми клетками, а также взаимодействие опухолевых клеток с микроокружением [11]. Соматические мутации, определяемые в опухолевой ткани, были разделены на два типа. Мутации в генах-драйверах, которые являются ведущими в индукции роста и дифференцировки клеток, их появление дает опухолевым клеткам селективное преимущество. Мутации в генах-пассажирах, не связанные с получением новых опухолевых свойств [12]. Анализ соматических мутаций с выявлением драйверных вариантов позволил получить и использовать знания о поврежденных молекулярных патологических путях для разработки новых подходов направленной таргетной терапии [13].

Появление специфических терапевтических стратегий, таргетной терапии и иммунотерапии, обеспечивающих направленное воздействие на поврежденный молекулярный патологический путь, позволяет подобрать лечение с более высокой эффективностью и снижает риск побочных эффектов. Их использование значительно экономит время, ценное для пациента, по сравнению со стратегией подбора лекарственного препарата методом проб и ошибок. Такие современные стратегии улучшают эффективность лечения и качество жизни пациентов со злокачественными новообразованиями (ЗНО) [13]. Сегодня успешное применение современных терапевтических подходов для лечения РМЖ является примером успеха, который стал возможен благодаря усовершенствованию и преобразованию знаний, полученных в рамках проекта «Геном человека».

Распределение РМЖ по молекулярным подтипам

Начиная с середины 90-х гг. XX в. появились технические возможности для размещения сотен и тысяч ДНК и РНК проб на микрочипах для гибридизации, что повлекло

за собой развитие генотипирования при мультифакторных и онкологических заболеваниях, а также создание экспрессионных «портретов» опухолевой ткани с использованием экспрессионных микрочипов (expression arrays) [14, 15, 16, 17, 18].

Молекулярно-генетическое исследование опухолевых образцов, клиническое течение которых было тщательно прослежено, позволило группе исследователей сделать первые шаги к созданию молекулярной классификации РМЖ, впервые опубликованной в 2000 г. [14]. Определение паттернов экспрессии генов выполнили на 65 хирургических образцах опухолевой ткани молочной железы, используя ДНК микрочипы высокой плотности, представляющие исследование экспрессии 8 102 генов человека. В результате впервые были идентифицированы наборы совместно экспрессируемых генов, для которых изменение экспрессии связано со специфическими клиническими и биологическими особенностями опухолевого роста. Опухоли были разделены на подтипы в зависимости от паттернов экспрессии этих генов. Результаты оказались воспроизводимыми: повторение молекулярно-генетических исследований в других странах и на различных выборках больных подтвердило, что полученные молекулярные подтипы являются характерными для РМЖ, не зависят от расы, возраста, стадии процесса, но коррелируют с экспрессией рецепторов стероидных гормонов и эпидермального фактора роста типа 2 (HER2), а также с выживаемостью больных [14].

В 2003 г. Lucito и соавт. разработали анализ ROMA (Representational oligonucleotide microarray analysis), позволяющий выявлять области генома с измененным числом копий определенных хромосомных локусов (делеции, амплификации), которые связаны с опухолевым процессом [19]. В 2006 г. J. Hicks и соавт. сообщили о проведении исследования 243 образцов опухоли молочной железы методом ROMA. В нем показана связь копийности и перестроек определенных хромосомных локусов с эффективностью проведения гормональной и химиотерапии у пациенток с операбельным РМЖ и потенциально благоприятным прогнозом. В исследовании была прослежена связь между перестройками онкогенов (*ERBB2*, *CCND1*, *MYC*) и генов-супрессоров (*CDKN2A*, *TP53*) в опухолевой ткани и прогрессированием заболевания [20].

G. Ciriello и соавт. в 2013 г. предположили, что развитие и течение РМЖ характеризуется не только мутациями в онкогенах, таких как *PIK3CA* и генах опухолевых супрессоров, таких как *PTEN* и *T53*, но и вариациями числа копий (copy number variation, CNV): амплификациями и делециями определенных локусов и/или пере-

стройками хромосомных областей. Если CNV затрагивают области расположения онкогенов и генов-супрессоров, это влияет на течение и исход заболевания [21].

В 2012 г. в Cancer Genome Atlas проанализировали первичный опухолевый материал, полученный от 825 пациенток с РМЖ, используя платформы для полногеномных исследований: копийности хромосомных локусов, метилирования ДНК, полноэкзомного секвенирования для идентификации мутационного профиля, экспрессии информационной РНК, микроРНК и белков. Была проведена фундаментальная работа, позволяющая комплексно оценить молекулярно-генетические изменения опухолевого генома при РМЖ, и на основе этих изменений сформировать примерный классификатор различных подтипов. Способность интегрировать информацию между платформами позволила получить ключевые представления о совокупности молекулярно-генетических характеристик и подтвердила существование четырех основных подтипов РМЖ: люминальный А, люминальный В, HER2-обогащенный и базальноподобный. Комплексный анализ выявил специфические сигнальные пути, доминирующие в каждом молекулярном подтипе, характерный профиль соматических мутаций, наиболее часто встречающиеся структурные перестройки и специфическую экспрессию ряда генов [22]. Было показано, что люминальные типы А и В часто представлены ER/PR-позитивными (рецепторы эстрогена и прогестерона) опухолями, по сравнению с базальноподобным и HER2-обогащенным подтипом. Базальноподобный подтип представлен опухолями тройного негативного типа (ER-, PR-, HER2-), а гиперэкспрессия HER2 чаще всего встречается при HER2-обогащенном подтипе. Исследования активности трех патогенных путей TP53 pathway, PIK3CA/PTEN pathway и RB1 pathway, показали, что мутации *TP53* чаще встречаются при базальноподобном и HER2-обогащенном подтипах. Мутации *PIK3CA* распространены при люминальных типах А и В, а также при HER2-обогащенном подтипе. Амплификация циклина D1, как и мутации и делеции гена *RB1*, редко выявляется при базальноподобном типе, что связано с инактивацией патологического пути RB1 в этом типе опухолей. При полноэкзомном профилировании соматических мутаций удалось показать, что мутированные гены представлены большим разнообразием при люминальных А и В подтипах, чем при базальноподобных и HER2-обогащенных подтипах. Общая частота мутаций была самой низкой в опухолях люминального А подтипа и самой высокой — в опухолях базальноподобного и HER2-обогащенного подтипов. В опухо-

