

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

ФГБУ «Научно-исследовательский институт онкологии имени Н.Н. Петрова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

БЕССОНОВ

Александр Алексеевич

Особенности «наследственных форм» рака молочной железы

Специальность — 14.01.12 Онкология

03.01.04 Биохимия

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

д. м. н., профессор

Е. Н. Имянитов

Санкт-Петербург

2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. Обзор литературы.....	9
1.1. Генетическая стабильность и репарация ДНК.....	9
1.2. Генетические аномалии как причина возникновения РМЖ.....	14
1.2.1. BRCA1 и CHEK2.....	21
1.2.2. CHEK2.....	27
1.3. Неoadьювантная терапия РМЖ.....	30
1.4. Стратегии лечения наследственного РМЖ.....	40
1.4.1. Селективная чувствительность опухолей с мутацией BRCA: гипотеза «второго удара» и гипотеза гаплонедостаточности.....	41
1.4.2. Химиочувствительность РМЖ у носителей мутации BRCA1.....	44
1.4.3. Химиочувствительность CHEK-2 ассоциированного РМЖ.....	48
1.5. Обоснование проблемы и цели исследования.....	53
Глава 2. Материалы и методы.....	55
2.1. Отбор пациенток.....	55
2.2. Экстракция ДНК.....	55
2.3. Генотипирование для поиска фаундер-мутаций в генах, ассоциированных с риском РМЖ.....	56
2.4. Исследование потери гетерозиготности (LOH).....	60
2.5. Оценка ответа на неoadьювантную терапию.....	60
2.6. Статистический анализ.....	62
Глава 3. Результаты.....	64
3.1. Частота фаундер-мутаций и характеристики опухолей, ассоциированных с мутацией.....	64
3.2. Распределение схем неoadьювантной терапии.....	70
3.3. Неoadьювантная терапия у пациенток с носительством мутации BRCA1.....	72
3.4. Неoadьювантная терапия у пациенток с носительством мутации CHEK2.....	73

3.5. Связь ответа на проводимое лечение с носительством мутации генов BRCA1,	
3.6. Анализ частоты инактивации аллеля дикого типа при опухолях с мутацией BRCA1 и CHEK2.....	77
Глава 4. Обсуждение.....	83
Глава 5. Выводы	87
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	87
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	90

ВВЕДЕНИЕ

Рак молочной железы (PMЖ) является одним из наиболее распространенных злокачественных новообразований у женщин как в Российской Федерации, так и в Северо-Западном регионе [1, 2]. Индивидуальные риски развития заболевания варьируют от 1 на 1732 (0,06%) в возрасте 20–30 лет до 1 на 26 (3,8%) в возрасте старше 70 лет. Индивидуальный риск развития PMЖ при условии продолжительности жизни более 70 лет составляет 12,3% [3]. Примерно в 10–30% случаев PMЖ имеется связь с наследственными факторами, однако, лишь в 5–10% случаев развитие PMЖ обусловлено идентифицируемой генетической аномалией [4, 5]. Мутации в генах BRCA1 и BRCA2 представляют собой одну из наиболее хорошо изученных причин возникновения PMЖ, ответственную приблизительно за 30% случаев семейного PMЖ [6].

Третьим основным геном, мутация в котором обуславливает предрасположенность к PMЖ, является CHEK2, выделенный около 10 лет назад и ответственный за определенную распространенность наследственного PMЖ в Европе (THE CHEK2 Breast Cancer Case-Control Consortium 2004). Другие гены, мутация в которых сопряжена с высоким риском развития PMЖ — PALB2, BRIP1, NBS1, BLM, RAD51C, — на сегодняшний день изучены меньше. Первичной целью выявления генов, мутации в которых ответственны за развитие PMЖ, была разработка инструмента определения здоровых женщин, находящихся в группе высокого риска, однако на сегодняшний день общепризнанным фактом является то, что наследственный PMЖ может демонстрировать свойства отдельного биологического подтипа и иметь иной профиль лекарственной чувствительности, что требует отличного терапевтического и хирургического подхода к лечению [7]. Например, PMЖ у носителей мутации BRCA1/2 возникает в результате соматической потери

оставшегося аллеля BRCA и поэтому характеризуется нарушениями в системе репарации ДНК. Это свойство объясняет высокую чувствительность опухолей, ассоциированных с мутацией BRCA1/2, к препаратам платины и ингибиторам PARP [8, 9]. Химиочувствительность других форм наследственного РМЖ до сих пор не подвергалась тщательному системному анализу.

Клинический анализ предпочтительных терапевтических режимов для лечения наследственного РМЖ является сложным вопросом по причине относительной редкости генетических мутаций. На сегодняшний день в мире у большинства пациенток диагноз РМЖ удается установить на этапе, когда возможно проведение хирургического лечения, как первого этапа, а эффективность адъювантной терапии при этом можно оценить лишь по прошествии длительного промежутка времени. Пациенты, подвергающиеся системному лечению по поводу измеримых очагов метастатического рака, также, как правило, уже не являются химионаивными ввиду получения адъювантного лечения. Данные обстоятельства заставляют обратиться к неадъювантным режимам лекарственного лечения для определения истинного потенциала противоопухолевой терапии у специфической подгруппы больных РМЖ. Пациенты, получающие системное лекарственное лечение до проведения хирургического вмешательства, представляются особенно ценными для определения чувствительности опухоли к терапевтическому агенту. Более того, патоморфологическое исследование операционного материала может предоставить дополнительные ценные данные.

В данном исследовании, послужившем материалом для диссертационной работы, рассматривается эффективность предоперационного лекарственного лечения с использованием цитостатической полихимиотерапии у пациенток с мутациями генов BRCA1, CHEK2 в сравнении с пациентками без мутации гена. В основе исследования лежит гипотеза о том, что опухоли, ассоциированные с наследственными мутациями, имеют иной профиль чувствительности к лекарственному лечению, что, в свою

очередь, влияет на общие результаты лечения.

Научная новизна

1. В рамках исследовательской работы проведен системный анализ эффективности неoadъювантной терапии в трех группах пациенток с местно-распространенным РМЖ: пациентки с мутацией гена BRCA1, пациентки с мутацией гена CHEK2, пациентки без выявленной генетической аномалии.

2. Определена клиническая эффективность различных схем полихимиотерапии в сопоставлении со степенью патоморфологического регресса первичной опухоли и регионарных метастазов у носительниц наследственных мутаций в генах BRCA1, CHEK2, а также у пациенток без мутаций в этих генах.

3. Произведена оценка связи потери гетерозиготности (LOH) при РМЖ, ассоциированном с мутацией BRCA1, и эффективностью неoadъювантной полихимиотерапии.

Научно-практическая значимость

В результате анализа данных установлено обоснование целесообразности проведения молекулярно-генетического тестирования на предмет носительства генетических аномалий пациентам, подлежащим неoadъювантной химиотерапии.

Выработаны практические рекомендации по проведению неoadъювантной терапии пациентам с носительством мутации CHEK2 и BRCA1.

Положения, выносимые на защиту

1. Опухоли, ассоциированные с носительством мутации CHEK2, характеризуются рефрактерностью к неoadьювантной химиотерапии, в частности к антрациклиновой химиотерапии.
2. Опухоли, ассоциированные с мутацией BRCA1, характеризуются высокой чувствительностью к химиотерапии, в частности к антрациклин-содержащим режимам полихимиотерапии.
3. Всем пациентам, подлежащим предоперационному лекарственному лечению, показано проведение молекулярно-генетического тестирования на выявление мутаций генов CHEK2 и BRCA1.

Апробация работы

Материалы диссертации доложены на заседании ученого совета ФГБОУ ВО СПбГПМУ)

Основные результаты работы были представлены на II-ом Петербургском международном онкологическом форуме «Белые ночи 2016».

Публикации

По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 6 — в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 115 страницах машинописного текста на русском языке и состоит из введения, 3 глав, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 17 таблицами, 3 рисунками. Библиографический указатель включает 227 публикаций, в том числе 17 отечественных и 210 зарубежных.

Внедрение результатов исследования

Результаты настоящего исследования используются при планировании и оценке результатов лечения больных раком молочной железы

в клинике ФГБУ «НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России.

Глава 1. Обзор литературы

1.1. Генетическая стабильность и репарация ДНК

ДНК генома постоянно подвержена повреждающему воздействию эндогенных агентов, таких как продукты метаболизма кислорода, а также экзогенных агентов, таких как ультрафиолетовое излучение. Немедленное распознавание повреждения ДНК осуществляется за счет работы специфических белков, связывающихся с участками повреждения. Передача и усиление сигнала повреждения ДНК осуществляются при помощи комплекса «законсервированных» протеин-киназ, включая ATM и ATR, и киназ перехода фаз клеточного цикла Chk1 и Chk2. Ответ на повреждение ДНК у млекопитающих — хорошо регулируемый и тонко настроенный механизм, способный определять, нужно ли перейти к фазе ареста клеточного цикла и восстановлению повреждений, или же, в случае существенного повреждения ДНК, инициировать клеточную гибель.

Учитывая, что существует большое количество факторов, повреждающих ДНК, не удивительно, что также существует и большое количество различных систем восстановления, способных бороться с негативным воздействием. Многие из этих систем пересекаются в работе и активно взаимодействуют, имеют общие механизмы действия и даже специфические продукты генома.

Самые простые механизмы восстановления ДНК — прямое устранение повреждения. Например, неправильное метилирование гуанина приводит к нарушению парности. Это повреждение может быть устранено действием фермента ДНК метилгуанин метилтрансферазы (MGMT), который просто удаляет метильную группу и необратимо связывает ее саму с собой. Фермент MGMT восстанавливает

повреждения, наносимые действием алкилирующего агента темозоломида (TMZ), и активность этого фермента, похоже, напрямую связана с нечувствительностью опухолей головного мозга к химиотерапевтическому воздействию алкилирующих агентов [10].

Наиболее разносторонний и широко применяемый механизм восстановления ДНК — тот, при котором производится удаление участка нарушенной последовательности цепочки ДНК, а образовавшийся промежуток заполняется при помощи репликации, при этом комплементарная цепочка используется как шаблон для синтеза. Избыточность генетической информации в двухцепочечной структуре ДНК необходима для поддержания стабильности генома при помощи вырезания дефекта и установления заплатки — механизма эксцизионной починки. Каждая из двух цепочек ДНК может служить шаблоном для репликации и последующей починки второй цепочки.

Механизм починки с эксцизией нуклеотида используется при удалении различных типов повреждений, таких как присоединение комплексных оснований химических канцерогенов и образование межцепочечных связей. Например, в результате действия цисплатина или продуктов влияния ультрафиолетового света. Такие повреждения могут становиться структурным блоком для транскрипции и репликации в результате нарушения хелической конформационной структуры ДНК. Кроме того, эти повреждения могут стать причиной мутации, если транскрипция всё же осуществляется и не производится корректное восстановление.

Особого рода проблемы возникают, если с поврежденным участком встречается транслотирующая РНК-полимераза и мРНК вырабатывается до того, как ферменты удалили поврежденный участок, и была восстановлена интактная структура ДНК. В этой ситуации на помощь приходит альтернативный путь, известный как парно-транскрипционное восстановление. В таком случае осуществляется замещение РНК-полимеразы и эффективно восстанавливается блокирующее повреждение, и

таким образом возобновляется транскрипция. Наследуемые мутации, связанные с дефектом генов, кодирующих систему починки с эксцизией нуклеотида, приводят к редким рецессивно-наследуемым предраковым заболеваниям, включая пигментную ксеродерму. Однако в большинстве случаев повреждения генов, кодирующих систему починки с эксцизией нуклеотида, приводят к повышению риска возникновения солидных опухолей, а также влияют на ответ на применение противоопухолевых агентов, таких как цисплатин. Действительно, как ген p53, так и ген BRCA1, транскрипционно регулируют активность системы починки с эксцизией нуклеотида, что может служить объяснением высокой чувствительности РМЖ и рака яичников, ассоциированного с BRCA1 мутацией, к препаратам платины [11].

Значимый источник повреждения генома — действие реактивных агентов, продуктов нормального метаболизма, вызывающих окисление и алкилирование ДНК. Путь восстановления с эксцизией основания осуществляет распознавание и восстановление таких повреждений, а также починку участков без основания и поломок одной цепочки ДНК (SSB) [12]. Окисленные основания блокируют процессы репликации и транскрипции и должны быть быстро восстановлены для поддержания генетической стабильности. Потеря или повреждение основания происходят с достаточно высокой частотой — приблизительно более 10 000 случаев на клетку в день. В большинстве случаев механизм восстановления с эксцизией основания запускается одним из ферментов комплекса гликозилаз, распознающим неправильное основание и отделяющим его от сахара-остатка. После эндонуклеазного удаления осуществляется ремонт ДНК полимеразой бэта-зависимой короткой вставкой (заплаткой) (1 нуклеотид) или длинной вставкой (от 2 до 15 нуклеотид). При этом используются различные комплексы энзимов, однако PARP неизменно играет ключевую роль в релаксации хроматина и задействовании восстановительных протеинов (XRCC1, ДНК-полимераз и лигаз), облегчающих процесс восстановления [13, 14]. Восстановление с короткой вставкой особенно важно для восстановления

повреждений ДНК, вызываемых химиотерапевтическими агентами или ионизирующим излучением. Также постепенно становится понятно, что отдельные виды опухолей ассоциированы с дефектом системы восстановления с короткой вставкой и чувствительны к терапии, направленной на подавление этой системы [15]. Широкий спектр ДНК-комплексов, служащих субстратами для восстановления с короткой вставкой, а также развитие ингибиторов PARP [16] предоставили на сегодняшний день возможность таргетно воздействовать на механизмы восстановления ДНК в опухолях человека.

Устранение несовпадений (мисмэтч восстановление) — еще один пример механизма восстановления с эксцизией, необходимый для поддержания генетической стабильности. Эта система направлена на коррекцию несовпадений в комплементарной структуре ДНК, возникающих за счет ошибок репликации, рекомбинации, а также вследствие модификации оснований [17]. Важность этого восстановительного механизма иллюстрирует следующее наблюдение: отсутствие данного механизма приводит к повышению частоты спонтанно возникающих мутаций. Наследственные дефекты в генах, кодирующих систему устранения несовпадений, связаны с наследственным неполипозным раком толстой кишки, а также со спорадическими случаями рака, иллюстрирующими нестабильность микроокружения. Устранение несовпадений осуществляется через четыре последовательных этапа: 1) распознавание несовпадения; 2) удаление несовпадающих нуклеотидов; 3) ресинтез удаленного участка и его связывание. Система устранения несовпадений также распознаёт неправильные основания, внедренные в структуру ДНК под действием антиметаболитов, метилированного гуанина и соединений «ДНК-платина». Это приводит к циклам с ошибкой или неполным циклам системы, что заканчивается апоптозом. Таким образом, опухоли с дефектом системы устранения несовпадений могут проявлять резистентность к отдельным видам лекарственной терапии [18].

Двухцепочечные поломки ДНК, вызываемые ионизирующим излучением,

эндогенными свободными радикалами, химикатами, репликацией через белки и репликацией в ходе устранения межцепочечных связей, восстанавливаются либо за счет относительно безошибочного механизма гомологичной рекомбинации, либо за счет склонного к формированию ошибок механизма связывания нехомологичных концов. Невосстановленная поломка двух цепочек — явление, связанное с крайне высоковероятной клеточной гибелью. Даже единичного появления такой поломки во всём геноме достаточно для перехода клетки в фазы, когда не осуществляется синтез ДНК или деление до полного восстановления, или фазу наступления апоптоза при невозможности устранения ошибки. Повреждение обеих цепочек также предотвращает митоз, поскольку интактные хромосомы — необходимое условие для сегрегации в ходе деления. Таким образом, эти повреждения часто приводят к различного рода хромосомным абберациям, таким как анеуплоидность, делеции и хромосомные транслокации. Все они находятся в тесной связи с канцерогенезом [19].