Таблица 1. Основные молекулярные подтипы РМЖ и их характеристика

Молекулярная характеристика	Люминальный А	Люминальный В	Базальноподобный	HER2-обогащенный
ER+	часто	часто	редко	встречается
HER2+	редко	встречается	редко	часто
TP53 pathway Мутации <i>TP53</i> Экспрессия <i>MDM2</i>	редко редко	встречается встречается	часто редко	часто встречается
PIK3CA/PTEN pathway Мутации <i>PIK3CA</i> Мутации/делеции <i>PTEN</i>	часто редко	встречается встречается	редко часто	часто встречается
RB1 pathway Амплификация <i>Cyclin D1</i> Экспрессия <i>CDKN2C/A</i> Экспрессия <i>RB1</i>	встречается низкая высокая	часто — —	редко высокая низкая/мутации/ делеции	встречается — —
Высокая экспрессия mRNA	гены эстрогенового кластера;	гены эстрогенового кластера;	гены, связанные с базальным типом	гены, связанные с экспрессией HER2
Пролиферация	низкая	высокая	высокая	высокая
Копийность	диплоидны геномно-стабильны 1q, 8q, 8p11 (+) 8p, 16q (-) амплификация 11q13.3	часто анеуплоидия есть фокусы амплификации 1q, 8q, 8p11 (+) 8p, 16q (-) амплификация 11q13.3	часто анеуплоидия высокая геномная нестабильность 1q, 10p (+); <i>MYC</i> (+) 8p, 5q (-)	часто анеуплоидия; высокая геномная нестабильность 1q, 8q (+) 8p (-) Амплификация <i>ERBB2</i>
Мутации ДНК	<i>TP53</i> редко <i>PIK3CA</i> ; <i>GATA3</i> ; <i>MAP3K1</i>	<i>TP53</i> встречаются <i>PIK3CA</i> ; <i>MAP3K1</i> редко	<i>TP53</i> часто <i>PIK3CA</i> редко	<i>TP53</i> часто <i>PIK3CA</i> ; <i>PIK3R1</i>
Метилирование ДНК	—	гиперметилирование определенных генов	гипометилирование	—
Экспрессия белков	высокая экспрессия белков эстрогенового сигналинга; высокая экспрессия <i>MYC</i>	отсутствие экспрессии белков эстрогенового сигналинга; высокая экспрессия <i>FOXM1</i> и <i>MYC</i>	высокая экспрессия белков репарации ДНК; отсутствие экспрессии <i>PTEN</i> и <i>INPP4B</i>	высокая белковая и фосфопротеиновая экспрессия <i>EGFR</i> и <i>HER2</i>

лях люминального А подтипа наиболее частыми мутациями являются *PIK3CA* (45 %), *MAP3K1*, *GATA3*, *TP53*, *CDH1* и *MAP2K4*. При люминальном В подтипе наиболее частыми были мутации в *TP53* и *PIK3CA*. При базальноподобном подтипе мутации *TP53* встречались в 80 % случаев, тогда как мутации *PIK3CA* практически отсутствовали. При HER2-обогащенном подтипе, который имеет повышенную частоту амплификации HER2 (80 %), также определена высокая частота мутаций *TP53* (72 %) и *PIK3CA* (39 %) и более низкая частота мутаций других генов, включая *PIK3R1*. В рамках проекта проводилось исследование экспрессии mRNA различными методами, и проведен кластерный анализ, позволяющий определить экспрессию генов, характерных для каждого подтипа. Кроме того, оценена экспрессия специфических микроРНК и проведена ассоциация экспрессии пяти определенных кластеров микроРНК с предполагаемыми молекулярными подтипами. Выполнено профилирование метилирования ДНК опухолей всех подтипов РМЖ. Люминальный В подтип продемонстрировал гиперметилированный фенотип опухоли, а базально-подобный тип имел самую низкую частоту метилирования ДНК опухолевых клеток [22].

Основные молекулярные характеристики подтипов РМЖ, полученные в работе The Cancer Genome Atlas Network [22], представлены в табл. 1.

Необходимость трансляции сложных комплексных данных о молекулярных подтипах РМЖ в клиническую практику привела к разработке системы суррогатных маркеров, определяемых с помощью иммуногистохимического анализа опухолевой ткани (ИГХ). В качестве суррогатных маркеров использовали экспрессию рецепторов эстрогена и прогестерона (ER, PR), HER2, а также маркер пролиферативной активности Ki-67, который позволяет различать люминальные подтипы А и В [23]. Люминальный А подтип имеет экспрессию ER и/или PR и уровень Ki-67 < 14 %, люминальный В подтип характеризуется экспрессией ER и/или PR и уровнем Ki-67 ≥ 14 %. При HER2-позитивном подтипе показано отсутствие экспрессии ER и PR и наличие гиперэкспрессии HER2. Базальноподобный подтип демонстрирует отсутствие экспрессии ER, PR и HER-2, впоследствии он получил название «тройной негативный подтип» [24].

Такое разделение по 4 молекулярным подтипам является условным и упрощенным,

поскольку каждый подтип достаточно гетероген и неоднороден, демонстрирует различный прогноз и дифференциальный ответ на лечение у пациентов. Сегодня разделение по подтипам выполняется с помощью ИГХ, но разрабатываются и совершенствуются тесты для более детального определения клинических характеристик и стратегий лечения пациентов РМЖ внутри основного молекулярного подтипа.

Группа экспертов из С.-Галлена предложила использовать степень злокачественности и экспрессию Ki-67 в качестве факторов, с помощью которых можно разделить люминальные подтипы А и В. Это имеет важное прогностическое значение, в частности люминальный тип А имеет более благоприятный прогноз [25].