Недавние исследования позволили определить целый комплекс протеин киназ, составляющих сигнальную систему регуляции клеточных процессов в ответ на появление поломок обеих цепочек. Было установлено, что многие белки, участвующие в процессах, необходимых для осуществления восстановления повреждения обеих цепочек, при заболеваниях с повышенным риском рака оказываются дефективными. Это проявляется в виде генетической нестабильности и выявляется при таких синдромах, как атаксия-телеангиэктазия (MRE11), синдром хромосомных поломок Ниймегена (NBS1), синдром Вернера, Блума и Ротмунда — Томсона (RecQ-подобные хеликазы), а также при синдроме «Рак молочной железы + Рак яичников» [Breast-ovarian syndrome] (BRCA1, BRCA2).

1.2. Генетические аномалии как причина возникновения РМЖ

Впервые семейные случаи РМЖ были описаны в наблюдении французского хирурга в 1860 году. Рак молочной железы развился у его супруги в молодом возрасте. После составления и анализа ее родословной он установил, что в четырех поколениях ее семьи имели место частые случаи рака молочной железы. Кроме того, обнаруженная высокая частота опухолей желудочно-кишечного тракта стала основанием для предположения о некоей предрасположенности, а возможно, и о существовании наследуемой формы рака [20].

Выделение наследственного, семейного и спорадического рака молочной железы позволяет оптимизировать систему скрининга, применять профилактические мероприятия, оценивать риски, проводить психологическое и генетическое консультирование в семьях со значимой историей РМЖ. На сегодняшний день критерии разделения между наследственным и семейным РМЖ являются достаточно условными, и вновь выявляемые гены с низкой пенетрантностью, ответственные за риски развития РМЖ, могут привести к пересмотру классификации [21].

Спорадический РМЖ — заболевание, развившееся у индивида, не имеющего семейной истории данного заболевания. Семейный РМЖ — заболевание, развившееся у индивида с несколькими случаями проявления данной нозологической единицы в семейной истории, но без выявленной известной генетической аномалии [22]. При спорадическом раке молочной железы генетические мутации образуются в соматических диплоидных клетках в результате генотоксического влияния свободных радикалов, образующихся под влиянием химических канцерогенов, ионизирующего излучения и даже в результате нормального метаболизма клетки. Эти генетические аномалии носят приобретенный характер и не передаются по наследству. Последовательное накопление некорректированных мутаций в соматических клетках

создает основание для дальнейшего развития онкологического заболевания. Мутационная активация процесса онкогенеза сопряжена с процессом инактивации генов-супрессоров [23]. В среднем число генетических аномалий, выявляемых в опухолевой клетке при помощи современных методов полногеномного секвенирования, составляет около 80.

Семейный РМЖ считается результатом комбинированного воздействия ассоциации генов, сопряженных с повышением риска РМЖ, факторов внешней среды и воздействия гормонов, что приводит к повышению риска развития заболевания [24, 25, 26]. Фенотипическая и генетическая неоднородность семейного РМЖ затрудняет выявление генетических факторов, ответственных за развитие заболевания. Генетические аномалии, сопряженные с умеренным риском развития РМЖ, ответственны менее чем за 10% случаев семейного рака молочной железы [27].

Пациенты с высокой кумуляцией случаев рака молочной железы среди близких родственников чаще всего относятся к относительно немногочисленной, но крайне значимой группе наследственного РМЖ, составляющей 5–10% от общего числа [4, 28]. Причиной развития заболевания в таком случае является наследование доминантного гена [21]. Клинические характеристики, позволяющие выявить наследственный РМЖ, представлены в таблице 1.

Таблица 1

Клинические характеристики, позволяющие заподозрить наследственный рак (Thull & Vogel 2004)

РМЖ у женщины в возрасте до 40 лет
2 или более женщин по одной семейной линии с РМЖ, диагностированным в возрасте более 50 лет
Первично-множественные опухоли (например, РМЖ/РЯ, РМЖ/рак щитовидной железы, РМЖ/саркома)
Семейная история по раку яичников
РМЖ у мужчины
Принадлежность к этнической группе евреев-ашкенази
Рак поджелудочной железы и семейные случаи РМЖ в возрасте до 50 лет
Ранний рак предстательной железы (до 55 лет) и семейная история РМЖ в возрасте до 50 лет
Несколько поколений с одним и тем же видом онкопатологии (аутосомно-доминантный тип наследования)

Среди пациенток с наследственным РМЖ приблизительно 25–30% случаев могут быть ассоциированы с наследственными мутациями в одном из двух высокопенетрантных генов: BRCA1 или BRCA2. Носительство мутаций в генах BRCA1 или BRCA2 сопряжено с общим кумулятивным риском развития РМЖ в 60–85% и риском развития рака яичников 30–40% к возрасту 70 лет соответственно [29]. Третьим по значимости геном, ответственным за предрасположенность к РМЖ, является CHEK2, выделенный около десяти лет назад и ответственный за определенную распространенность наследственного РМЖ в Европе (THE CHEK2 Breast Cancer Case-Control Consortium 2004).

Обобщенные данные по частоте выявления мутаций BRCA1, BRCA2 и CHEK2 при билатеральном и одностороннем РМЖ представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2

Обобщенные данные по частоте мутаций BRCA1, BRCA2, CHEK2 в сравнении при одностороннем, билатеральном РМЖ и в контрольной группе [30]

Этническая принадлежность	Здоровые [%]	Унилатеральный РМЖ [%]	Билатеральный РМЖ [%]
BRCA1			
Ашкенази	1,1	7,7	21,3
Прочие	0,3	2,0	12,6
BRCA1 5382insC			
Ашкенази	0,2	1,9	Нет данных исследований
Прочие	0,4	2,1	7,9
BRCA2			
Ашкенази	1,2	3,3	8,1
Прочие	0	1,0	2,7
CHEK2			
CHEK2 1100delC	0,5	1,5	2,8

Таблица 3

BRCA1, BRCA2, CHEK2 сравнение относительных рисков унилатерального РМЖ в сравнении с билатеральным РМЖ в сравнении с контрольной группой [30]

Мутация	Унилатеральный РМЖ против контрольной группы	Унилатеральный РМЖ против билатерального РМЖ	Билатеральный РМЖ против контрольной группы
BRCA1	6.3 (4.7 — 8.3)	2.1 (1.5 — 2.9)	62 (12 — 317)
BRCA2	3.3 (2.5 — 5.2)	3.2 (1.6 — 6.3)	30 (1.6 — 562)
CHEK2	2.6 (2.0 — 3.3)	2.2 (1.5 — 3.2)	6.0 (3.5 — 10.2)

Примечание - В таблице 3 отражены относительные риски возникновения одностороннего и билатерального РМЖ. Наиболее высокие риски одностороннего РМЖ и билатерального РМЖ

возникают при носительстве мутации BRCA1. Носительство мутации CHEK2 также ассоциировано с существенным повышением риска билатерального РМЖ

С запуском проекта «Геном человека» и развитием широко-геномных ассоциированных исследований (GWAS) появилась возможность выделить гены предрасположенности к РМЖ с высокой частотой появления аллелей, но низкой пенетрантностью. В результате за последнее десятилетие можно наблюдать смену модели, предполагающей мутацию в одном гене как причину предрасположенности на мультигенные модели.

Эти модели предполагают, что значимая доля случаев РМЖ возникает у генетически-восприимчивого меньшинства женщин как следствие комбинированного эффекта воздействия часто встречающихся аллелей с низкой пенетрантностью и редких вариантов, обуславливающих развитие заболевания и связанных с умеренным и высоким риском. В соответствии с данной концепцией гены и локусы, ответственные за развитие наследственных форм РМЖ, могут быть разделены на три категории в зависимости от степени риска (таблица 4) [31, 32, 34] высоко-пенетрантные редкие мутации; умеренно-пенетрантные и низко-пенетрантные с наибольшей частотой встречаемости аллелей.

Таблица 4

Гены, мутации в которых ассоциированы с развитием РМЖ в соответствии с их пенетрантностью (Meindl et al. 2011)

Гены риска	Повышение риска РМЖ	Гены/синдромы
Высоко-пенетрантные гены	5–20 раз	BRCA1/BRCA2/RAD51C: синдром наследственного РМЖ и РЯ; TP53: синдром Li-Fraumeni; STK11/LKB1: синдром Peutz-Jeghers; PTEN: синдром Cowden
Умеренно-пенетрантные гены	1,5–5 раз	CHEK2, PALB2, BRIP1, ATM

Мало-пенетрантные гены	0,7–1,5 раза	FGFR2, TOX3, MAP3K1; CAMK1D, SNRPB; FAM84B/c-MYC, COX11; LSP1, CASP8, ESR1; ANKLE1, MERIT40, etc.
------------------------	--------------	---

Однако спорадический РМЖ составляет 2/3 от всех случаев РМЖ. Все описанные варианты на сегодняшний день составляют 40% от общего числа семейного РМЖ (10% от общей структуры), что оставляет широкое пространство для поиска других генетических аномалий, ответственных за индивидуальное повышение риска РМЖ (Рис. 1).

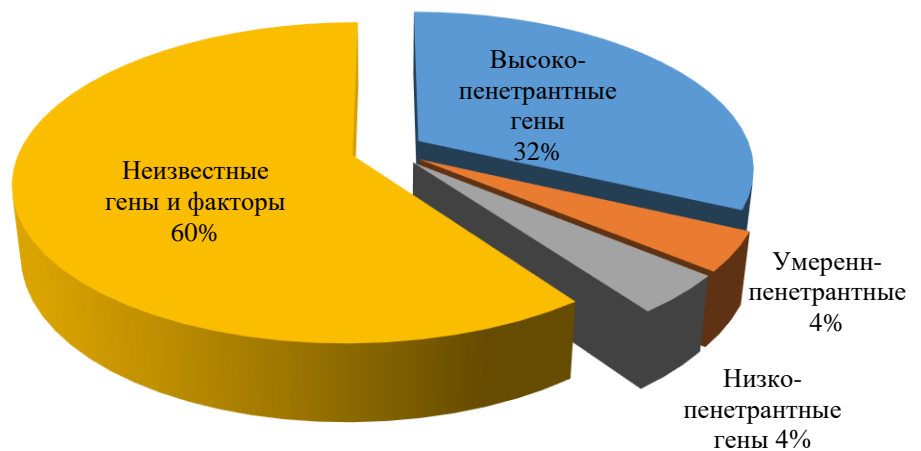


Рис. 1. Данная диаграмма отражает распределение генетических факторов в структуре возникновения наследственного рака молочной железы. Превалирующую долю составляют неизвестные генетические факторы

В целом повреждения в двух типах генов ответственны за развитие процесса туморогенеза: повреждение онкогенов и повреждение генов-супрессоров опухолевого роста. Иногда гены презервации генетической стабильности выделяются из категории генов-супрессоров в отдельную группу [34]. Мутации в онкогенах приводят к

постоянной активности генов или к активности, проявляющейся в условиях, при которых гены дикого типа активности не демонстрируют. Активация онкогенов может приводить к хромосомным транслокациям, амплификациям или возникновению внутригенных мутаций, влияющих на активность конечного продукта, кодируемого геном. Описанным примером мутации онкогена при РМЖ является редкая активирующая мутация PK3CA и AKT1, вызывающая синдром Cowden [35].

Развитие мутаций в генах-супрессорах опухолевого роста, напротив, приводит к снижению активности продукта гена. Неопластический процесс развивается в результате блокирования процесса апоптоза, нарушения процесса ареста клеточного цикла или потери контроля пролиферации. Эти процессы возникают в результате мутаций, приводящих к синтезу труктурирующих протеинов, делеций и инсерций различного размера, деактивирующих миссенс-мутаций и эпигенетического подавления. Примером данного класса мутаций являются мутации TP53 и альтерации LKB1, приводящие к развитию синдрома Li-Fraumeni, синдрома Cowden и синдрома Peutz-Jeghers.

Большинство генов, связанных с наследственным РМЖ, относятся к группе так называемых генов презервации стабильности или генов-попечителей, контролирующих и реализующих различные механизмы репарации ДНК. Это вышеописанные механизмы репарации одноцепочечных поломок при помощи механизма восстановления несовпадений, репарация с эксцизией нуклеотидов, репарация с эксцизией оснований и репарация двухцепочечных поломок через гомологичную рекомбинацию или связывание негомологичных концов. Наиболее изученные гены, мутации в которых ответственны за развитие наследственных форм РМЖ — BRCA1 и CHEK2, — являются объектом данного исследования.

1.2.1. BRCA1 и CHEK2

BRCA1 и CHEK2 представляют собой наиболее клинически значимые гены, мутации в которых обуславливают развитие РМЖ в России. Их молекулярные свойства и связанные с ними клинические аспекты, а также молекулярная эпидемиология детально рассмотрены ниже.

Первые доказательства существования гена BRCA1 были получены в лаборатории профессора Мари Клэр-Кинг в результате анализа, произведенного в семьях с историей РМЖ [36, 37]. Ген был впервые клонирован в 1994 году [38]. Он располагается на длинном плече 17-й хромосомы 17q21 и кодирует ядерный фосфопротеин, играющий ключевую роль в процессах репарации двухцепочечных поломок ДНК при помощи гомологичной рекомбинации. Ген BRCA1 совместно с другими генами-супрессорами, системами определения повреждения ДНК и передатчиками сигнала повреждения формирует крупный комплекс, известный как BRCA-ассоциированный комплекс презервации целостности ДНК (BASC). BRCA1 также участвует в осуществлении переключения фаз клеточного цикла, ремоделировании хроматина, регуляции транскрипции и убиквитинировании белка (посттрансляционное присоединение ферментами убиквитин-лигазами одного или нескольких мономеров убиквитина с помощью ковалентной связи к боковым аминокетильным группам белка-мишени) (см. таблица 5) [6].

Ген BRCA1 играет ключевую роль в процессе канцерогенеза. Мутация BRCA1 совместно с мутацией гена BRCA2 ответственны за 5% от общего числа случаев РМЖ. Носительство мутации BRCA1 сопряжено с 65%-ным кумулятивным риском развития РМЖ в течение жизни и 39%-ной вероятностью развития рака яичников к возрасту 70 лет [38, 39].

Взаимодействие с другими белками системы репарации

ДНК (например, CTIP, NBS1 RAD50, BARD1 и т. д.) может оказывать влияние на риски развития РМЖ и РЯ [40]. Внешние факторы также могут оказывать влияние на риски, ассоциированные с носительством мутации BRCA. Гормональные факторы, такие как наступление беременности, возраст наступления первой беременности, закончившейся родами, длительность лактации и использование оральных контрацептивов могут оказывать разнонаправленные эффекты влияния на риски у носителей мутации BRCA1. Беременность и роды снижают риски РМЖ как в общей популяции, так и среди носителей мутаций [41].

Таблица 5

Система BRCA1 и ее наиболее значимые функции (Narod & Foulkes 2004)

Гомологичная рекомбинация (ГР)	Репарация двухцепочечных поломок, резекция цепочки, изменение генетической информации
Регуляция переключения фаз клеточного цикла	G1/S- и G2/M-переходы
Ремоделирование хроматина	Облегчение работы системы гомологичной рекомбинации блокирует взаимодействие РНК и полимеразы II (подавление механизма транскрипции для починки повреждений)
Убиквитинирование	Белки-контроллеры клеточного цикла помечаются для разрушения протеосомами, что позволяет войти в фазу починки

В таблице 5 обобщены основные функции гена BRCA1, что иллюстрирует всю его значимость для реализации ключевых моментов жизнедеятельности клетки эукариот.