Тройной негативный подтип (базальноподобный) характеризуется отсутствием экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона и рецептора HER2, а также высокой агрессивностью и менее благоприятным прогнозом. Определенный интерес представляет группа больных, имеющих РМЖ тройного негативного подтипа с метастазами в головной мозг. В этой группе использование дополнительных биологических маркеров (CK5/6, HER1, c-KIT) позволяет дифференцировать базальноподобный тип от небазальноподобного, но их клиническая значимость неоднозначна [26]. Опухоли внутри тройного негативного подтипа проявляют значительную степень гетерогенности. Lehmann и соавт. предложили свою классификацию тройного негативного РМЖ и разделили его на 4 устойчивых подтипа: BL1 (базальноподобный 1), BL2 (базальноподобный 2), MES (мезенхимальный) и LAR (люминальный андрогенный), каждый из которых имеет свои отличительные клинико-патологические признаки. Так, BL1, который является самой большой группой, составляя до 35 % случаев, демонстрирует лучший ответ на неоадьювантную химиотерапию, и имеет лучшую общую и безрецидивную выживаемость по сравнению с BL2. Подтип MES характеризуется отсутствием лимфоцитарных инфильтратов и небольшим уровнем метастазирования в лимфатические узлы, но высоким метастазированием в легкие. Дольковая карцинома принадлежит к подтипу LAR, который имеет более низкую гистологическую степень злокачественности (G), характеризуется частыми метастазами в лимфатические узлы и кости и демонстрирует транскрипцию гормональных рецепторов (ER и AR). Такая дополнительная система позволяет классифицировать до 98 % опухолей тройного негативного типа РМЖ [27].

HER2-позитивный подтип РМЖ является самой гомогенной группой с точки зрения молекулярных изменений и диагностируется с помо-

щью ИГХ, выявляющей гиперэкспрессию белка HER2. Большинство опухолей имеют высокую степень злокачественности и ведут себя агрессивно. Опухоли чувствительны к традиционной химиотерапии и хорошо реагируют на гуманизованное моноклональное антитело трастузумаб (герцептин), с полным патологическим ответом в 23–40 % случаев, увеличивая его до 58 % в некоторых исследованиях [28]. Но даже внутри подтипа существует небольшая часть опухолей нечувствительная к герцептину. С помощью молекулярных исследований идентифицированы маркеры резистентности, к которым относятся потеря *PTEN* при активации пути PIK3CK, экспрессия HER2Delta16, p95HER2 с потерей сайта связывания герцептина, гиперэкспрессия IGF-1R, и MUC4 и т. д. [29]. Подобные находки подтверждают гетерогенность и условность разделения РМЖ по основным подтипам, позволяя выявлять пациентов с редкими, но уникальными подтипами РМЖ.

Использование суррогатных маркеров позволило не только разделить опухоли по молекулярным подтипам, но и предложить для каждого подтипа определенные методы лечения [30]. Для лечения гормонально позитивных опухолей в дополнение к хирургическому лечению — гормональную терапию, а для лечения HER2-позитивных опухолей — препараты, направленные на блокирование рецептора HER2 (трастузумаб, пертузумаб и др.). В настоящее время список таргетных препаратов, направленных на лечение РМЖ, существенно расширяется за счет лекарственных средств, направленных на разные этапы канцерогенеза. В современной клинической практике для лечения РМЖ используют препараты, блокирующие репарацию одноцепочечных и двухцепочечных разрывов ДНК (PARP-ингибиторы) или препараты, активирующие собственный иммунитет, направленный на уничтожение опухолевых клеток, которые получили название «ингибиторы контрольных точек» (ИКТ) иммунного ответа.

Системы экспрессионных маркеров для классификации и прогноза РМЖ

При использовании экспрессионных микрочипов впервые удалось выявить гены, экспрессия которых характеризует опухоли с различными клиническими параметрами. Формирование таких генных паттернов получило название экспрессионной сигнатуры или генетической подписи. Паттерны генной экспрессии позволяют не только определить опухолевый подтип, но и дать информацию о характере течения заболевания у пациента и получить долгосрочный прогноз. Сегодня молекулярный подтип и кли-

нический прогноз РМЖ у пациентов можно оценить, выполнив один из нескольких доступных геномных тестов.

Тест Oncotype DX позволяет анализировать экспрессию панели из 21 гена, 16 генов, связанных с пролиферацией, инвазией опухоли, экспрессией гормональных рецепторов и HER2 и 5 референсных генов, для оценки индивидуального риска рецидива у пациенток с диагнозом РМЖ на ранней стадии, ER+ и HER2-. Этот тест позволяет планировать индивидуальный подход к лечению, предоставляя информацию о преимуществах химиотерапии у пациенток, а также прогнозировать появление рецидива. Результаты теста позволяют оценить преимущества от использования химиотерапии у пациентов с высоким риском рецидива. При использовании теста у 6 711 пациенток с пограничным результатом при оценке рецидива было показано, что использование гормональной терапии или химиотерапии вместе с гормональной терапией имеет одинаковую эффективность, хотя для некоторых женщин в возрасте 50 лет и моложе сообщалось о преимуществах химиотерапии [31].

По результатам проведенного клинического исследования из 10 253 женщин, включенных в исследование, 1 626 женщин (15,9 %) с низким показателем рецидива получали только эндокринную терапию, исключая химиотерапию. Через 5 лет в этой выборке показатель безрецидивной выживаемости составил 93,8 %, показатель отсутствия отдаленных рецидивов РМЖ — 99,3 %, а показатель общей выживаемости — 98,0 %, что подтверждает высокую прогностическую ценность использования теста Oncotype DX [31].

Еще одним мультигенным прогностическим тестом является MammaPrint, который оценивает профиль экспрессии 70 генов и является первым успешно разработанным прогностическим тестом [32, 33]. Он предназначен для прогнозирования риска рецидива/метастазирования в течение 5–10 лет после операции у пациентов с I или II стадией РМЖ, ER+ /ER- и HER2- и размером опухоли менее 5 см, имеющим не более 3 пораженных лимфатических узлов. Этот анализ классифицирует РМЖ на опухоли с низким и высоким риском отдаленного рецидива и выявляет пациентов, которые могут отказаться от химиотерапии без увеличения риска рецидивирования. Исследование MINDACT показало, что пациенты с опухолями низкого риска согласно тесту MammaPrint, которые не получали адьювантную химиотерапию, имели 95,1 % 5-летнюю выживаемость без отдаленных метастазов несмотря на то, что все эти пациенты были клинически отнесены к группе высокого риска [34]. Также показано, что в случаях рас-

хождения клинико-патологических параметров с результатами MammaPrint, ориентироваться следует на экспрессионный тест, т. к. он дает более точный прогноз [32, 33]. Результаты рандомизированного исследования EORTC 10041/BIG 3-04 MINDACT показали лучшую эффективность оценки молекулярного подтипа РМЖ с использованием MammaPrint по сравнению с ИГХ. На основании молекулярного исследования 54 % пациентов с люминальным В подтипом, установленным по результатам ИГХ, были переклассифицированы в люминальный А подтип с аналогичными результатами лечения. Показано, что использование молекулярного типирования с помощью MammaPrint позволяет более точно выявить группу пациентов с низким риском рецидива по сравнению с оценкой с помощью ИГХ и Ki-67 в частности [35].