Исследования, направленные на изучение влияния мутации BRCA1 на риски развития РМЖ и особенности течения РМЖ, ассоциированного с наследственными мутациями, сложны ввиду разнообразия генетических аномалий в популяции. Число известных инактивирующих аллелей в гене BRCA1 исчисляется тысячами вариантов. BRCA1 — крупный ген, генерирующий несколько различных транскриптов. Он занимает регион в 81,1 тысяч базовых оснований в длину и содержит 24 экзона. Ряд так называемых распространенных founder-мутаций был выделен в гене BRCA1. Эта находка существенно упростила генетическое тестирование в ряде этнических групп. Другие мутации, ассоциирующиеся с повышением риска РМЖ, могут локализоваться на любом участке гена и, как и для большинства мутаций в генах-супрессорах, альтерация структуры приводит к формированию трункирующих протеинов. Также в гене могут появляться миссенс-делеции, особенно в экзонах, кодирующих домены, взаимодействующие с белками, связывающими BRCA1.

Так называемый фаундер-эффект — потеря генетического разнообразия, появляющаяся при длительной изоляции небольших популяций в силу географических, социальных, религиозных или иных причин. Повышение частоты инбридинга в этих замкнутых популяциях приводит к увеличению частоты появления мутаций, присутствовавших у предков. Следствием этого является то, что в норме редко встречающиеся мутации становятся в данной ограниченной группе всё более частыми [42]. Наиболее изученной популяцией с выраженным founder-эффектом являются евреи-ашкенази. Среди этой этнической группы распространены мутации, ассоциированные с повышением риска РМЖ: BRCA1 5382insC, BRCA1 185delAG и BRCA2 6174delT. Для различных популяций установлены «наборы» наиболее распространенных фаундер-мутаций (Таблица 6). Некоторые из этих мутаций широко распространены по всему миру (например, 5382insC или 185delAG). В генетически гомогенных популяциях с выраженным фаундер-эффектом (Исландия, Сардиния, Французская Канада) значительно проще проводить молекулярную диагностику

наследственного РМЖ. Достаточно неожиданно, что в России наследственные формы РМЖ ассоциированы с выраженным фаундер-эффектом. То есть большинство мутаций являются достаточно частыми и повторяющимися [43, 44]. Отмечено, что, несмотря на то, что популяция России представляет собой многомиллионную нацию, занимающую территорию от Балтийского моря до Тихого океана, удивительно часто при генетическом скрининге определяется мутация BRCA1 5382insC. Делеция нуклеотида BRCA1 4153delA впервые была выявлена у пациенток с семейными случаями РМЖ в России, а затем в соседних странах — Польше, Литве, Белоруссии и Латвии [45, 46].

Таблица 6

Спектр распространенных мутаций BRCA1 в европейских популяциях

Страна/популяция	Мутация	Изучившие авторы
Еврей-ашкенази	185delAG 5382insC (c.5266dupC) 188del11	(Kurian 2010) (Roa et al. 1996) (Abeliovich et al. 1997) (Tonin 2000)
Французская Канада (Квебек)	C4446T	(Tonin et al. 1999)
Европа/Голландия	E1214X 2080delA IVS12-1643del3835 2804delAA	BIC, 2002 Breast Cancer Information Core Database.
Бельгия	BRCA1 IVS5+3A>G	(Claes et al. 1999)
Венгрия	185delAG, 300T>G 5382insC (c.5266dupC)	(Van Der Looij et al. 2000) (Verhoog et al. 2001)
Скандинавские страны	1201del11 1806C>T 2594delC 3172ins5 3829delT 300T>G	(Loman et al. 2001)
Финляндия	3745delT IVS11-2A>G	(Huusko et al. 1998)
Россия	5382insC (c.5266dupC) 4153delA	(Sokolenko et al. 2007)

	185delAG	
Германия	5382insC (c.5266dupC) 4184del4	(Backe et al. 1999)
Чехия	5382insC (c.5266dupC) c.3700_3704del5	(Machackova et al. 2008)
Польша	5382insC (c.5266dupC) T300G 3819del5 185delAG C5370T 3875del4 4153delA	(Gaj et al. 2012) (Górski et al. 2004)
Испания	243delA-ter49	(Garcia-Patiño et al. 1998)
Италия	3345delA 962delCTCA 1135insA 1499insA 3135delCATT 3875delGTCT 3975delAGTG 4086C>T 4236G>T 4302C>T 5083del19 5382insC (c.5266dupC)	(Ottini et al. 2003) (Cipollini et al. 2004) (Capalbo et al. 2006)

Эти наблюдения дают основание утверждать, что значимая фракция (> 80%) случаев наследственного РМЖ в России может быть диагностирована при помощи ограниченного набора ПЦР исследований, включающих определение BRCA1 5382insC, BRCA1 4153delA, BRCA1 185delAG, BRCA2 6174delT, возможно CHEK2 1100delC, и NBS1 657del5. При выполнении данной диссертационной работы широкая распространенность наследственных фаундер-мутаций BRCA1 и CHEK2 в России была использована для проведения системного анализа результатов неoadьювантной цитостатической полихимиотерапии среди носителей мутаций генов и пациенток без выявленной генетической аномалии.

Опухоли, ассоциированные с мутацией BRCA1, отличаются от опухолей, ассоциированных с мутацией BRCA2, и от спорадического РМЖ по своим

гистопатоморфологическим характеристикам [47]. Опухоли, ассоциированные с мутацией BRCA1, как правило, негативны по рецепторам эстрогенов (ЭР) и прогестерона (ПР) и не демонстрируют гиперэкспрессии рецепторов человеческого эпидермального фактора роста (HER2 neu) — т. е. относятся к так называемому трижды негативному фенотипу. Более 90% опухолей РМЖ с мутацией BRCA1 являются рецептор-негативными. Часто отмечается экспрессия рецепторов эпидермального фактора роста (EGFR) и c-KIT. В опухолях, ассоциированных с мутацией BRCA1, часто активными остаются сигнальные пути, работа которых обычно нарушена в опухолевой клетке, включая МАП — митоген-активируемую протеин киназу и внеклеточную сигнал-регулируемую киназу (ERK), а также фосфотидилинозитол-3 киназу сигнального пути (PI3K)-АКТ. Также при BRCA1-ассоциированном подтипе активны гены, участвующие в эпителиально-мезенхимальной трансформации [48, 49, 50]. Исследования по оценке профилей генной экспрессии позволили установить, что опухоли, ассоциированные с мутацией BRCA1, имеют базально-подобный молекулярный фенотип, характеризующийся негативными рецепторами эстрогенов, экспрессией базальных цитокератинов (СК5/6, СК14) и/или EGFR и часто встречающейся соматической мутацией p53 [51].

С точки зрения патоморфологических свойств, опухоли у носителей мутации BRCA1 представляют собой низкодифференцированный протоковый рак с высокой пролиферативной активностью, высоким ядерным плеоморфизмом и меньшей интенсивностью формирования тубулярных структур по сравнению со спорадическим РМЖ у лиц соответствующих возрастных категорий. Чаще определяется локорегионарное метастазирование на момент хирургического лечения, и в целом они имеют худший прогноз [49, 52, 53, 54].

1.2.2. СНЕК2

Ген СНЕК2 (Checkpoint kinase 2), также именуемый Chk2, является человеческим гомологом генов Rad53 и Cds1. Ген СНЕК2 является третьим по частоте геном, ответственным за развитие наследственного РМЖ. СНЕК2 — ген-супрессор опухолевого роста, расположенный на 22-й хромосоме 22q12.1 и включающий 20 экзонов, — был выделен более 10 лет назад, и именно с ним связывается определенная распространенность наследственных форм РМЖ в европейских странах [55, 56, 57]. СНЕК2 — ядерная серин/треонин-протеин-киназа — является одним из наиболее значимых генов, осуществляющих контроль переключения фаз клеточного цикла, работу сигнальной системы репарации ДНК и регуляции апоптоза. Активирующими факторами являются репликативный стресс или формирование двухцепочечных поломок ДНК. СНЕК2 активируется АТМ и АТР. Эти протеины катализируют фосфорилирование специфического домена, что приводит к последующим димеризации, аутофосфорилированию и активации. Активированные мономеры фосфорилируют другие компоненты сигнальной цепи, такие как ген-супрессор опухолевого роста p53, семейство белков CDC25 (CDC25C и CDC25A) и BRCA1. В результате цепочки реакций активируется процесс репарации и одновременно блокируется вступление в фазу митоза (переход G1/S, S, G2/M) [59]. Координация работы системы репарации ДНК особенно важна после повреждающего генотоксического воздействия, такого как ионизирующее излучение или цитостатическая химиотерапия. В клетках млекопитающих СНЕК2 активируется АТМ в ответ на повреждение ДНК.

Риск развития РМЖ в течение жизни у носителей мутации СНЕК2, приводящей к формированию труктурирующих протеинов, составляет ориентировочно 20% для женщин, не имеющих семейной истории заболевания, и 44–57% для женщин с

выраженной семейной историей РМЖ [59, 60]. Мутация *CHEK2 1100 delC* ассоциирована с дополнительными рисками развития контралатерального РМЖ, а также с плохими показателями долгосрочной безрецидивной и общей выживаемости и выживаемости без появления отдаленных метастазов [55, 61, 62, 63, 64].

Две наследственные фаундер-мутации в гене *CHEK2* являются наиболее хорошо изученными. Мутация *CHEK2 1100delC* встречается у 0,2–1,5% жителей Европы и Северной Америки [65] (The *CHEK2* Breast Cancer Case-Control Consortium 2004). Данная мутация *100delC* широко распространена и в России [66]. Женщины-гомозиготы демонстрируют более чем двукратное повышение риска РМЖ в сравнении с гетерозиготным унаследованным носительством [67, 68].

Другая мутация, широко встречающаяся в России — *CHEK2 IVS2+1G> A*, — также обнаруживается в Польше, Беларуси, Германии и Северной Америке [69, 70].

Позднее другая миссенс-мутация I157T, ассоциированная с повышением риска рака предстательной железы была описана в Польше [71]. Несколько новых мутаций, включая крупные перестановки нуклеотидов, были обнаружены в популяции славянского происхождения в Италии и Франции [72, 73]. На сегодняшний день определено не менее 100 мутаций в гене *CHEK2*. База данных генетических мутаций человека *v. Professional 2013.4* содержит информацию о 55 миссенс/нонсенс-мутаций, 2 крупных делециях, 11 малых делециях, 1 малой инсерции, 3 сплайс-сайт-мутациях и 2 мутациях в регуляторных регионах. Данные о наиболее распространенных мутациях *CHEK2* в различных популяциях обобщены в таблице 7.

Таблица 7

Наиболее распространенные фаундер-мутации в гене СНЕК2 в различных странах Европы

Страна	Мутация	Автор-исследователь
Голландия	1100delC	(Narod 2010)
Голландия	1100delC	(Huijts et al. 2013)
Финляндия	1100delC	(Vahteristo et al. 2002)
Дания	1100delC	(Weischer et al. 2007)
Германия	1100delC	(Rashid et al. 2005)
Польша	1100delC 5395del IVS2+1G>A I157T	(Cybulski et al. 2007)
Польша	1100delC IVS2+1G>A I157T	(Górski et al. 2005)
Чехия	1100delC	(Kleibl et al. 2005)
Канада (франц)	1100delC	(Zhang et al. 2008)
Россия	1100delC	(Chekmariova et al. 2006)
Мета-анализ	1100delC	(Kuligina et al. 2010)
Мета-Анализ	1100delC	(Yang et al. 2012)

В таблице 7 приведен перечень наиболее распространенных мутаций гена СНЕК2 в странах Европы. Преобладающим вариантом, широко распространенным как в Западной, так и в Восточной Европе, является 1100 delC. Предшествовавшие исследования позволили установить, что опухоли РМЖ, ассоциированные с мутацией СНЕК2 1100delC, в основном являются ЭР-позитивными [74, 75, 76].

1.3. Неoadьювантная терапия РМЖ

Терапевтический арсенал средств, применяемых для лечения РМЖ, достаточно широк. Краеугольным камнем лечения солидных опухолей остается хирургическое вмешательство, однако на сегодняшний день очевидно, что местное воздействие способно излечить пациенток лишь на ранних стадиях заболевания. Ключевые успехи последних десятилетий в области лечения РМЖ, выражающиеся в росте выживаемости, связаны с введением программ раннего выявления и прогрессом в системном лекарственном лечении. Примерно у 30% пациенток имеются occultные микрометастазы — циркулирующие и покоящиеся опухолевые клетки, выявляемые на момент постановки диагноза. Именно с этими клетками связывается способность к прогрессии заболевания с формированием отдаленных макрометастазов, что и определяет конечную судьбу онкологических пациенток. Широкое принятие данной концепции определяет потребность в комбинации местного лечения с системным подходом — химио-, гормональной и биотерапии. Для абсолютного большинства пациенток с РМЖ категории высокого риска химиотерапевтическое лечение является обязательным компонентом комплексного лечения.

Предоперационная, или неoadьювантная, системная терапия — проведение системного противоопухолевого лечения при помощи химиотерапии, гормонотерапии, биотерапии или сочетания этих методов до начала местного лечения. Первоначально метод рассматривался как подход к ведению больных с местно-распространенными неоперабельными опухолями, и постепенно индукционная терапия с последующей операцией стала золотым стандартом [78, 79]. Относительно недавно подход стал рекомендоваться и для первично операбельных больных [80]. Особую роль, как самый широко распространенный, привычный и наиболее изученный метод играет неoadьювантная химиотерапия. Первое проспективное исследование неoadьювантной

химиотерапии при местнораспространенном неоперабельном РМЖ было инициировано в 1973 году Европейским институтом онкологии. Основной целью было уменьшение размеров первичной опухоли для достижения операбельного состояния [81].

Научным обоснованием для предложения неoadьювантного лечения в практику в 80-х годах XX века стал ряд научных гипотез. Согласно модели Гомпертца, объясняющей кинетику опухолевого роста, опухоли меньшего размера делятся и растут быстрее, чем более крупные новообразования. Соответственно, более раннее начало системного лечения будет более эффективным, так как больший процент клеток будет находиться в фазе активного деления. Гипотеза Goldie-Colman заключалась в том, что растущая популяция опухолевых клеток приводит к появлению всё большего числа лекарственно-устойчивых фенотипических вариантов в результате спонтанных соматических мутаций [82]. Вероятность появления таких резистентных клеток снижается при ранней инициации химиотерапии. Наконец, исследования на животных продемонстрировали, что хирургическое удаление первичной опухоли приводит к росту числа циркулирующих и диссеминированных опухолевых клеток, а также к увеличению концентрации ростовых факторов в сыворотке [83, 84, 85]. Химиотерапевтическое лечение, проведенное до осуществления хирургического вмешательства, предотвращало эти изменения [85].

Недавно выполненное исследование продемонстрировало, что циркулирующие опухолевые клетки, появляющиеся после проведения хирургического этапа лечения, обладают рядом генетических изменений, характеризующих их как более агрессивные и жизнеспособные [86].

В конце XX века научные гипотезы стали обоснованием для проведения рандомизированных исследований по сравнению эффективности предоперационной и послеоперационной химиотерапии [87, 88, 89, 90, 91, 92].

Ни в одном из этих исследований не были обнаружены различия в

безрецидивной или общей выживаемости между пациентами из групп пред- и послеоперационной химиотерапии. Что примечательно: частота местного рецидива также не изменилась, несмотря на значительно бóльшую частоту выполнения орган-сберегающих операций в группе пациенток, получавших предоперационное системное лечение. В литературе, однако, можно встретить утверждения о более высокой частоте местного рецидива у пациенток, получавших предоперационную химиотерапию. Это обусловлено включением в ряд анализов трех исследований, в которых пациенты не подвергались хирургическому лечению при полном клиническом регрессе (сCR) — выполнялась только лучевая терапия. В одном из таких исследований частота местного рецидива достигла 34% при 10-летнем периоде наблюдения [88]. На основании этого можно легко сделать вывод о том, что отказаться от хирургического лечения не представляется возможным даже при достижении полного клинического регресса в результате системного лечения.

Одинаковая эффективность неоадьювантной и адьювантной химиотерапии подтвердилась и после выполнения Кохрейн-анализа [93]. Результаты лечения остаются идентичными спустя 10 лет наблюдения [94].