Тест Breast Cancer Index анализирует экспрессию 11 генов, гормонзависимого сигнального пути и клеточной пролиферации, чтобы предсказать вероятность позднего рецидива (5–10 лет после постановки диагноза) для пациентов РМЖ ранней стадии HR+, а также оценить преимущества использования расширенной гормональной терапии [36].

RAM-50 представляет собой анализ на основе количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Он анализирует экспрессию 50 генов в опухолевом материале, позволяет оценить вероятность метастазирования ER-позитивных и HER2-негативных типов РМЖ. Тест разработан для прогнозирования риска отдаленных метастазов опухоли после 5 лет стандартной послеоперационной гормональной терапии и оценки преимуществ гормональной терапии в течение более 5 лет. Дополнительное включение известных клинических и патологических факторов значительно повышает его прогностическую ценность [37]. Результат теста RAM-50 также позволяет выявить группу пациентов, для дополнительного лечения которых можно использовать таксаны [38]. Недавно сообщалось, что он является независимым прогностическим фактором долгосрочной выживаемости при РМЖ, независимо от менопаузального статуса [39]. По сравнению с Oncotype DX, при использовании RAM50 меньше пациентов попадает в промежуточную группу («серую зону»), что обеспечивает лучшую стратификацию риска [40].

Тест EndoPredict анализирует активность 12 генов в клетках РМЖ у пациентов с ранней стадией, ER+ и HER2- РМЖ с наличием до 3 положительных лимфатических узлов. Тест предназначен для прогнозирования риска отдаленных метастазов в течение 10 лет после постановки диагноза, результаты представлены в виде оценки риска, от низкого до высокого. В сочетании с

другой клинической информацией — степенью злокачественности опухоли, степенью экспрессии ER и возрастом пациента прогнозируется эффективность использования химиотерапии [41].

Использование мультигенных экспрессионных панелей для классификации по подтипам, прогнозировании клинического ответа и выявлении группы женщин, для которых допустим вариант лечения без химиотерапии, имеет значительные преимущества по сравнению с использованием традиционных ИГХ маркеров и клинических факторов прогноза [42].

Недавно в России разработана отечественная мультигенная панель на основе количественной ПЦР для анализа профиля экспрессии 24 генов (21 функциональный и 3 контрольных) в опухолевом образце [43]. Глобал Индекс РМЖ — первый в России молекулярный диагностический экспрессионный тест, который предназначен для оценки риска рецидива в течение 10 лет, а также решения вопроса о необходимости назначения адъювантной химиотерапии [44]. Сегодня Глобал Индекс РМЖ является единственным заре-

гистрированным в РФ тестом для оценки риска рецидива при РМЖ: РУ № РЗН2019/8152 от 27 февраля 2019 г. Проводится клиническая апробация теста.

Сравнительные характеристики различных экспрессионных тестов представлены в табл. 2.

Таким образом, молекулярные достижения последних лет привели к созданию новых подходов к диагностике, прогнозированию и лечению РМЖ. Клиническая значимость MammaPrint, Oncotype Dx и Prosigna изучалась в рандомизированных клинических исследованиях MINDACT, TAILOR-x, Rx-PONDER и OPTIMA фазы III соответственно. И хотя эти клинические исследования различались по дизайну, критериям включения и конечным результатам, они предоставили доказательность высокого уровня в поддержку использования мультигенных панелей в клинической практике [45].

Молекулярное экспрессионное профилирование является перспективным диагностическим подходом, который позволяет обеспечить объективную классификацию РМЖ, и предложить

Таблица 2. Сравнительные характеристики экспрессионных тестов

Название теста	Oncotype DX	MammaPrint	Breast Cancer Index	PAM50	EndoPredict	Глобал Индекс РМЖ
Количество генов	21	70	11	50	12	24
Метод	RT-PCR (РВ-ПЦР)	ДНК-микрочип	RT-PCR (РВ-ПЦР)	ДНК-микрочип	RT-PCR (РВ-ПЦР)	RT-PCR (РВ-ПЦР)
Показания	ранний РМЖ, ER+/HER2-, поражено 0-3 лимфоузлов (постменопауза), без поражения лимфоузлов (пременопауза) после хирургического лечения	ранний РМЖ, ER и PR +/-, поражено 0-3 лимфоузлов, после хирургического лечения	ранний РМЖ, ER и PR +/- HER2-, поражено 0-3 лимфоузлов, после 4-5 лет гормонотерапии	пациентки в постменопаузе, ранний РМЖ, после хирургического лечения	ранний РМЖ, ER+/HER2-, после хирургического лечения	ранний РМЖ, ER+/HER2-, поражено 0-1 лимфоузлов, после хирургического лечения
Оценка риска рецидива в течение 5 лет	-	-	-	да	да	-
Оценка риска рецидива в течение 5-10 лет	да	да	да	-	-	да
Оценка риска позднего рецидива до 15 лет	-	-	-	-	да	-
Эффективность химиотерапии	да	да	-	-	да	да
Эффективность гормонотерапии	-	-	да	да	-	да
Стратификация риска	возраст < 50 лет: низкий/средний/высокий риск; возраст > 50 лет: низкий/высокий риск	низкий/высокий риск	низкий/высокий риск (нет/да)	наличие метастазов в лимфоузлы: низкий/средний/высокий риск; отсутствие метастазов в лимфоузлы: низкий/высокий риск	низкий/высокий риск	низкий/средний/высокий риск

более эффективное по времени и затратам обследование и лечение пациентов. Молекулярно-диагностические методы профилирования с использованием микрочипов или ПЦР с обратной транскрипцией в реальном времени (RT-PCR), разработанные для классификации разных опухолевых типов, сегодня активно применяются в клинической практике.

Соматическое мутационное профилирование РМЖ

Исследование соматических мутаций или соматическое мутационное профилирование является одним из основных направлений исследования в современной персонализированной онкологии. Исследование основных драйверных мутаций в опухоли необходимо для подбора эффективной лекарственной терапии, а также формирования показаний для выявления герминальных мутаций при подозрении на наследственные опухолевые синдромы (НОС).

В настоящее время большое распространение для исследования соматических мутаций получил метод высокопроизводительного параллельного секвенирования (NGS), который позволяет одновременно генерировать множество коротких прочтений последовательности ДНК и анализировать до нескольких сотен генов за один прогон [46]. С помощью NGS можно выполнять секвенирование протяженных генов с большим числом экзонов, или выполнять сложные масштабные исследования, такие как секвенирование полного экзона и генома человека [47].

NGS является эффективной технологией для анализа соматических мутаций ДНК. При частоте мутантного аллеля более 1 % метод позволяет обнаружить точечные мутации, небольшие делеции и инсерции, а также известные типы слияний генов. К ограничениям метода относятся выявление экспансии тринуклеотидных повторов, сбалансированных транслокаций и инверсий, делеций и инсерций протяженных областей генома, а также затруднен поиск изменений в генах, имеющих близкородственные псевдогены.

Технология NGS оперирует большими массивами цифровых данных, использование которых в персонализированной онкологии требует высокопроизводительных вычислительных систем и совершенствования вычислительных алгоритмов. Это создало предпосылки к активному развитию геномики и биоинформатики [46]. Биоинформатический анализ результатов NGS, включающий сопоставление полученных данных с референсными последовательностями, прогнозирование функционального значения генетических изменений и формирование из полученной информации клинического заключения,

в настоящее время является неотъемлемым этапом обработки данных в персонализированной онкологии [48].

В настоящее время для соматического профилирования используются таргетные генные панели как коммерческого производства, так и собственного дизайна. Таргетное секвенирование ключевых генов в опухолевом образце пациентов является одним из наиболее эффективных способов прогнозирования заболевания и определения стратегии лечения. Число генов, потенциально связанных с канцерогенезом, оценивается в примерно 500, включая гены-драйверы опухолей, поэтому обычные таргетные панели для практического использования, как правило, включают от 100 до 200 онкоассоциированных генов в зависимости от решаемых задач [49]. Одной из задач, которые решает использование таргетных NGS-панелей, является выявление изменений опухолевого генома, для подбора наиболее эффективных таргетных препаратов, или мутаций, связанных с резистентностью к лечению. В мире разработано множество комплексных генных NGS-панелей, некоторые из которых одобрены FDA для поиска мишеней таргетной терапии. Так, для РМЖ широко используются тесты для определения мутаций в гене *PIK3CA*, которые обуславливают чувствительность к лечению PI3K-ингибиторами (алпелисиб). А для определения герминальных мутаций у пациентов с НОС, и для определения чувствительности к препаратам, вызывающим двухпочечные разрывы ДНК (цисплатин и другие цитостатические препараты), а также PARP-ингибиторам используют тесты для определения мутаций в генах *BRCA1/2* [50].

Современные таргетные NGS-панели позволяют определять не только мутации генов-драйверов, но и повышенную частоту соматических мутаций, наличие гипермутантного фенотипа опухоли, что является многообещающим биомаркером для применения некоторых лекарств, например, ингибиторов иммунных контрольных точек.

Микросателлитная нестабильность (MSI) является маркером нарушения репарации неспаренных оснований и связана с дефектами в генах *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* и *PMS2*. MSI часто определяется в колоректальных опухолях и раке эндометрия при синдроме Линча, но редко представлена при РМЖ, не более 1–2 % [51].

В настоящее время высокий уровень микросателлитной нестабильности (MSI-H) является новым предиктивным и прогностическим биомаркером ответа на иммунотерапию при раке. Хотя клиническое тестирование на MSI обычно проводится с помощью традиционной ПЦР или ИГХ, разработаны подходы на основе NGS, которые имеют значительные преимущества

по сравнению с традиционными анализами [52]. NGS может одновременно тестировать тысячи микросателлитных локусов по сравнению с 5–7 локусами, которые обнаруживаются с помощью ПЦР. MSIPlus [53] и ColoSeq [54] — примеры NGS-панелей для обнаружения MSI. MSIPlus — это тест, оптимизированный для колоректального рака, который оценивает 16 микросателлитных локусов, а также мутации в онкогенах (*KRAS*, *NRAS* и *BRAF*). ColoSeq — это альтернативная NGS-панель, предназначенная для выявления мутаций, делеций или сложных структурных перестроек в 7 генах репарации ДНК (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*, *EPCAM*, *APC* и *MUTYH*), которые могут привести к MSI.

Разработаны несколько комплексных мультигенных NGS-тестов, которые используются как для соматического профилирования, так и для определения MSI. Расширенные NGS-панели BGI-SENTISTM Cancer + Discovery Panel и FoundationOne®CDx предусматривают анализ нескольких сотен онкоассоциированных генов, включая однонуклеотидные замены, инсерции и делеции, а также CNV определенных локусов. Причем FoundationOne позволяет анализировать нарушения в 324 генах, а BGI-SENTISTM Cancer + Discovery Panel — в 688 генах. Использование этих тестов позволяет одновременно оценить уровень микросателлитной нестабильности и мутационной нагрузки в опухолевой ДНК и подобрать наиболее эффективный для лечения препарат [55]. Полученные данные помогают врачам в подборе лечения определенными таргетными препаратами, которые используют в соответствии с действующими клиническими рекомендациями. BGI-SENTISTM Cancer + Discovery Panel вместе с анализом соматических вариантов дополнительно позволяет определять герминальные варианты, ассоциированные с наследственными онкологическими заболеваниями, в ДНК, полученной из лимфоцитов периферической крови.

Использование мультигенных NGS-панелей в клинической практике повышает эффективность лечения пациентов с различными типами ЗНО, определяя их индивидуальную чувствительность к современным противоопухолевым таргетным препаратам и иммунотерапии [56, 57, 58, 59, 60].