Хотя рандомизированные исследования и не продемонстрировали преимуществ неоадьювантного лечения в отношении увеличения выживаемости, ряд существенных преимуществ у предоперационного системного лечения, безусловно, есть. Выделяют несколько основных преимуществ.

1. Снижение стадии заболевания и оптимизация хирургического этапа лечения. По данным мета-анализов снижения стадии заболевания удастся добиться в среднем в 36% случаев применения неоадьювантного лечения.
2. Уменьшение размера первичной опухоли и повышение частоты выполнения орган-сберегающих операций.
3. Регресс пораженных опухолью лимфоузлов (nodal downstage), и как следствие — облегчение выполнения аксиллярной лимфодиссекции.

4. Снижение токсичности проводимого лечения. Химиотерапия перед операцией переносится легче и сопровождается меньшим количеством нежелательных явлений.
5. Пожалуй, одним из наиболее значимых преимуществ можно назвать возможность оценки лечебного эффекта по данным исследования операционного материала.

Существует возможность того, что опухоль окажется первично резистентной к проводимому лечению, и пациенту, которому планировалось выполнение радикальной операции, операция не сможет быть предложена. Насколько это реалистично? По данным ранних исследований эффективности неoadьювантной терапии частота upfront-прогрессии на фоне проводимого лечения варьировала от 1 до 4% [91, 92, 95, 96]. В одном из исследований сообщалось о частоте прогрессирования в 12%, однако в соответствии с примененными в этом испытании критериями оценки пациенты со стабилизацией включались в группу «прогрессии» [91]. С внедрением в практику более мощных и современных химиотерапевтических агентов частота прогрессирования на фоне проводимого лечения снизилась. В исследовании GEPARUO все пациенты (n = 913) получали неoadьювантное химиотерапевтическое лечение. Рандомизация производилась на лечение комбинацией доксорубицин+доцетаксел или доксорубицин+циклофосфамид с последующим применением доцетаксела [97]. Частота прогрессирования составила 1% и 2% соответственно. При этом в 40% случаев прогрессирования пациентам всё равно можно было выполнить орган-сберегающую операцию [98]. В исследовании TOPIC пациенты (n = 426) рандомизировались на лечение комбинацией доксорубицин + циклофосфамид или эпирубицин + цисплатин + 5-фторурацил. Частота прогрессирования на фоне проводимого лечения составила 2% и 1% соответственно [99]. В прочих исследованиях частота прогрессирования на фоне лечения также приемлемо низка. При оптимальном контроле и оценке эффективности лечения, при

своевременной конверсии в случае резистентности опухоли результаты лечения не ухудшаются. Даже у стабилизации на фоне проводимого лечения есть положительный аспект. Он заключается в том, что пациент в дальнейшем не будет получать неэффективное токсичное лечение. Эффективность химиотерапии у конкретного пациента после проведения местного лечения определить невозможно. В случае применения послеоперационной химиотерапии при резистентной опухоли пациент будет получать только токсические нежелательные эффекты и никакой пользы.

Основные результаты клинических исследований обобщаются в рекомендациях международных и национальных профессиональных сообществ, таких как Sankt-Galen, NCCN, ESMO, ASCO, RUSSCO и POOM. Для рутинного применения рекомендуется использование одних и тех же режимов как в неoadъювантном, так и в адъювантном режиме. Рекомендуется полностью реализовывать всю программу химиотерапевтического лечения на этапе до проведения хирургического лечения, а не разделять химиотерапию на пред- и послеоперационную [100]. Полихимиотерапия считается более эффективной, чем монохимиотерапия (EBCSCG 1992), поскольку потенциально может привести к большему охвату гетерогенной клеточной популяции, различающейся по поведению и чувствительности. Использование монохимиотерапии не может привести к максимальному «киллинговому» эффекту даже при достижении максимально переносимых доз [100]. Лечебные режимы, содержащие антрациклины и таксаны, считаются наиболее эффективными, особенно при последовательном применении по сравнению с одновременным применением в течение как минимум 6 месяцев или 6 циклов терапии [101, 102].

С целью получить ответ на вопрос об оптимальной длительности неoadъювантной полихимиотерапии было проведено исследование GeparTrio. Из 2090 пациенток, включенных в исследование, по данным УЗИ ответ (уменьшение опухоли более 50%) был зафиксирован у 1390 (66,5%) пациенток после 2 курсов НАПХТ ТАС. Ответившие пациенты рандомизировались на получение еще 4 или 6 курсов ТАС. В

результате частота полного патоморфологического регресса не различалась в двух группах (21% против 23,5%). Частота выполнения орган-сберегающих операций не различалась (67,5% против 68,5%, в группах соответственно $P = 0.68$) [104]. Однако при этом частота нежелательных явлений в группе «продленного» неоадьюванта была значительно выше.

Был проведен целый ряд достаточно крупных исследований, направленных на установление оптимальных режимов и длительности применения НАПХТ. Исследовательская группа The Aberdeen Breast Study Group провела рандомизированное исследование по сравнению эффективности восьми курсов неоадьювантной полихимиотерапии по схеме циклофосфамид + винкристин + доксорубин + преднизолон в сравнении с четырьмя циклами той же схемы с последующим переходом на четыре цикла доцетаксела. Частота ответа на лечение (85% против 64%), частота полного патоморфологического регресса (31% против 15%), 5-летняя общая выживаемость (93% против 78%) и частота выполнения ОСО (67% против 48%) были значительно выше в группе получавших доцетаксел. Последовательное использование препаратов, не имеющих перекрестной резистентности, таких как антрациклины и таксаны, может улучшить и выживаемость.

Одновременно с этим было отмечено, что в подгруппе пациенток, не ответивших на первые два курса ПХТ, при переключении на доцетаксел частота полного патоморфологического регресса по результатам операции не превышала 2%. То есть существовала группа рефрактерных к химиотерапевтическому лечению пациенток. У таких больных переключение на режимы химиотерапии, не являвшиеся перекрестно-резистентными, не приводило к улучшению результатов. Можно ли трактовать эти результаты как руководство к действию — не менять химиотерапию при явной рефрактерности опухоли? Расценивать опухоль как химиорезистентную в принципе возможно, только если речь идет о ЭР-положительной опухоли. Для такого варианта биологического подтипа целесообразно рассматривать возможность

эндокринотерапии [105].

По данным ASCO, до 30% химиотерапевтических препаратов используются и назначаются не в соответствии с прямыми рекомендациями производителя [103]. Потенциально любые химиотерапевтические препараты, активные в отношении РМЖ, можно использовать в качестве индукционной химиотерапии.

Недавно был проведен мета-анализ пяти рандомизированных клинических исследований с участием пациенток с ранним/операбельным РМЖ. Неoadьювантное использование капецитабина в сочетании с антрациклинами и/или таксанами не было ассоциировано со статистически значимым улучшением результатов лечения. Не изменилась частота полного патоморфологического регресса первичной опухоли, полного патоморфологического регресса в лимфоузлах, общий ответ на лечение и частота выполнения орган-сберегающих операций остались без изменения [106]. В действительности целесообразно использовать препараты с наиболее высокой частотой ответа на лечение. Роль таксанов в неoadьювантной химиотерапии подробно изучена и широко освещена.

Было проведено большое количество исследований второй и третьей фаз, направленных на определение роли таксанов в неoadьювантной химиотерапии. Исследования были весьма разнородны и трудно сравнимы из-за разных популяций пациенток. В исследования включались как операбельные, так и неоперабельные больные, с поражением лимфоузлов и «N0». Режимы химиотерапии также сильно различались: последовательное или одновременное применение с антрацик, различное количество циклов. Однако в целом использование таксанов в неoadьювантном режиме было сопряжено с улучшением результатов лечения по различным конечным критериям оценки [107, 108, 109, 110, 111, 112, 113]. В указанных исследованиях последовательное применение антрациклинов и доцетаксела в неoadьювантном режиме было ассоциировано с частотой общего ответа от 85 до 93% и частотой полного патоморфологического регресса от 11 до 31%. При сочетанном применении

антрациклинов и доцетаксела частота общего ответа варьировала от 68 до 93%, а частота pCR — от 8 до 16%.

В 2010 году Chen и соавторы представили данные клинического исследования эффективности безантрациклинового режима неoadъювантной химиотерапии. 107 женщин с билатеральным РМЖ получали схему химиотерапии, содержащую паклитаксел и карбоплатин. Частота клинического ответа на лечение составила 86,1%, клинический полный клинический регресс был достигнут в 32,4% случаев. У 21 пациентки был достигнут полный патоморфологический регресс (19,4%). Данное исследование представляется крайне интересным в связи с повышенным вниманием к пациенткам с билатеральным РМЖ, часто ассоциированным с BRCA-мутациями, и данными об эффективности препаратов платины при опухолях с нарушением системы гомологичной рекомбинации. Применение режимов ХТ, содержащих препараты платины, является актуальной темой исследований. По данным проведенного в 2010 году метаанализа 7 крупных исследований с общим числом пациенток более 700 [57], частота полных патоморфологических регрессов при использовании препаратов платины была значительно выше среди пациенток с трижды негативным РМЖ. Silver [9] сообщает о том, что при применении монотерапии цисплатином у 6 (21%) из 28 пациенток был достигнут полный регресс, а еще у 18 (64%) был достигнут частичный регресс. По данным исследования Liedtke [114], а также по данным Rouzier [115], при достижении полного патоморфологического регресса результаты выживаемости у больных с трижды негативным РМЖ и у больных с другими подтипами одинаковы. При сравнении результатов лечения пациенток с трижды негативными опухолями при достижении полного регресса и при сохранении остаточной опухоли оказывается, что 2-летняя безрецидивная выживаемость составляет 93,8 и 78,4% соответственно. 3-летняя безрецидивная выживаемость составляет 83,3 и 58% соответственно.

Химиотерапия оказывает свой эффект в определенные фазы клеточного цикла, вызывая арест и индуцируя апоптоз. Чем больше клеток одновременно находится в

фазе деления, тем эффективнее будет химиотерапия. Биомаркером, иллюстрирующим пролиферативную активность, служит ядерный протеин Ki-67. Однако, несмотря на широкое применение в практике и присутствие в рекомендациях, этот маркер не был оценен в проспективных исследованиях. Интегральная патоморфологическая оценка опухоли — гистологическая степень злокачественности — тесно связана и с пролиферативной активностью, так как при выставлении степени G патоморфолог оценивает количество митозов в 10 полях зрения на стандартном увеличении. Гистологическая степень злокачественности является важным самостоятельным прогностическим фактором [116]. Степень злокачественности 3 ассоциирована со значительно худшей выживаемостью, однако при этом предсказывает более высокую эффективность неoadъювантной химиотерапии [116]. Парадоксальной находкой является тот факт, что самый агрессивный — трижды негативный РМЖ — часто имеет более интенсивный ответ на химиотерапевтическое лечение по сравнению с другими фенотипами, но при этом худший показатель общей выживаемости. Это наблюдение подтверждается рядом исследований неoadъювантной терапии [114, 117, 118]. Проспективное исследование, проведенное в центре M.D. Anderson Cancer Center Техасского университета, имело цель охарактеризовать взаимоотношения между принадлежностью к молекулярному подтипу (напр., базально-подобный тип, люминальный тип или HER2-позитивный тип при помощи разделения на кластеры генетическим анализом) и чувствительностью к химиотерапии у 82 больных ранним РМЖ, получавших неoadъювантное лечение антрациклинами или таксанами [117]. Результаты показали, что частота патоморфологического полного регресса (pCR) существенно варьировала в зависимости от молекулярного подтипа РМЖ. Базально-подобный и HER2-позитивный РМЖ характеризовались наиболее частыми полными регрессами pCR (45% [95% ДИ, 24–68%] и 45% [95% ДИ, 23–68%] соответственно). При этом частота полных регрессов при люминальных опухолях была значительно ниже — 6% (95% ДИ; 1–21%).

В двух исследованиях оценивался не только первичный ответ трижды негативного РМЖ на неоадьювантную терапию, но и взаимоотношение ответа и конечного результата лечения. В Университете Северной Каролины была проспективно сформирована группа из 107 больных РМЖ, получавших неоадьювантную терапию антрациклиновыми режимами (доксорубин/циклофосфамид [АС]) [118]. Принадлежность к биологическому подтипу устанавливалась при помощи иммуногистохимического метода. В результате было установлено, что клинический ответ на антрациклин-содержащую химиотерапию был выше среди больных HER2-позитивным (70%) и базально-подобным (85%) РМЖ по сравнению с больными люминальными подтипами (47%; $P < 0,001$). И хотя частота полных регрессов pCR была выше среди больных HER2-позитивным/ЭР-негативным РМЖ (36%) и базально-подобным РМЖ (27%) по сравнению с больными люминальными подтипами (7%; $P = .01$), больные Her2-позитивным/ЭР-негативным и базально-подобным РМЖ имели худшие показатели безрецидивной и общей выживаемости ($P = .04$ и $P = .02$, соответственно).

Liedtke et al. произвели анализ проспективно сформированной базы данных, включающей 1118 больных, получавших неоадьювантную химиотерапию по поводу РМЖ стадии I-III в M.D. Anderson Cancer Center штата Техас в период с 1985 по 2004 год [114]. Все больные получили как минимум 1 цикл химиотерапии, всего 255 (23%) из них имели трижды негативный РМЖ. У 163 больных (15%) был достигнут pCR. Мультивариантный анализ показал более высокую частоту полных регрессов pCR среди больных с трижды негативным РМЖ (OR, 1.53; $P = .034$). И вновь, несмотря на более высокую частоту клинических регрессов pCR, при трижды негативном статусе отмечался худший показатель 3-летней выживаемости без прогрессирования (63% против 76% соответственно, $CP 1,86$; $P < .0001$). Частота рецидива была четко ассоциирована с наличием остаточной опухоли. Полный регресс вне зависимости от биологического подтипа был четко ассоциирован с лучшими показателями

выживаемости.

Недавно опубликованы данные исследования, проведенного в Китае. Chen и сотрудники оценивали прогностическую и предсказательную роль экспрессии топоизомеразы 2 до начала системного предоперационного лечения и после его завершения у пациенток, получающих неoadъювантную химиотерапию с антрациклинами. Было установлено, что ко-экспрессия HER2/Торо IIα четко коррелировала с частотой ответа на лечение [119]. Пациенты с гиперэкспрессией Her2neu и отсутствием гиперэкспрессии ТороIIα имели худшие показатели выживаемости. Определение активности топоизомеразы 2 представляется привлекательным способом отбора пациенток, более чувствительных к антрациклинам. Многие ученые концентрируют свое внимание на поиске биомаркеров, на основании которых можно было бы предсказывать эффективность химиотерапии, однако перечень рутинно применяемых в практике тестов расширяется медленно.

1.4. Стратегии лечения наследственного РМЖ

Как уже было описано ранее, все варианты наследственного рака молочной железы имеют отличия от спорадических форм по причине особых биологических механизмов, детерминирующих развитие злокачественной опухоли, и сами в некотором роде могут считаться отдельным биологическим подтипом. Первые данные о попытках специфических видов терапии семейного рака молочной железы датируются 80-ми годами XX века [120]. На сегодняшний день собран достаточный объем данных, указывающих на то, что носители наследственных мутаций демонстрируют особый спектр лекарственной чувствительности [7, 121]. Возможность проведения полноценного клинического анализа эффективности терапевтических

режимов при наследственном РМЖ затрудняется относительной редкостью мутаций и многообразием режимов химиотерапии. Сравнительно недавно были получены данные по эффективности неoadъювантного лечения у носителей мутации BRCA1/2. Существует лишь несколько наблюдений, описывающих спектр чувствительности/нечувствительности опухолей с мутацией CHEK2, NBS1/NBN или VLM. Неoadъювантный режим является, пожалуй, наилучшей клинической моделью, позволяющей быстро оценить эффективность режимов химиотерапии.