Несмотря на очевидные преимущества высокопроизводительного секвенирования, остается много нерешенных вопросов. Одной из основных проблем NGS является высокая стоимость тестирования. Другой важной проблемой персонализированной медицины на основе NGS является отсутствие лечения для всех пациентов, направленных на молекулярное тестирование: количество мутаций, связанных с конкретным доступным лечением, в настоящее время ограничено.

Основной задачей после проведения NGS тестирования является интерпретация данных и выбор наиболее подходящего терапевтического агента. Для этого необходимо проанализировать выявленные изменения в генах в соответствии с клинической информацией. В настоящее время существуют большие общедоступные геномные базы данных, однако объем геномных данных, связанных с клиническими результатами лечения, пока недостаточен. Кроме того, эффективность используемого препарата может различаться в зависимости от локализации и типа генных изменений, а клиническая интерпретация выявленных вариантов может быть затруднительна. Изначально мутации могут иметь неизвестную клиническую значимость, или, в зависимости от накопления информации, они могут быть реклассифицированы. Эффективность лекарственного препарата может также различаться в зависимости от органа, в котором возникает или в который метастазирует опухоль. Таким образом, необходимо накопление общедоступных данных о клинических результатах применения таргетной терапии с учетом геномных изменений и локализации опухоли и совершенствование биоинформатической обработки для развития прецизионной онкологии.

Заключение

Последние несколько лет молекулярно-генетические исследования на основе технологии высокопроизводительного секвенирования и экспрессионные прогностические тесты активно внедряются в клиническую практику, проводится поиск новых маркеров эффективности проводимой терапии и развития резистентности к определенным препаратам. Сложность процесса канцерогенеза подразумевает его непрерывное изучение мультидисциплинарной командой профессионалов.

Появление новых молекулярно-генетических исследований, в свою очередь, может приводить и к возникновению сложностей с их применением в клинической практике: высокая стоимость тестирования, необходимость обоснования направления пациента на дополнительное исследование, которое не является стандартным согласно действующим клиническим рекомендациям, возможные затруднения в интерпретации результатов и принятии клинических решений на их основе. В связи с этим следует отметить, что любое расширенное коммерческое тестирование не заменяет стандартного обследования и должно рассматриваться как дополнение к ранее проведенным генетическим исследованиям при наличии потенциальной пользы для пациента.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Funding

The study was performed without external funding.

Участие авторов

Макарова М.В. — обоснование концепции обзора, разработка дизайна, сбор данных литературы, анализ и обобщение данных литературы, оформление рукописи, редактирование и переработка рукописи;

Немцова М.В. — сбор данных литературы, анализ и обобщение данных литературы, оформление рукописи, редактирование и переработка рукописи, отслеживание целостности всех частей рукописи;

Чекини Д.А. — сбор данных литературы, анализ и обобщение данных литературы, оформление рукописи, редактирование и переработка рукописи;

Черневский Д.К. — сбор данных литературы, анализ и обобщение данных литературы, оформление рукописи, редактирование и переработка рукописи;

Косова Е.В. — оформление рукописи, редактирование и переработка рукописи, отслеживание целостности всех частей рукописи;

Баранова Е.Е. — редактирование и переработка рукописи;

Сагайдак О.В. — редактирование и переработка рукописи;

Креницына А.А. — редактирование и переработка рукописи, консультация по определенным вопросам;

Беленикин М.С. — редактирование и переработка рукописи, консультация по определенным вопросам, утверждение окончательного варианта статьи.

Authors' contributions

Makarova M.V. provided rationale for the concept of review, developed the design, collected, analysed and synthesised the data, performed drafting, editing and revision of the manuscript;

Nemtsova M.V. collected, analysed and synthesised literature data, developed design of the manuscript, performed editing and revision the manuscript, ensured the integrity of all parts of the manuscript;

Chekini J.A. collected, analysed and synthesised literature data, developed design of the manuscript, performed editing and revision the manuscript;

Chernevskiy D.K. collected, analysed and synthesised literature data, participated in drafting, editing and revision of the manuscript;

Kosova E.V. participated in drafting, editing and revision of the manuscript, ensured the integrity of all parts of the manuscript;

Baranova E.E. participated in editing and revision of the manuscript;

Sagaydak O.V. participated in editing and revision of the manuscript;

Krinititsyna A.A. participated in editing and revision of the manuscript, provided consultation on certain issues;

Belenikin M.S. participated in editing and revision of the manuscript, provided consultation on certain issues, finalized the article for publication.

ЛИТЕРАТУРА

- International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature*. 2004;431(7011):931-945. <https://doi.org/10.1038/nature03001>.
- Collins F. Cancer: a disease of the genome. *Cancer Res*. 2007;67(9_Supplement):PL01-01.
- Bader JS. The Panorama of cancer genetics. *Cancer Res*. 2021;81(10):2586-2587. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-21-0885>.
- Johnson TM. Perspective on precision medicine in oncology. *Pharmacotherapy*. 2017;37(9):988-989. <https://doi.org/10.1002/phar.1975>.
- Li MM, Drilon A, Laetsch TW. Editorial. *Cancer Genet*. 2022;266-267:37-38. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2022.06.002>.
- Napoli GC, Chau CH, Figg WD. Single whole genome sequencing analysis blazes the trail for precision medicine. *Cancer Biol Ther*. 2022;23(1):134-135. <https://doi.org/10.1080/15384047.2022.2033058>.
- Arnold M, Morgan E, Rungay H, et al. Current and future burden of breast cancer: Global statistics for 2020 and 2040. *Breast*. 2022;66:15-23. <https://doi.org/10.1016/j.breast.2022.08.010>.
- Zdrav.Expert [Internet] [cited 2023 Jun 23]. Available from: <https://zdrav.expert/index.php>.
- Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. 2022:252 [Malignant neoplasms in Russia in 2021 (morbidity and mortality). AD Kaprin, VV Starinsky, AO Shakhzadova, eds. M.: P.A. Herzen MNIIOI - a branch of FGBU "NMRC Radiology" of the Ministry of Health of Russia. 2022:252 (Russ.)].
- The Cancer Genome Atlas Program [Internet]. National Cancer Institute 2022 [cited 2022 Sep 8]. Available from: <https://www.cancer.gov/about-nci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga>.
- Carpten JC, Mardis ER. The era of precision oncogenomics. *Cold Spring Harb Mol Case Stud*. 2018;4(2):a002915. <https://doi.org/10.1101/mcs.a002915>.
- De S, Ganesan S. Looking beyond drivers and passengers in cancer genome sequencing data. *Ann Oncol*. 2017;28(5):938-945. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw677>.
- Yu B, O'Toole SA, Trent RJ. Somatic DNA mutation analysis in targeted therapy of solid tumours. *Transl Pediatr*. 2015;4(2):125-138. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2224-4336.2015.04.04>.
- Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406(6797):747-752. <https://doi.org/10.1038/35021093>.
- Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98(19):10869-10874. <https://doi.org/10.1073/pnas.191367098>.
- Ahr A, Karn T, Solbach C, et al. Identification of high risk breast-cancer patients by gene expression profiling. *Lancet*. 2002;359(9301):131-132. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)07337-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)07337-3).
- Van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature*. 2002;415(6871):530-536. <https://doi.org/10.1038/415530a>.
- Sotiriou C, Neo SY, McShane LM, et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc Natl Acad Sci*