1.4.1. Селективная чувствительность опухолей с мутацией BRCA: гипотеза «второго удара» и гипотеза гаплонедостаточности

В 1971 году доктор Альфред Кнудсон предложил так называемую теорию «второго удара» [122] в качестве объяснения раннего начала опухолевого процесса во множестве сайтов при наследственной ретинобластоме. Он предположил, что поврежденная копия гена, находящаяся в каждой клетке, не является достаточной причиной для развития рака, поскольку мутантный ген компенсируется действием нормальной копии. «Второй удар» заключается в соматической потере нормальной копии дикого типа, что приводит к развитию злокачественной опухоли. Эта гипотеза объясняла существенно более высокие риски развития рака у носителя наследственной мутации вследствие развития соматической мутации в клетках одного из возможных сайтов по сравнению с рисками поражения обеих аллелей в одной клетке и развития рака у носителя дикого типа гена. При наследственных опухолевых синдромах у индивидов-гетерозиготов предрасположенность к развитию рака обусловлена тем, что все клетки их организма содержат нарушенную копию гена. Если вторая копия гена-супрессора, оказывающая балансирующее действие, повреждается в процессе

жизнедеятельности, появляется состояние, именуемое «потерей гетерозигонности» (ПГЗ).

Существуют несколько возможных механизмов ПГЗ. Целая хромосома, содержащая нормальный аллель, может быть потеряна в результате нарушения процесса сегрегации в процессе митоза. Другим вариантом является несбалансированный обмен генетического материала, именуемый транслокацией. При этом может произойти потеря региона хромосомы, содержащего нормальный ген. Иногда при утрате нормального гена происходит редупликация оставшейся хромосомы, содержащей мутантную копию. Нормальные копии генов могут также утрачиваться в результате нормальных процессов рекомбинации в ходе митоза, в результате точковых мутаций во втором аллеле или в результате эпигенетического подавления.

Альтернативная гипотеза предполагает, что так называемый «второй удар» не нужен и гаплонедостаточность при гетерозиготном носительстве мутации является достаточной причиной для подавления функции гена и развития опухолевого процесса [123].

Действительно, дефицит BRCA1 в опытах на мышах приводит к существенному повышению летальности у эмбрионов. Аналогичным образом считается, что недостаточность BRCA1 у человека также приводит к повышенной гибели клеток в связи с критически значимой функцией данного гена. Для того чтобы выжить при гомозиготной инактивации BRCA1, предопухолевая клетка должна иметь дополнительные генетические изменения, такие как, например, мутация гена p53. Эта концепция дополнительного «удара» по генетической структуре, впрочем, совсем не эквивалентна теории «второго удара», объясняющей ранний канцерогенез при наследственных синдромах [124]. В экспериментах было продемонстрировано, что гетерозиготная инактивация BRCA1 приводит к развитию генетической нестабильности в клетках обычного эпителия молочной железы как *in vitro*, так и *in*

vivo [125, 126]. Без сомнения, большинство опухолей с мутацией BRCA1/2 образуются в результате инактивации двух аллелей. Соматическая потеря гетерозиготности, влияющая на оставшийся аллель, является превалирующим механизмом «второго удара» при развитии РМЖ [127, 128]. Данная особенность приводит к возникновению уникального «терапевтического окна»: в то время как нормальные клетки носителя мутации сохраняют функциональную активность гена BRCA1/2, а клетки опухоли подвергаются полной инактивации системы BRCA, что приводит к развитию очень высокой чувствительности к агентам, оказывающим повреждающее действие непосредственно на ДНК [129].

Однако на практике большое число клеток опухоли РМЖ у носителей мутации BRCA1 сохраняют аллель дикого типа BRCA1. Этот аллель, по всей видимости, является функциональным. Это всё же дает основание предполагать, что потеря аллеля дикого типа BRCA1 является если уж не поздним событием в процессе туморогенеза, то не инициирующим этот процесс этапом. В данной ситуации концепция гаплонедостаточности может служить объяснением процесса туморогенеза [130].

Martins et al. [131] производили оценку статуса PTEN и наличия мутантного белка p53, а также оценку статуса аллеля дикого типа BRCA1 в гистологическом материале 55 опухолей, ассоциированных с мутацией BRCA1, и 20 опухолей спорадического РМЖ, взятых в качестве контрольной группы. Несмотря на то, что не было обнаружено обязательной последовательности событий, выяснилось, что потеря PTEN является наиболее частым первым событием, ассоциированным с формированием базально-подобного фенотипа, в то время как в большинстве люминальных опухолей в первую очередь возникает мутация TP53, а мутация PIK3CA обнаруживается редко. Также определялась внутриопухолевая гетерогенность в аспекте потери дикого типа BRCA1, повышение клеточной пролиферативной активности и амплификация центросом в нормальной эпителии молочной железы у носителей мутации BRCA1. Факт того, что значимая доля клеток опухоли при

носителем мутации BRCA1 сохраняет функциональный аллель дикого типа, имеет большое клиническое значение, поскольку новейшие агенты, изучаемые сегодня, такие как PARP-ингибиторы, оказывают свое действие в опухолевых клетках с дефицитом BRCA1 и не влияют на клетки, сохраняющие гетерозиготность.

1.4.2. Химиочувствительность РМЖ у носителей мутации BRCA1

Антрациклины — ингибиторы топоизомеразы II и препараты-ингибиторы топоизомеразы I (митоксантрон, топотекан, иринотекан) — оказывают дестабилизирующее действие на ДНК посредством нарушения взаимодействия между комплементарными основаниями и подавления работы ферментов — топоизомеразы II и I соответственно. Антрациклины также оказывают прямое генотоксическое действие за счет активации ферментов микросом клеток. Всё больше данных как *in vitro*, так и *in vivo* исследований указывают на высокую чувствительность опухолей с мутацией BRCA1 к химиотерапевтическим агентам, вызывающим двухцепочечные поломки [132, 133, 134, 135]. Примечательно, что при проведении анализа экспрессии уровня TOP2A и BRCA1, при TOP2A-позитивном и BRCA1-негативном подтипе частота достижения полного патоморфологического регресса pCR является самой высокой — 30% по сравнению с частотой полного регресса при других биологических подтипах (до 8%) [136]. На основании этого высказывается предположение, что как опухоли, ассоциированные с мутацией BRCA1, так и все базально-подобные опухоли демонстрируют высокую чувствительность к антрациклинам не только из-за дисфункции BRCA1, но и из-за наличия фенотипа с высокой экспрессией TOP2A.

Mulligan et al. [137] описали исследование по оценке транскрипционной активности генов, позволившее проспективно определить опухоли с нарушением

работы системы ответа на повреждение ДНК, чувствительные к химиотерапевтическим режимам, содержащим антрациклины/циклофосфамид. Представляется, что не все опухоли с мутацией BRCA1/2 являются чувствительными к агентам, направленно действующим на ДНК. Это предположение подтверждается наблюдениями из клинической практики. Это может объясняться тем, что не все известные мутации приводят к нарушению процессов репарации ДНК. Другой причиной может быть запуск механизмов, компенсирующих дефицит системы репарации, таких как активация иммунных реакций и лимфоцитов, нарушение процессов старения и пр. [137, 138].

Трижды-негативные опухоли с мутацией BRCA1 демонстрируют высокую чувствительность к неoadьювантной антрациклиновой химиотерапии [114, 118, 139]. В очень высоком проценте случаев достигается полный патоморфологический регресс [117, 140, 141]. Вариабельность ответа, впрочем, может отражать различия в характеристиках пациенток, отобранных в небольших ретроспективных исследованиях, а не реальные различия в чувствительности РМЖ, ассоциированного с мутациями BRCA1/2.

Препараты платины, такие как цисплатин и карбоплатин, вызывают формирование внутрипочечных и межпочечных сшивок, ковалентно связывающих ДНК, что нарушает процессы транскрипции и репликации [142]. Дефицит системы репарации делает опухоли с мутацией BRCA1 чрезвычайно чувствительными к действию препаратов платины.

В исследовании, проведенном Tutt et al. [222], при сравнении частоты ответа на препараты платины в монорежиме и доцетаксел в монорежиме при лечении метно-распространенного или метастатического РМЖ, наибольший ответ на препараты платины был зафиксирован в подгруппе пациенток — носителей мутации BRCA1 (рисунок 2).

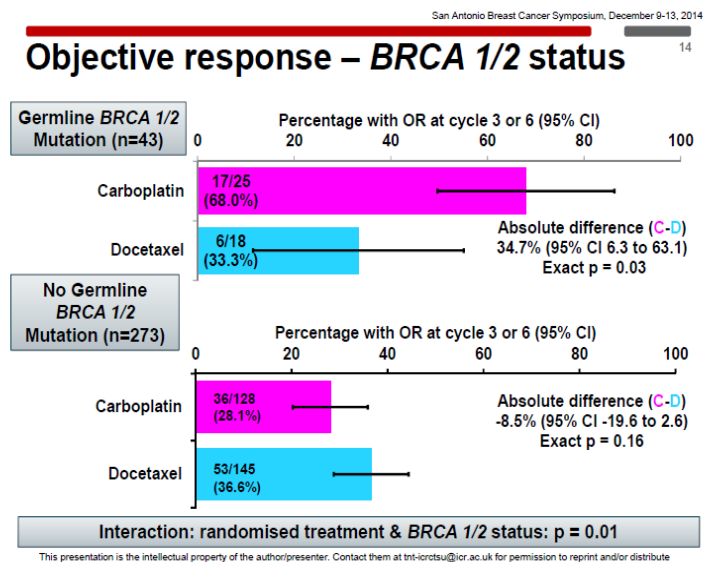


Рис. 2. На данной схеме отображена частота объективных ответов на лечение первой линии у пациенток с метастатическим или рецидивирующим местнораспространенным РМЖ. При носительстве мутации BRCA1 объективный ответ был зафиксирован у 17 из 25 пациенток (68%), а при применении монотерапии доцетакселом объективный ответ был зафиксирован лишь у 6 из 18 пациенток (33.3%). Приводимые данные подтверждают высокую чувствительность опухолей, ассоциированных с мутацией BRCA1 к препаратам платины

Имеющиеся литературные данные указывают на то, что неoadъювантное применение препарата цисплатин приводило к достижению высокой частоты полного патоморфологического регресса (до 83%) у пациенток с носительством мутации BRCA1. Однако в широко цитируемых клинических исследованиях назначение лечения проводилось без рандомизации, и больший процент пациенток, получавших препараты платины, имели опухоли стадии T1 и/или N0 [143]. В другом клиническом исследовании под руководством Silver [9] полный патоморфологический регресс был

достигнут у двух пациенток — носителей мутации BRCA1 при применении препаратов платины. В.М. Моисеенко и соавт. [144] описали клинический случай выраженного ответа на лечение у больной РМЖ носителя мутации BRCA1 после неудачной терапии первой линии с применением антрациклинов и таксанов. Также существуют наблюдения, свидетельствующие о преимуществе высокодозной химиотерапии с использованием препаратов платины в сравнении с традиционными режимами химиотерапии среди пациенток с трижды-негативным РМЖ с мутацией BRCA1 [145].

Таксаны оказывают противоопухолевый эффект через индукцию BRCA1-опосредованного апоптоза. Происходит подавление пролиферации клеток в S-фазе за счет стабилизации микротрубочек и индукции апоптоза. Таким образом, дефицит BRCA1 может приводить к формированию резистентности к доцетакселу или паклитакселу. Множественные *in vitro* исследования показали, что BRCA1-дефицитные опухоли являются относительно резистентными к терапии таксанами по сравнению с опухолями без мутации BRCA1 [135, 146]. В соответствии с этими данными пациенты с носительством мутации BRCA1 с меньшей частотой демонстрируют ответ на неoadъювантное применение доцетаксела или паклитаксела по сравнению с пациентками без мутации BRCA1 [140, 147, 148]. При лечении метастатического РМЖ пациентки с мутацией BRCA1 демонстрировали худший ответ на химиотерапию с таксанами [149].

Относительная резистентность BRCA1-мутированного РМЖ к таксанам связывалась с ролью BRCA1 в индукции апоптоза после аномального митоза [150]. Недавние исследования на модели РМЖ с мутацией BRCA1 у генетически измененных мышей позволили продемонстрировать, что в резистентности препаратов *in vivo* большую роль играет наличие систем активного транспорта химиотерапевтического препарата из клетки. В опухолях с мутацией BRCA1 и дефицитом транспортера P-gp, кодируемого геном *Mdr1*, отмечалась гиперчувствительность к доцетакселу и очень редко развивалась резистентность [151, 152].

1.4.3. Химиочувствительность СНЕК-2 ассоциированного РМЖ

Мутация в гене СНЕК2 является наиболее частой причиной наследственного РМЖ после мутаций генов BRCA1 и BRCA2, однако чувствительность СНЕК2-ассоциированного РМЖ не подвергалась систематизированному изучению ни в лабораторных условиях, ни в условиях реальной клинической практики. Учитывая важную роль СНЕК2 в активации механизмов репарации ДНК при двухцепочечных поломках и роль в координации сборки веретена митотического деления, есть резонные основания предположить, что пациентки с РМЖ, ассоциированным с мутацией СНЕК2 1100delC, будут демонстрировать повышенную чувствительность к цитостатической полихимиотерапии. Однако достаточно разрозненные и немногочисленные сообщения, основанные на клинических наблюдениях различных авторов, идут вразрез с данной гипотезой.

Как и ожидалось, подавление СНЕК2 в культуре человеческой ткани доминантно-негативной мутацией или генетической недостаточностью подавляет цисплатин-индуцированную активацию p53 и апоптоз [153]. СНЕК2-мутация, влияющая на киназную активность, вместе с мутацией TP53 указывают на активность функционального пути, ассоциированную с резистентностью к эпирубицину. Именно этим объясняется резистентность опухолей с СНЕК2-мутацией к проводившемуся лекарственному лечению в проведенном Chrisanthar исследовании [154].

Данные, полученные при изучении Роттердамской когорты, не подтверждают гипотезу о повышенной чувствительности опухолей, ассоциированных с мутацией СНЕК2, ни к антрациклин-содержащим, ни к таксан-содержащим режимам химиотерапии.

Значимые исследования в области определения чувствительности к лекарственному лечению опухолей, ассоциированных с мутацией СНЕК2, были

проведены в Голландии под руководством Kreieг [61, 133, 149]. В рамках ретроспективного исследования было генотипировано 4722 пациента из трех голландских канцер-регистров. После проведения скрининга на мутацию гена *CHEK2* 1100delC было выявлено 193 носителя мутации, контрольная группа составила 4529 человек. РМЖ у носителей мутации чаще являлся гормон-рецептор положительным (94,5% vs 80,7%). Не было отмечено существенных различий по размеру опухоли, статусу лимфоузлов, гистологической степени злокачественности и экспрессии HER2 между носителями мутации *CHEK2* 1100delC и контрольной группой.

В результате проведенного анализа результатов выживаемости авторами исследования было установлено, что безрецидивная выживаемость и общая выживаемость по заболеванию были одинаковыми в течение первых 6 лет с момента проведения лечения как для пациенток с мутацией *CHEK2* 1100delC, так и для пациенток без мутации. Однако спустя 6 лет результаты по этим показателям у пациенток с носительством мутации оказались значительно хуже.

При выполнении стратификации по проведению адъювантной химиотерапии значительная худшая выживаемость без прогрессирования ($P = 0,002$) и тенденция по худшей выживаемости по заболеванию ($P = 0,05$) были отмечены среди носителей мутации по сравнению с пациентками без мутации при проведении ПХТ. Однако в обеих группах — как в группе получавших химиотерапевтическое лечение, так и в группе не получавших химиотерапевтическое лечение, — различий по безрецидивной выживаемости в течение первых 6 лет не отмечалось. Однако после 6 лет отмечалась значительно худшая выживаемость у носителей *CHEK2* вне зависимости от проведения ПХТ.

На основании этих данных авторы делают выводы о том, что химиотерапевтическое лечение не оказывало влияние на прогрессирование заболевания и причина худших результатов лечения может быть связана с эффектами эндокринотерапии или особенностями биологии заболевания. Нам же эти данные

представляются явным свидетельством верности существовавшей гипотезы о резистентности опухолей с мутацией СNEК2 1100 delC к антрациклиновой химиотерапии.

В популяциях, включенных в исследование, преобладали ранние стадии РМЖ. 49% пациенток с мутацией имели стадию заболевания T1 в сравнении с 45% в контрольной группе. 54% пациенток в группе с мутацией не имели вовлечения лимфоузлов в сравнении с 52% в контрольной группе. 19,6% пациенток в группе носителей мутации СNEК2 получали химиотерапевтическое лечение, либо в адъювантном, либо в неоадъювантном режиме, 18,5% пациенток в контрольной группе получали химиотерапевтическое лечение.

При ранних стадиях заболевания при гормонозависимой форме РМЖ (в обеих группах преобладали ЭР-позитивные опухоли (94,5% среди носителей мутации против 80,7% в группе пациенток дикого типа)) пики рецидивов и метастазирования приходятся на период спустя 5 лет с момента постановки диагноза и проведения лечебных мероприятий. Целью адъювантного лекарственного лечения является воздействие на occultные микрометастазы, существующие уже на момент проведения всех лечебных мероприятий, поэтому прогрессирование заболевания и формирование отдаленных макрометастазов свидетельствуют о безуспешности проведенного профилактического лечения. Вне зависимости от того, проводится ли лечение на ранней стадии, когда считается возможным обойтись без проведения адъювантной химиотерапии или на более распространенной стадии заболевания, опухоли, ассоциированные с СNEК2-мутацией, демонстрируют прогностически неблагоприятную тенденцию к прогрессии. Ни хирургическое, ни системное лекарственное лечение, таким образом, не может оказать влияние на естественную историю течения опухолей данного биологического подтипа.

Более высокая частота развития контралатерального рака молочной железы у носителей мутации СNEК2 1100 delC была описана de Vock et al. [64] в 2004 году после

изучения данных исследования WECARE. WECARE — популяционное исследование «случай — контроль», сравнивающее частоту развития контралатерального и унилатерального РМЖ. В исследование включались пациентки моложе 55 лет с диагнозом раннего РМЖ без вовлечения лимфоузлов, установленным в период с 1985 по 2000 год. Группу «случай» составляли пациентки, у которых как минимум через год с момента первичного лечения был установлен диагноз инвазивного контралатерального РМЖ; группу «контроль» составляли пациентки, у которых за период проведения исследования не было диагностировано случаев контралатерального РМЖ. При проведении генотипирования была установлена значимая взаимосвязь между частотой развития контралатерального РМЖ и носительством мутации СНЕК2 при проведении адъювантной лучевой терапии по поводу первичной опухоли. В исследовании Kreige также была отмечена значительно большая частота развития контралатерального РМЖ среди носителей мутации СНЕК2 1100 delC, однако это не могло объяснить различий в показателях выживаемости, наблюдаемых в вышеупомянутом исследовании.

Ow et al. [155] сообщили о том, что мутация СНЕК2 при серозном раке яичника является значимым предсказателем худшего прогноза и ассоциирована с резистентностью к лекарственному лечению. Примечательно, что число копий и экспрессия мРНК гена СНЕК2, по всей видимости, не оказывает существенного влияния на выживаемость пациенток. Вероятно, это связано с тем, что мутация подавляет ядерный импорт протеина и приводит к формированию гаплонедостаточности.

Zhang et al. в 2005 году [156] представили данные, указывающие на то, что применение препарата цисплатин может привести к снижению уровня синтеза белка СНЕК2, что, в свою очередь, приводит к нарушению контроля клеточного цикла, предотвращает апоптоз и делает вклад в развитие резистентности. Деградация СНЕК2

может являться одним из ключевых механизмов формирования приобретенной резистентности к агентам, повреждающим ДНК.

На сегодняшний день нет достоверных данных о предсказательной роли мутации СНЕК2 при проведении неоадьювантной терапии. Представляется крайне интересным установить, подвергаются ли опухоли с мутацией СНЕК2 соматической инактивации, аналогично с опухолями с мутацией BRCA1 и BRCA2, в результате чего развивается чувствительность к повреждающим ДНК агентам.

Е. Н. Суспицын и соавт. [157] показали, что соматическая потеря копии или малые интергенные инактивирующие мутации аллеля дикого типа не характерны для опухолей РМЖ у носителей мутации СНЕК2, хотя были отмечены случаи опухолей с потерей гетерозиготности. Эти данные соответствуют материалам, полученным в результате изучения как человеческих опухолей, так и опухолей, развивающихся у мышей-гетерозиготов после выключения гена [158, 159, 160, 161]. Принимая во внимание все полученные данные, можно сделать вывод, что мутация СНЕК2 повышает риски развития РМЖ в основном посредством гаплонедостаточности. Представляется высоковероятным, что у носителей мутации СНЕК2 имеет место выраженная генетическая нестабильность, что результирует в быстром накоплении различных генетических событий — драйверов онкогенеза. Однако на сегодняшний день не определено возможностей клинического применения этих теоретических наблюдений. Вероятно, редкость инактивации так называемым «вторым ударом» при опухолях, ассоциированных с мутацией СНЕК2, определяет значимое биологическое отличие от опухолей, ассоциированных с мутацией BRCA1/2, и, вероятно, исключает возможность применения препаратов платины и ингибиторов PARP.

1.5. Обоснование проблемы и цели исследования

Наследственный рак молочной железы составляет примерно одну десятую часть от общей структуры. Мутации в генах BRCA1/2 и CHEK2 являются причиной 30% всех «семейных» случаев РМЖ. Предполагается, что наследственные формы РМЖ отличаются от спорадических вариантов по причине особых биологических механизмов, лежащих в основе туморогенеза. Эти же особенности могут определять необычный характер чувствительности к лекарственной терапии. Неoadъювантный режим применения химиотерапии является оптимальной клинической моделью, позволяющей точно оценить ответ на проводимое лечение. Тем не менее исследования эффективности лекарственного лечения с участием пациенток с носительством наследственных мутаций крайне малочисленны, а результаты могут быть противоречивыми. При проведении данной работы мы воспользовались широкой распространенностью мутаций генов BRCA1 и CHEK2 при РМЖ в России и произвели системную оценку эффективности неoadъювантной цитотоксической терапии у носителей вышеупомянутых мутаций в сравнении пациентами с РМЖ без мутации.

Цели исследования включают:

1. Выделение достаточного числа пациенток с РМЖ — носителей мутаций BRCA1 и CHEK2, получавших неoadъювантную терапию;
2. Выделение контрольной группы пациенток без наследственных мутаций, получавших неoadъювантное лечение;
3. Произвести сравнение результатов неoadъювантного лечения у пациенток с носительством мутации и у пациенток без выявленного носительства;
4. Проанализировать эффективность различных режимов — антрациклиновых и таксан-содержащих у носителей мутаций и у пациенток без мутации;
5. Изучить возможную взаимосвязь между соматической инактивацией аллеля

дикого типа и чувствительностью к лечебным схемам у пациенток с носительством мутаций.

Глава 2. Материалы и методы

2.1. Отбор пациенток

Для проведения диссертационной работы были использованы данные пациенток, проходивших лечение в условиях НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова с 2000 по 2010 год. Из 7028 пациенток, проходивших лечение в указанный период, 1688 получали неoadьювантную терапию. С целью увеличения объема популяции пациенток с мутациями рассматривались пациентки в возрасте до 50 лет. 788 пациенток соответствовали данным критериям, и у 462 из них материал опухолевой ткани в виде парафиновых блоков был получен из архива лаборатории патоморфологии. Исследование проводилось при соответствующем одобрении со стороны этического комитета СПбГПМУ.

2.2. Экстракция ДНК

Здоровые ткани, удаленные блоком при проведении хирургического вмешательства, служили источником ДНК. Экстракция производилась из фиксированных формалином, помещенных в парафин образцов при помощи метода с применением фенола-хлороформа, ранее описанного в работе [162]. Секции ткани депарафинизировались в 2 сменах 500 μ l ксилена при комнатной температуре и 1 смене 500 μ l 96% этанола, затем лизировались в течение 16 часов или в течение ночи в

буферном растворе (10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.1 mM EDTA, 2% SDS) с протеиназой К (500 µg/ml) при температуре в 60 °С. На следующий день добавлялись равный объем фенола, хлороформа и изоамилового спирта (25:24:1), перемешивание и центрифугирование. Верхняя водная фракция перемещалась в отдельную пробирку. После этого осуществлялась преципитация нуклеиновых кислот в 0,25 М ацетата натрия, 20 мг/мл гликогенного носителя и 2 объемах этанола. На следующий день раствор центрифугировался в течение 30 минут при температуре 0–5 °С. Преципитаты отмывались 70%-ным этанолом для удаления солей, после чего производилось растворение в 20 µl стерильной воды. Наконец, образец разводился в соотношении 1:10 для снижения концентрации веществ, ингибирующих ПЦР. В случае, если результат ПЦР был неудовлетворительным при достаточном объеме ДНК, добавлялся щелочной материал Chelex-100 до 5%, после чего производилось нагревание до 100 °С в течение 10 минут [162, 163].

2.3. Генотипирование для поиска фаундер-мутаций в генах, ассоциированных с риском РМЖ

Генотипирование наиболее часто встречающихся в российской популяции мутаций в генах BRCA1 и CHEK2 (таблица 9) выполнялось при помощи аллель-специфичной ПЦР. В каждой реакции использовались приблизительно 20 нг геномической ДНК, 1 единица температурно-активируемой Taq (термостабильной)-ДНК-полимеразы, 1 буфер ПЦР (pH 8.3), 1,5 mM MgCl₂, 200 µM dNTP (нуклеозидные трифосфаты с дезоксирибозой), 0.5 µM каждого праймера и 0,2 красителя SYBR Зеленого 1, окрашивающего нуклеиновые кислоты в конечном объеме 20 µl. ПЦР-амплификация и обнаружение конечного продукта производились при помощи

аппарата CFX96 Real-Time System: C1000 Thermal Cycler (Bio-Rad) bkb DT-96 DNA-Technology (DNA Technology). Для каждого цикла добавлялся контроль в виде образцов дикого типа и образцов мутантной ДНК. Последовательность праймеров и условия проведения ПЦР изложены в таблице 10. Пример обнаружения мутаций CHEK2 представлен на схеме 3 (рис. 3).

Таблица 9

Список определявшихся фаундер-мутаций, их локализация и последовательность

Ген	Мутация	Экзон	Тип мутации	Статус белка	Домен
BRCA1	185delAG	2	Смещение рамки считывания	трункирующий	Цинкосодержащая пальцеобразная область
BRCA1	4153delA	11	Смещение рамки считывания	трункирующий	Комплекс экзонов 11–13
BRCA1	5382 insC	20	Смещение рамки считывания	трункирующий	BRCT
CHEK2	IVS2+1G>A	3	Замена, Смещение рамки считывания	трункирующий	Сплайс-сайт экзона 2
CHEK2	del5395	9 + 10	Делеция	трункирующий	Киназа
CHEK2	1100insC	10	Смещение рамки считывания	трункирующий	Киназа

Таблица 10

Последовательность праймеров и условия ПЦР для обнаружения 6 фаундер-мутаций в генах BRCA1 и CHEK2

мутация	Праймер	5'-3' последовательность		Длина продукта
BRCA1 5382insC	Дик. тип	CAAAGCGCAAGAGAATCCCAG		101 bp
	Мутация	CAAAGCGAGCAAGAGAATCCCCA		
	Общий	TCTGCAAAGGGGAGTGGAATACA		
Условия ПЦР (50 циклов)				
Темп [°C]	95	68	72	
время [сек]	15	30	30	
мутация	праймер	5'-3' последовательность		Длина продукта
BRCA1 4153delA	Дик. тип	AGCCCGTTCCTCTTTCTTC		134 bp
	Мутация	AGCCCGTTCCTCTTTCTCA		
	Общий	GACTGCAAATACA AACACCCA		
Условия ПЦР (50 циклов)				
Темп [°C]	95	62	72	
время [сек]	15	30	30	
мутация	праймер	5'-3' последовательность		Длина продукта
BRCA1 185delAG	Дик. тип	GCTATGCAGAAAATCTTAGAGTGTCC		173 bp
	Мутация	ATGCTATGCAGAAAATCTTAGTGTCC		
	Общий	CAGTTAAGGAAATCAGCAATTACAATAGC		
Условия ПЦР (50 циклов)				
Темп [°C]	95	69	72	
время [сек]	15	30	30	
мутация	праймер	5'-3' последовательность		Длина продукта
CHEK2 1100delC	Дик. тип	TTGGAGTGCCCAAATCAGT		120 bp
	Мутация	CTTGGAGTGCCCAAATCAT		
	Общий	CTGATCTAGCCTACGTGTCT		
Условия ПЦР (50 циклов)				
Темп [°C]	95	62	72	
время [сек]	15	30	30	
мутация	праймер	5'-3' последовательность		Длина продукта
CHEK2 IVS2+1G>A	Дик. тип	ACACTTTCGGATTTTCAGGG		114 bp
	Мутация	ACACTTTCGGATTTTCAGGA		
	Общий	CAGACTTTGAATAGCAGAGA		
Условия ПЦР (50 циклов)				
Темп [°C]	95	60	72	
время [сек]	15	30	30	

мутация	праймер	5'-3' последовательность		Длина продукта
СНЕК2 5395del	Дик. тип	ATGGCGTAAGATTTGCATATA		139 bp
	Мутация	CATGTTGGCCAGGTTTGAG		
	Общий	TGGGAAGTCAAGGCTGTAAT		
Условия ПЦР (50 циклов)				
Темп [°C]	95	62	72	
время [сек]	15	30	30	

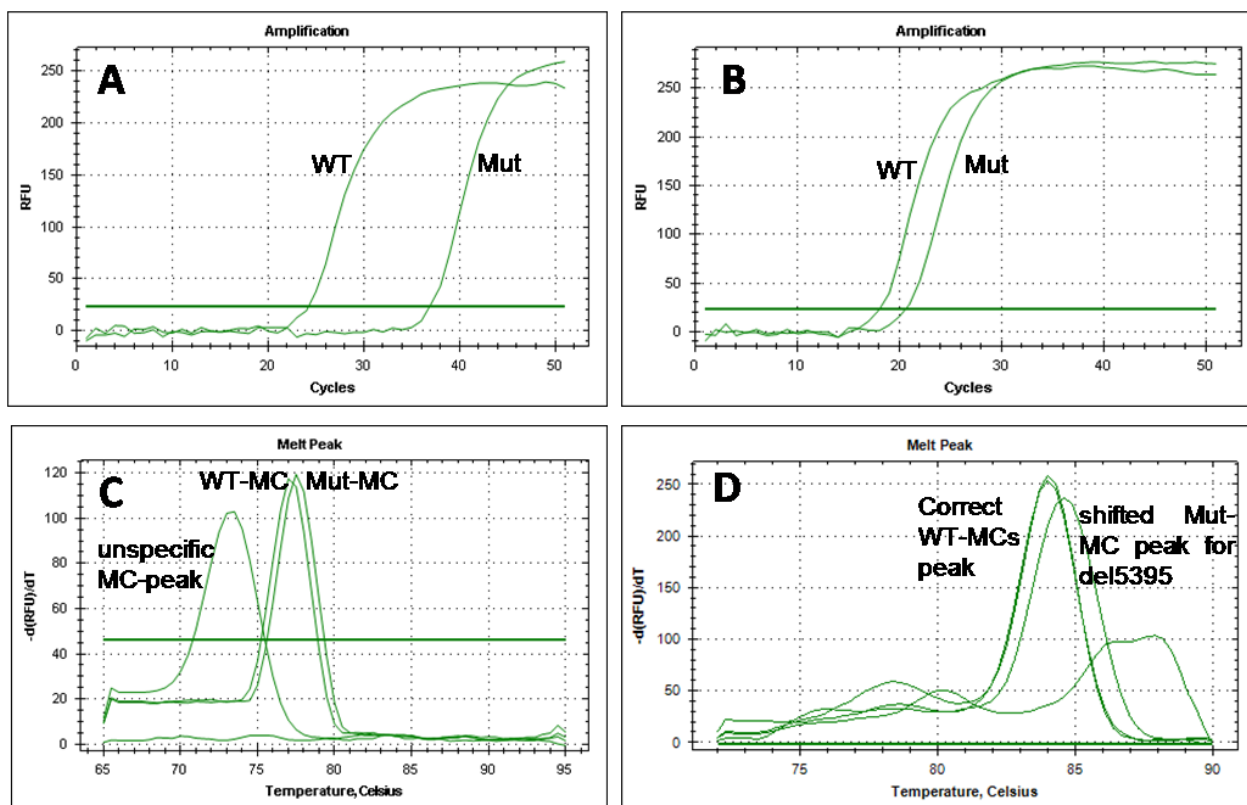


Рис. 3. Примеры обнаружения мутации СНЕК2 при помощи аллель-специфичной ПЦР

У носителей мутации СНЕК2 1100delC различия в пороговых значениях в циклах для интактных и мутантных аллелей всегда были незначительными (B), в то время как у пациенток без мутации амплификация с праймером дикого типа очевидно превосходит амплификацию со специфичной к мутации олигонуклеотидной последовательностью (A). Кривые расплавления были проверены на предмет амплификации желаемого фрагмента: СНЕК2 1100delC (C), СНЕК2 del5395 (D).