- USA. 2003;100(18):10393-10398. <https://doi.org/10.1073/pnas.1732912100>.
19. Lucito R, Healy J, Alexander J, et al. Representation- al oligonucleotide microarray analysis: a high-resolution method to detect genome copy number variation. *Genome Res.* 2003;13(10):2291-2305. <https://doi.org/10.1101/gr.1349003>.
 20. Hicks J, Krasnitz A, Lakshmi B, et al. Novel patterns of genome rearrangement and their association with survival in breast cancer. *Genome Res.* 2006;16(12):1465-1479. <https://doi.org/10.1101/gr.5460106>.
 21. Ciriello G, Miller ML, Aksoy BA, et al. Emerging landscape of oncogenic signatures across human cancers. *Nat Genet.* 2013;45(10):1127-1133. <https://doi.org/10.1038/ng.2762>.
 22. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2012;490(7418):61-70. <https://doi.org/10.1038/nature11412>.
 23. Mahdi AS, Ibrahim HH, Mohammed AA. Ki-67 expression as an indicator of invasiveness in patients with breast cancer. *Medical Journal of Babylon.* 2018;15(4):271-5.
 24. Irigoyen MA, García FV, Iturriagoitia AC, et al. Subtipos moleculares del cáncer de mama: implicaciones pronósticas y características clínicas e inmunohistoquímicas [Molecular subtypes of breast cancer: prognostic implications and clinical and immunohistochemical characteristics]. *An Sist Sanit Navar.* 2011;34(2):219-33. <https://doi.org/10.4321/s1137-66272011000200008>.
 25. Curigliano G, Burstein HJ, Winer EP, et al. De-escalating and escalating treatments for early-stage breast cancer: the St. Gallen International Expert Consensus Conference on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2017. *Ann Oncol.* 2017;28(8):1700-1712. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx308>.
 26. Niwińska A, Olszewski W, Murawska M, et al. Triple-negative breast cancer with brain metastases: a comparison between basal-like and non-basal-like biological subtypes. *J Neurooncol.* 2011;105(3):547-553. <https://doi.org/10.1007/s11060-011-0616-3>.
 27. Lehmann BD, Jovanovic B, Chen X, et al. Refinement of triple-negative breast cancer molecular subtypes: implications for neoadjuvant chemotherapy selection. *PLoS ONE.* 2016;11(6):e0157368.
 28. Khoury T, Kanehira K, Wang D, et al. Breast carcinoma with amplified HER2: a gene expression signature specific for trastuzumab resistance and poor prognosis. *Mod Pathol.* 2010;23(10):1364-1378.
 29. Zhang X. Molecular classification of breast cancer: relevance and challenges. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine.* 2023;147(1):46-51. <https://doi.org/10.5858/arpa.2022-0070-RA>.
 30. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, et al. Strategies for subtypes--dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol.* 2011;22(8):1736-1747. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdr304>.
 31. Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, et al. Adjuvant chemotherapy guided by a 21-gene expression assay in breast cancer. *N Engl J Med.* 2018;379(2):111-121. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1804710>.
 32. Slodkowska EA, Ross JS. MammaPrint 70-gene signature: another milestone in personalized medical care for breast cancer patients. *Expert Rev Mol Diagn.* 2009;9(5):417-422. <https://doi.org/10.1586/erm.09.32>.
 33. Brandão M, Pondé N, Piccart-Gebhart M. MammaPrint™: a comprehensive review. *Future Oncol.* 2019;15(2):207-224. <https://doi.org/10.2217/fon-2018-0221>.
 34. Piccart M, van't Veer LJ, Poncet C, et al. 70-gene signature as an aid for treatment decisions in early breast cancer: updated results of the phase 3 randomised MINDACT trial with an exploratory analysis by age. *Lancet Oncol.* 2021;22:476-488. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(21\)00007-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(21)00007-3).
 35. Viale G, de Snoo FA, Slaets L, et al. Immunohistochemical versus molecular (BluePrint and MammaPrint) subtyping of breast carcinoma. Outcome results from the EORTC 10041/BIG 3-04 MINDACT trial. *Breast Cancer Res Treat.* 2018;167(1):123-131. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4509-9>.
 36. Noordhoek I, Treuner K, Putter H, et al. Breast cancer index predicts extended endocrine benefit to individualize selection of patients with HR+ early-stage breast cancer for 10 years of endocrine therapy. *Clin Cancer Res.* 2021;27(1):311-319. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-2737>.
 37. Martin M, Brase JC, Ruiz A, et al. Prognostic ability of EndoPredict compared to research-based versions of the PAM50 risk of recurrence (ROR) scores in node-positive, estrogen receptor-positive, and HER2-negative breast cancer. A GEICAM/9906 sub-study. *Breast Cancer Res Treat.* 2016;156(1):81-89. <https://doi.org/10.1007/s10549-016-3725-z>.
 38. Martín M, Prat A, Rodríguez-Lescure A, et al. PAM50 proliferation score as a predictor of weekly paclitaxel benefit in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2013;138(2):457-466. <https://doi.org/10.1007/s10549-013-2416-2>.
 39. Pu M, Messer K, Davies SR, et al. Research-based PAM50 signature and long-term breast cancer survival. *Breast Cancer Res Treat.* 2020;179(1):197-206. <https://doi.org/10.1007/s10549-019-05446-y>.
 40. Dowsett M, Sestak I, Lopez-Knowles E, et al. Comparison of PAM50 risk of recurrence score with oncotype DX and IHC4 for predicting risk of distant recurrence after endocrine therapy. *J Clin Oncol.* 2013;31(22):2783-90. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.46.1558>.
 41. Sestak I, Filipits M, Buus R, et al. Prognostic value of endopredict in women with hormone receptor-positive, HER2-negative invasive lobular breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2020;26(17):4682-4687. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-0260>.
 42. Xin L, Liu YH, Martin TA, et al. The era of multigene panels comes? The clinical utility of oncotype DX and MammaPrint. *World J Oncol.* 2017;8(2):34-40. <https://doi.org/10.14740/wjon1019w>.
 43. Боженко В.К., и др. Возможности типирования рака молочной железы с использованием методики ОТ-ПЦР. *Сибирский онкологический журнал.* 2019;18(5):61-67 [Bozhenko VK, et al. Possibilities of breast cancer typing using RT-PCR technique. *Siberian journal of oncology.* 2019;18(5):61-67 (In Russ).]. <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2019-18-5-61-67>.
 44. Оценка риска рецидива при раке молочной железы. [Assessment of the risk of recurrence in breast cancer. (In Russ.)]. *Globalindexbc.ru* [Internet] [Accessed 2022 Sep 8] Available from: <http://globalindexbc.ru/>.
 45. Munkácsy G, Santarpia L, Györfy B. Gene Expression Profiling in Early Breast Cancer-Patient Stratification Based on Molecular and Tumor Microenvironment Features. *Bio-medicines.* 2022;10(2):248. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10020248>.