2.4. Исследование потери гетерозиготности (LOH)

Соматическая потеря гетерозиготности (LOH) в опухолевой ткани определялась при помощи аллель-специфичной ПЦР, как было описано в работе [157]. Кратко суть метода состоит в определении соотношения между количеством мутантного аллеля и аллеля дикого типа в исследуемом образце опухоли и в нормальной ткани (из здоровой ткани в хирургических образцах или из крови).

2.5. Оценка ответа на неоадьювантную терапию

Для проведения оптимальной оценки лечебного эффекта было произведено стадирование опухоли на этапе до начала лечения в соответствии с последней версией классификации TNM UICC на основании данных архивных историй болезни (клинический размер опухолевого узла, данные маммографии, данные УЗИ-исследования).

Наименьшие размеры, по данным обследования, были использованы для стадирования (в соответствии с рекомендациями UICC). Оценка лечебного эффекта производилась после общего завершения неоадьювантной терапии. Для оценки лечебного эффекта была использована модифицированная версия критериев RECIST 1.0 (<http://www.recist.com/recist-comparative/index.html>) (

Таблица 11).

Клиническая оценка лечебного эффекта, установленная лечащим врачом, принималась во внимание, однако производился пересмотр ответа на основании архивных данных объективной оценки (маммография, УЗИ, КТ). Наибольшие размеры

опухолевых очагов по данным маммографии, УЗИ и клинического осмотра/пальпации были сравнены с соответствующими размерами по завершении неoadьювантной терапии.

Таблица 11

Варианты ответа на проводимое лечение RECIST 1.0

Тип ответа	Определение
Полный регресс (ПР)	Полное исчезновение всех ранее регистрировавшихся очагов при отсутствии вновь появившихся очагов (размеры патологически измененных лимфатических узлов по короткой оси должны уменьшиться не менее чем на 10 мм)
Частичный регресс (ЧР)	Уменьшение суммарного диаметра целевых очагов более чем на 30% при отсутствии признаков прогрессирования по неизмеримым очагам и новых очагов либо полный регресс измеримых очагов при сохраняющихся без прогрессирования неизмеримых очагах
Прогрессирование заболевания (ПЗ)	Появление новых очагов либо увеличение суммарного диаметра наиболее крупных из измеримых очагов на 20% от минимального их размера за время исследования, либо значительное прогрессирование неизмеримых очагов
Стабилизация заболевания (СЗ)	Все ответы на лечение, не соответствующие ранее перечисленным критериям

Клинический ответ на проведенное неoadьювантное лечение сравнивался с результатом патоморфологического исследования операционного материала. На

основании данных патоморфологического заключения выполнялось стадирование по действующей системе pTNM UICC. Если по результатам стадирования pTNM стадия заболевания оказывалась выше, чем изначальная клиническая стадия cTNM, результат расценивался как случай неэффективности химиотерапевтического лечения, так как снижение стадии заболевания не было достигнуто. При наличии остаточной опухоли производилась оценка значимости резидуальной опухолевой нагрузки (RCB). Для расчета остаточной опухолевой нагрузки использовались данные патоморфологического заключения. Для внедрения параметра клеточности использовалось среднее значение клеточности для соответствующей стадии лечебного патоморфоза по системе Miller-Rayne. При высокой степени опухолевой нагрузки (явно относимой к классу 3) результат оценивался как случай неэффективности неoadьювантного лечения. Во всех остальных случаях результат оценивался как ответ на лечение. Случай расценивался как полный патоморфологический регресс (pCR) при отсутствии опухолевой ткани, как в молочной железе, так и в регионарных лимфоузлах по результатам хирургического лечения.

2.6. Статистический анализ

Статистический анализ полученных данных производился с использованием пакета программного обеспечения SPSS 10. Взаимоотношение между ответом на неoadьювантную терапию и различными клиническими и биологическими параметрами (возраст, стадия заболевания, гистологическая степень злокачественности, вовлеченность лимфатических узлов, статус рецепторов стероидных гормонов, носительство наследственных мутаций), а также эффективность различных режимов химиотерапии у носителей мутации и пациенток без выявленной

мутации были проанализированы при помощи двустороннего критерия хи-квадрат. При сравнении малых групп пациенток вместо этого использовался точный тест Фишера. Значение p менее 0,5 считалось статистически значимым для всех тестов.

Глава 3. Результаты

3.1. Частота фаундер-мутаций и характеристики опухолей, ассоциированных с мутацией

Генотипирование 6 фаундер-мутаций (BRCA1 5382insC [c.5266dupC], BRCA1 4153delA [c.4034delA], BRCA1 185delAG [c.68_69delAG]), CHEK2 (1100delC [c.1100delC], CHEK2 del5395 [del ex9-10], и CHEK2 IVS2+1G>A [c.444+1G>A]) было успешным у 415 пациенток. Также были учтены результаты, ранее полученные при полном секвенировании BRCA1 некоторых образцов [43].

Мутация BRCA1 была обнаружена у 19 (4,6%) женщин, и у 7 (1,9%) пациенток была выявлена мутация гена CHEK2. Детальное описание характеристик случаев с носительством мутаций и их сравнение с опухолями без мутации BRCA1 и CHEK2 представлены в таблицах 12 и 13.

Как и ожидалось, опухоли с мутацией BRCA значительно чаще являлись ЭР-негативными (86,7% против 39,4%, $p = 0,0006$) или трижды негативными (80,0% vs. 25,8%, $p = 0,0001$) в сравнении со случаями РМЖ у пациенток без носительства мутации. В то время как рецепторный статус опухолей, ассоциированных с CHEK2-мутацией, и опухолей дикого типа были одинаковыми.

Таблица 12

Клинические характеристики опухолей у пациенток с носительством мутаций *BRCA1* и *CHEK2* ers

#	ID	Мутация	Возраст	TNM	Статус рецепторов	Схема НАПХТ	Клинический ответ	pCR	Ткань для тестирования на потерю гетерозиготности	Статус аллеля дикого типа в ткани опухоли
<i>Носители мутации BRCA1</i>										
1	157	<i>BRCA1</i> 4153delA	34	T1N3M0	ER+/PR+/HER2+	TAC	PR	Нет	Мат. биопсии	Потеря
2	160	<i>BRCA1</i> 5382insC	39	T4N2M0	ER-/PR-/HER2-	FAC, доцетаксел	SD (после FAC), PD (после доцетаксела)	Нет	Хирургич. материал	Потеря
3	204	<i>BRCA1</i> 5382insC	46	T2N1M0	ER-/PR-/HER2-	TAC	PD	Нет	Хирургич. материал	Потеря
4	117	<i>BRCA1</i> 5382insC	27	T2N2M0	ER-/PR-/HER2-	FAC	PR	Нет	Хирургич. материал	Сохранен
5	150	<i>BRCA1</i> 5382insC	37	T3N1M0	ER-/PR-/HER2-	TAC	PR	Нет	Хирургич. материал	Сохранен
6	128	<i>BRCA1</i> 5382insC	31	T2N2M0	ER-/PR-/HER2-	FEC	PR	Нет	Хирургич. материал	Сохранен
7	307	<i>BRCA1</i> 5382insC	49	T2N2M0	ER-/PR-/HER2-	FEC	PR	Да	Мат. биопсии	Сохранен
8	88	<i>BRCA1</i> 5382insC	46	T1N2M0	ER-/PR-/HER2-	FAC+RT	SD	Нет	Хирургич. материал	Сохранен

9	372	<i>BRCA1</i> 5382insC	47	T4N2M0	ER-/PR-/HER2-	FAC	PR	Нет	Хирургич. материал	Сохранен
10	116	<i>BRCA1</i> 5382insC	43	T2N1M0	ER-/PR-/HER2-	FAC	CR	Да	Мат. биопсии	Сохранен
11	147	<i>BRCA1</i> R1699W	30	T3N2M0	ER-/PR-/HER2-	FEC, TAC	SD (после FEC), PD (после TAC)	Нет	НД	НД
12	333	<i>BRCA1</i> 5382insC	39	T2N1M0	nd	FAC	PR	Да	НД	НД
13	407	<i>BRCA1</i> 5382insC	36	T4N2M0	nd	FEC	PR	Да	НД	НД
14	178	<i>BRCA1</i> 5382insC	50	T2N2M0	ER-/PR-/HER2-	FAC	CR	Да	НД	НД
15	68	<i>BRCA1</i> 5382insC	44	T2N1M0	nd	CMF	SD	Да	НД	НД
16	431	<i>BRCA1</i> 5382insC	40	T2N1M0	nd	CMF	PR	Нет	НД	НД
17	27	<i>BRCA1</i> 185delAG	49	T3N0M0	ER+/PR+/HER2-	CMF	PR	Нет	НД	НД
18	223	<i>BRCA1</i> 5382insC	43	T2N1M0	ER-/PR+/HER2-	AT, CMF	PR (после AT), PR (после CMF)	Нет	НД	НД
19	43	<i>BRCA1</i> 4153delA	47	T2N2M0	ER-/PR-/HER2-	Винорельбин +AC	PR	Нет	НД	НД
<i>CHEK2</i> carriers										
1	161	<i>CHEK2</i> ex9-10 del	45	T4N1M0	ER+/PR+/HER2-	FEC+лучевая терапия	PR	Нет	Хирургич. материал	Потерян
2	153	<i>CHEK2</i> 1100delC	47	T4N2M0	ER+/PR-/HER2-	FEC, доцетаксел	SD (после FEC), PR (после доцетаксела)	Нет	Хирургич. материал	Сохранен
3	44	<i>CHEK2</i> ex9-10 del	35	T4N2M0	ER+/PR+/HER2-	FAC	SD	Нет	Хирургич. материал	Сохранен
4	65	<i>CHEK2</i> ex9-10 del	40	T4N0M0	ER-/PR-/HER2+	FAC	SD	Нет	Хирургич. материал	Сохранен
5	240	<i>CHEK2</i> ex9-10 del	48	T2N2M0	ER-/PR-/HER2-	FEC, доцетаксел	SD после FEC), PR (после доцетаксела)	Нет	Хирургич. материал	Сохранен

6	59	<i>CHEK2</i> ivs2+1G>A	49	T2N1M0	ER+/PR-/HER2-	FAC	PD	Нет	Хирургич. материал	Сохранен
7	162	<i>CHEK2</i> ivs2+1G>A	36	T4N1M0	ER+/PR+/HER2-	TAC	SD	Нет	Недоступен	НД

Клинические характеристики пациенток с носительством мутаций *BRCA1* и *CHEK2* и пациенток без мутаций

	Носительницы мутации <i>BRCA1</i>	Носители мутации <i>CHEK2</i>	Пациентки без носительства мутаций	В общем в исследовании
Число пациенток	19	7	388	415
Возраст (лет)				
Среднее значение	40,9	41,6	43,1	4,9
Диапазон	27–50	33–49	23–50	23–50
Стадия опухоли				
T1	2 (10,5%)	0 (0,0%)	8 (2,1%)	10 (2,4%)
T2	11 (57,9%)	2 (28,6%)	130 (33,5%)	144 (34,7%)
T3	3 (15,8%)	0 (0,0%)	105 (27,1%)	108 (26,0%)
T4	3 (15,8%)	5 (71,4%)	144 (37,1%)	152 (36,6%)
Tx	0 (0,0%)	0 (0,0%)	1 (0,3%)	1 (0,2%)
Статус лимфоузлов				
N0	1 (5,3%)	1 (14,33%)	32 (8,2%)	34 (8,2%)
N1	7 (36,8%)	1 (14,33%)	183 (47,2%)	192 (46,3%)
N2	10 (52,6%)	4 (57,1%)	160 (41,2%)	174 (41,9%)
N3	1 (5,3%)	1 (14,33%)	13 (3,4%)	15 (3,6%)
Стадия				
I	0 (0,0%)	0 (0,0%)	2 (0,5%)	2 (0,5%)
II	7 (36,8%)	1 (14,3%)	86 (22,2%)	94 (22,6%)
III	12 (63,2%)	5 (71,4%)	291 (75,0%)	309 (74,5%)
IV	0 (0,0%)	1 (14,3%)	9 (2,3%)	10 (2,4%)
Статус ЭР				
Позитивные	2 (13,3%)	5 (71,4%)	132 (60,6%)	140 (58,1%)
Отрицательные	13 (86,7%)	2 (28,6%)	86 (39,4%)	101 (41,9%)
Неизв.	4	0	170	174
Статус ПР				
Позитивные	3 (20,0%)	3 (42,9%)	117 (53,7%)	123 (51,0%)
Отрицательные	12 (80,0%)	4 (57,1%)	101 (46,3%)	118 (49,0%)
Неизв.	4	0	170	174
Трижды негативн.				
Нет	3 (20,0%)	6 (85,7%)	161 (74,2%)	171 (71,3%)
Да	12 (80,0%)	1 (14,3%)	56 (25,8%)	69 (28,8%)
Неизв.	4	0	171	175
Гистологич. тип				
Протоковая	12 (92,3%)	7 (100%)	151 (85,3%)	170 (86,3%)
Дольковая	0 (0,0%)	0 (0,0%)	13 (7,3%)	13 (6,6%)
Другой ^a	1 (7,7%)	0 (0,0%)	13 (7,3%)	14 (7,1%)
Неизв.	6	0	211	218

Гистологическая степень злокачественности				
G1	0 (0,0%)	0 (0,0%)	17 (13,2%)	17 (12,1%)
G2	2 (33,3%)	1 (33,3%)	65 (50,4%)	69 (49,3%)
G3	4 (66,7%)	3 (66,6%)	47 (36,4%)	54 (38,6%)
Не определена	13	3	259	275

Примечание - ⁸Муцинозная, медуллярная, тубулярная, комедо-карцинома

3.2. Распределение схем неoadьювантной терапии

При проведении лечения использовались различные режимы химиотерапии. Для проведения анализа режимы были разделены на «антрациклиновые» — схемы, содержащие антрациклиновые антибиотики без использования таксанов («А»), режимы, содержащие таксаны или другие препараты, воздействующие на микротрубочки (сочетающиеся с антрациклинами, либо примененные после антрациклинов, либо не содержащие антрациклины) («Т») и все прочие режимы (таблица 14). Большинство пациенток (260/415, 63%) получали антрациклиновую терапию, 122 пациентки (29%) получали терапию таксан-содержащими режимами и 33 (8%) — другие режимы. Среди пациенток группы антрациклиновой терапии «А» наиболее частым режимом химиотерапии был режим FAC (5-фторурацил, доксорубицин, циклофосфамид), который получали 208 пациенток, и режим FEC (5-фторурацил, эпирубицин, циклофосфамид) — 45 пациенток. В группе «Т» наиболее часто использованным режимом была схема TAC (доксорубицин, циклофосфамид, доцетаксел). Среди прочих схем, не содержащих антрациклины и/или таксаны, превалировала схема CMF (циклофосфамид, доксорубицин, 5-фторурацил). Число циклов терапии варьировало, и большинство пациенток получили от 2 до 6 циклов.