46. Melas M, Subbiah S, Saadat S, et al. The community oncology and academic medical center alliance in the age of precision medicine: cancer genetics and genomics considerations. *J Clin Med.* 2020;9(7):2125. <https://doi.org/10.3390/jcm9072125>.
47. Mardis ER. Next-generation DNA sequencing methods. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2008;9:387-402. <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.9.081307.164359>.
48. Oliver GR, Hart SN, Klee EW. Bioinformatics for clinical next generation sequencing. *Clin Chem.* 2015;61(1):124-135. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2014.224360>.
49. Nagahashi M, Shimada Y, Ichikawa H, et al. Next generation sequencing-based gene panel tests for the management of solid tumors. *Cancer Sci.* 2019;110(1):6-15. <https://doi.org/10.1111/cas.13837>.
50. Imyanitov E, Sokolenko A. Integrative genomic tests in clinical oncology. *Int J Mol Sci.* 2022;23:13129. <https://doi.org/10.3390/ijms232113129>.
51. Vidula N, Lipman A, Kato S, et al. Detection of microsatellite instability high (MSI-H) status by targeted plasma-based genotyping in metastatic breast cancer. *NPJ Breast Cancer.* 2022;8(1):117. <https://doi.org/10.1038/s41523-022-00490-2>.
52. Bonneville R, Krook MA, Chen HZ, et al. Detection of microsatellite instability biomarkers via next-generation sequencing. *Methods Mol Biol.* 2020;2055:119-132. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9773-2_5.
53. Hempelmann JA, Scroggins SM, Pritchard CC, et al. MSIplus for Integrated Colorectal Cancer Molecular Testing by Next-Generation Sequencing. *J Mol Diagn.* 2015;17(6):705-14. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2015.05.008>.
54. Pritchard CC, Smith C, Salipante SJ, et al. ColoSeq provides comprehensive lynch and polyposis syndrome mutational analysis using massively parallel sequencing. *J Mol Diagn.* 2012;14(4):357-66. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2012.03.002>.
55. Cai Y, Wang C, Zhou S, et al. Comparison of the tumor mutation burden (TMB) analysis results between a targeted next-generation sequencing method and the conventional WES method. *J Clin Oncol.* 2018;36(15_suppl):e24186-e24186. http://dx.doi.org/10.1200/jco.2018.36.15_suppl.e24186.
56. Cordova-Delgado M, Pizarro G, Pinto MP, et al. Case report: molecular features and treatment options for small bowel adenocarcinoma. *Front Oncol.* 2021;11:593561. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.593561>.
57. Yang S, Wang X, Jiang H, et al. Effective treatment of aggressive fibromatosis with celecoxib guided by genetic testing. *Cancer Biol Ther.* 2017;18(10):757-760. <https://doi.org/10.1080/15384047.2017.1373215>.
58. Hou H, Zhu H, Zhao H, et al. Comprehensive molecular characterization of young chinese patients with lung adenocarcinoma identified a distinctive genetic profile. *Oncologist.* 2018;23(9):1008-1015. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2017-0629>.
59. Hou H, Yang X, Zhang J, et al. Discovery of targetable genetic alterations in advanced non-small cell lung cancer using a next-generation sequencing-based circulating tumor DNA assay. *Sci Rep.* 2017;7(1):14605. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14962-0>.
60. Hou H, Liu D, Zhang C, et al. Targeted next generation sequencing in Chinese colorectal cancer patients guided anti-EGFR treatment and facilitated precision cancer medicine. *Oncotarget.* 2017;8(62):105072-105080. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21349>.

Поступила в редакцию 13.03.2023

Прошла рецензирование 28.08.2023

Принята в печать 31.08.2023

Сведения об авторах

Макарова Мария Владимировна / Makarova Maria Vladimirovna / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1581-9118>.

Немцова Марина Вячеславовна / Nemtsova Marina Vyacheslavovna / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2835-5992>.

Чекини Дженнет Ашировна / Chekini Dzhennet Ashirovna / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8581-1328>.

Черневский Денис Константинович / Chernevskiy Denis Konstantinovich / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9734-017X>.

Косова Екатерина Валерьевна / Kosova Ekaterina Valerievna / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4732-6748>.

Баранова Елена Евгеньевна / Baranova Elena Evgenievna / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9638-2303>.

Сагайдак Олеся Владимировна / Sagaydak Olesya Vladimirovna / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2534-8463>.

Криницына Анастасия Александровна / Krinitsina Anastasia Alexandrovna / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0653-3655>.

Беленикин Максим Сергеевич / Belenikin Maxim Sergeevich / ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6556-163X>.