В подгруппе «А», полный патоморфологический регресс был достигнут в 33 случаях (12,7%) снижение стадии заболевания и частичный регресс были достигнуты в 196 случаях (75,4%). Стабилизация заболевания была достигнута в 30 случаях (11,5%) и в 1 случае было зафиксировано клиническое прогрессирование на фоне проводимого лечения (0,4%). Среди пациенток, получавших таксан-содержащие режимы, полный регресс был достигнут в 16 случаях (14,3%), частичный регресс со снижением стадии заболевания был достигнут у 92

пациенток (84,1%), стабилизация заболевания была достигнута в 12 случаях (10,7%), а в двух случаях наблюдалось прогрессирование заболевания (1,8%).

Таблица 14

Режимы неоадьювантной химиотерапии

Группа	Схема ХТ	Описание режима
«А» (режимы, содержащие антрациклины без применения таксанов)	FAC	5-фторурацил 500 мг/м ² в\в., в день 1 Доксорубин 50 мг/м ² в\в., в день 1 Циклофосфамид 500 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
	FEC	5-фторурацил 500 мг/м ² в\в., в день 1 Эпирубин 100 мг/м ² в\в., в день 1 Циклофосфамид 500 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
	AC	Доксорубин 60 мг/м ² в\в., в день 1 Циклофосфамид 600 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
	EC	Эпирубин 75 мг/м ² в\в., в день 1 Циклофосфамид 600 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
	CAMF	Циклофосфамид 600 мг/м ² в/в в день 1, 8 Метотрексат 40 мг/м ² в/в., день 1, 8 Доксорубин 50 мг/м ² в\в., в день 1 5-фторурацил 500 мг/м ² в\в., в день 1; 1 раз в 28 дней
«Г» (таксан-содержащие режимы или режимы, содержащие химиотерапевтические препараты, воздействующие на микротрубочки)	TAC	Доксорубин 50 мг/м ² в\в., в день 1 Циклофосфамид 500 мг/м ² в/в., в день 1 Доцетаксел 75 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
	TEC	Эпирубин 75 мг/м ² в\в., в день 1 Циклофосфамид 500 мг/м ² в/в., в день 1 Доцетаксел 75 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
	ET	Эпирубин 100 мг/м ² в\в., в день 1 Доцетаксел 75 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
	AT	Доксорубин 50 мг/м ² в\в., в день 1 Доцетаксел 75 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день или Доксорубин 50 мг/м ² в\в., в день 1 Паклитаксел 175 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
	TC	Циклофосфамид 600 мг/м ² в/в., в день 1 Доцетаксел 75 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
	Винорельбин + AC	Винорельбин 25 мг/м ² в/в., в день 1,8 Доксорубин 50 мг/м ² в\в., в день 1 Циклофосфамид 500 мг/м ² в/в., в день 1 1 раз в 21 день
	Винорельбин + паклитаксел	Винорельбин 30 мг/м ² в/в., в день 1,8 Паклитаксел 175 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
	Винорельбин + TC	Винорельбин 25 мг/м ² в/в., в день 1,8 Циклофосфамид 500 мг/м ² в/в., в день 1 Доцетаксел 75 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 28 дней
	ТСЬР	Карбоплатин АUC 6 в/в., в день 1 Паклитаксел 175 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день
	Паклитаксел	Паклитаксел 175 мг/м ² в/в., в день 1; 1 раз в 21 день или Паклитаксел 80 мг/м ² в день 1, еженедельно

	Доцетаксел	Доцетаксел 100 мг/м ² в/в., день 1 ; 1 раз в 21 день
«Прочие режимы»	CMF	Циклофосфамид 600 мг/м ² в/в., в день 1, 8 Метотрексат 40 мг/м ² в/в., в день 1, 8 5-фторурацил 600 мг/м ² в/в., в день 1, 8; 1 раз в 28 дней
	Винорельбин + капецитабин	Капецитабин 1000 мг/м ² перорально., дважды в день, день 1-14 Винорельбин 25 мг/м ² в/в., день 1, 8; 1 раз в 21 день
	Винорельбин + 5- фторурацил	Фторурацил 500 мг/м ² в/в., день 1 Винорельбин 25 мг/м ² в/в., день 1, 8; 1 раз в 21 день
	Капецитабин	Капецитабин 1250 мг/м ² пер орально, дважды в день, день 1-14

3.3. Неoadьювантная терапия у пациенток с носительством мутации BRCA1

Мутация BRCA1 была обнаружена у 19 пациенток. Три из 19 (15,8%) пациенток получали неoadьювантную химиотерапию по схеме CMF. У одной пациентки с опухолью стадии IIb и небольшим размером первичной опухоли, получавшей схему CMF, был достигнут полный клинический и патоморфологический регресс после 2 курсов неoadьювантной химиотерапии. Девять из 19 (47,4%) пациенток с мутацией BRCA1 получали антрациклин-содержащие режимы, а 7 из 19 (36,8%) — режимы химиотерапии, содержащие антрациклины и таксаны.

Среди пациенток с мутацией BRCA1, получавших антрациклин-содержащие режимы, полный патоморфологический регресс был достигнут в 5 случаях (55,6%), частичный регресс был достигнут в 4 случаях (44,4%). Ни у одной пациентки не наблюдалось прогрессирование заболевания на фоне проводимого лечения. Также не было отмечено случаев стабилизации процесса. Семь пациенток получали антрациклины и таксаны одновременно или последовательно. Ни в одном случае не был достигнут полный патоморфологический регресс. У 5 пациенток (71,4%) был достигнут частичный регресс, у 1 пациентки в результате проводимого лечения

была отмечена стабилизация заболевания (14,3%), и у 1 пациентки имело место прогрессирование на фоне лечения (14,3%). У пациентки с развившимся прогрессированием на момент инициации лечения заболевание было отнесено к IIIb стадии; после 6 циклов антрациклин-содержащей химиотерапии была зафиксирована стабилизация. После смены линии химиотерапии и проведения 2 циклов монокимиотерапии доцетакселом, первичная опухоль резко увеличилась в размерах, сформировав опухолевую язву. При исследовании опухолевого материала после проведения санитарной операции была отмечена низкая степень лечебного патоморфоза (1 ст. по Miller-Payne), высокая резидуальная опухолевая нагрузка: высокая клеточность, опухолевый узел 10 см в наибольшем измерении, 7 лимфоузлов с метастатическим поражением.

3.4. Неoadьювантная терапия у пациенток с носительством мутации СНЕК2

4 из 7 пациенток (57,14%) с носительством мутации СНЕК2 получали антрациклин-содержащие режимы химиотерапии, 3 (43,86%) получали антрациклины и таксаны. Ни у одной из пациенток с носительством мутации СНЕК2 по результатам проведения неoadьювантной химиотерапии с использованием режимов, содержащих в основе антрациклиновые антибиотики, не был достигнут частичный регресс, клинический ответ был расценен как стабилизация, а у 1 пациентки (25%) имело место прогрессирование на фоне проводимого лечения.

Частота общего ответа на лечение с применением таксан-содержащих режимов ХТ составила 66,7% (2/3): у двух пациенток был отмечен частичный регресс, а у одной — стабилизация. При проведении НАПХТ с использованием

антрациклинов и таксанов также не было отмечено случаев достижения полного патоморфологического регресса.

3.5. Связь ответа на проводимое лечение с носительством мутации генов BRCA1, CHEK2 и другими клиническими характеристиками пациенток

Оценка эффективности неoadъювантной химиотерапии базируется на частоте достижения полного патоморфологического регресса (pCR), поскольку именно этот показатель является наиболее изученным прогностическим фактором. Пациентки, не имеющие резидуальной опухолевой ткани, имеют значительно бóльшие шансы излечения от РМЖ [164].

Эта связь настолько хорошо продемонстрирована, что многие новые лекарственные препараты в первую очередь тестируются в неoadъювантном режиме. Между тем единое определение полного регресса или четкую характеристику остаточной опухоли достаточно сложно найти. В различных исследованиях единичные опухолевые клетки или микрофокусы рака, наличие метастазов или микрометастазов в лимфоузлах и остаточная дуктальная карцинома *in situ* интерпретируются по-разному. При исчезновении первичной опухоли число пораженных подмышечных лимфоузлов обратно пропорционально связано с показателем выживаемости. При этом пациенты, у которых отмечается регресс пораженных лимфоузлов под действием неoadъювантной химиотерапии, имеют очень хорошую выживаемость [165]. Следовательно, именно комбинированная оценка размера остаточной опухоли и оценка лимфоузлов обладает прогностическим значением [166]. Широко используемая система Miller-Payne не учитывает сочетание размера опухоли и статуса лимфоузлов, измеряя только клеточность опухоли по завершении неoadъювантного лечения.

По данным, полученным в результате изучения популяции исследования, удалось установить, что повышение вероятности достижения полного патоморфологического регресса было ассоциировано с отрицательным статусом рецепторов стероидных гормонов или трижды-негативным подтипом. Наличие мутации BRCA1 и первичной опухоли стадии (T1-T2) также было ассоциировано с повышением вероятности достижения полного патоморфологического регресса ($p = 0,092$). В частности, у 6 из 19 (31,6%) пациенток с носительством мутации BRCA1 был достигнут полный патоморфологический регресс (pCR) по сравнению с 46/388 (11,9%) пациенток без носительства мутации ($p = 0,024$). При проведении отдельного анализа популяции пациенток с трижды-негативным РМЖ полный патоморфологический регресс был достигнут у 3 из 12 (25%) пациенток с носительством BRCA1 и у 12 из 56 пациенток с трижды-негативным РМЖ дикого типа (21,4%) ($p = 0,719$). Среди опухолей с позитивным статусом рецепторов стероидных гормонов при носительстве мутации BRCA1 частота pCR составила 0/3 (0%) и 12 из 161 (7,5%) при диком типе. Ни у одной из 7 пациенток с носительством мутации CHEK2 не был достигнут полный патоморфологический регресс.

Прогностическое значение достижения полного патоморфологического регресса остается несомненным, однако может не полностью отражать биологию ответа опухолевого процесса на проводимое лекарственное лечение. Параметры, оказывающие влияние на вероятность достижения полного патоморфологического регресса, включают изначальный объем опухолевой массы на момент инициации лечения, число курсов цитостатической химиотерапии и пр. Помимо оценки частоты достижения полного патоморфологического регресса, нами также была произведена оценка клинического эффекта лечения при помощи широко применяемых критериев RECIST (таблица 16). Частота общего ответа на лечение (частота достижения частичного регресса + частота достижения полного клинического регресса) среди пациенток с носительством мутации CHEK2

составила 4/7 (57,14%), среди пациенток без носительства мутации — 333/388 (85,5%), среди пациенток с носительством мутации BRCA1 — 14/19 (73,7%; $p = 0,375$).

Также была проведена оценка взаимосвязи наличия генетической мутации и реакции на проводимую цитостатическую терапию (таблица 17). При опухолях, ассоциированных с носительством мутации BRCA1, отмечалась значительно более высокая частота достижения полного патоморфологического регресса при проведении полихимиотерапии с применением антрациклинов, нежели у пациенток без носительства мутации. Полный патоморфологический регресс был достигнут у 5 из 9 пациенток с носительством мутации BRCA1 при терапии антрациклинами без применения таксанов (55,6%) и лишь у 28 из 247 (11,3%, $p = 0,002$) пациенток дикого типа, получавших соответствующие режимы.

При этом носительство мутации BRCA1 оказывало негативное влияние на эффективность таксан-содержащих режимов. Полный патоморфологический регресс (pCR) не был достигнут ни у одной пациентки с носительством BRCA1, получавшей антрациклины и таксаны — 0/7 (0%), а в группе пациенток без носительства мутации частота достижения полного патоморфологического регресса составила 13,1% — 16/112 ($p = 0,592$). Частота достижения объективного ответа на лечение среди пациенток с носительством мутации BRCA1 при применении схем с антрациклинами и таксанами составила 4/7 (57,1%), в сравнении с 101/112 (90,2%) среди пациенток без носительства мутации ($p = 0,035$).

Обратная тенденция была обнаружена для СНЕК2-ассоциированного РМЖ. Ни у одной из 4 пациенток, получавших антрациклиновую химиотерапию, не был достигнут полный патоморфологический регресс. Лишь в одном случае имел место частичный регресс в результате проводимого лекарственного лечения ($p = 0,008$); однако при проведении терапии таксанами у 2 из 3 пациенток (66,7%) был зафиксирован частичный регресс ($p = 0,284$).

3.6. Анализ частоты инактивации аллеля дикого типа при опухолях с мутацией BRCA1 и CHEK2

Чувствительность к лекарственному лечению опухолей, относимых к семейному раку молочной железы, зависит от соматического статуса второго аллеля мутантного гена в самой ткани опухоли. Например, при РМЖ, ассоциированным с мутацией BRCA1, инактивация оставшегося аллеля гена BRCA1 может приводить к формированию выраженной чувствительности к различным агентам, оказывающим повреждающее действие на ДНК. При этом сохранение функции BRCA1 необходимо для реализации апоптоза, опосредованного действием таксанов [135, 146].

Определение потери гетерозиготности в опухолевой ткани может предоставить ценную информацию о соматическом статусе наследственного РМЖ. С целью определения взаимосвязи между потерей гетерозиготности в ткани опухоли и чувствительностью к лекарственному лечению было произведено исследование доступных образцов крови пациенток или же исследование материала опухолевых блоков (таблица 12). Примечательно, что у обеих пациенток с мутацией BRCA1, не ответивших на терапию препаратами группы таксанов с констатацией прогрессирования на фоне проводимого лечения, была обнаружена внутриопухолевая полная потеря функции BRCA1. В целом, однако, не было отмечено тенденции, указывающей на взаимосвязь ответа на проводимое лечение с потерей гетерозиготности.

Таблица 15

Частота полного патоморфологического регресса (pCR), у пациенток, получавших неоадьювантную химиотерапию

Клинические характеристики	Число пациенток	Частота достижения pCR (%)	Значение <i>p</i>
Возраст (n = 415)			

> 40 лет	296	35 (11,8%)	0,514
</= 40 лет	119	17 (14,3%)	
Клиническая стадия опухоли (n = 414)			
T1–2	154	25 (16,2%)	0,092
T3–4	260	27 (10,4%)	
Клиническая стадия регионарных лимфоузлов (n = 415)			
N0	34	4 (11,8%)	1,000
N1–3	381	48 (12,6%)	
Статус ЭР (n = 241)			
Положительные	140	10 (7,1%)	0,023
Отрицательные	101	17 (16,8%)	
Статус ПР (n = 241)			
Положительные	123	7 (5,7%)	0,007
Отрицательные	118	20 (17,0%)	
Статус HER2 (n = 232)			
Гиперэкспрессия	39	2 (5,1%)	0,541
Нет гиперэкспрессии	193	18 (9,3%)	
Трижды-негативный РМЖ (n = 240)			
Да	69	15 (21,7%)	0,003
Нет	171	12 (7,0%)	
Гистологический тип (n = 197)			
Протоковый рак (NST)	170	4 (2,4%)	1,000
Прочие типы	27	0 (0,0%)	
Наследственные мутации (n = 415)			
Без носительства мутации	388	46 (11,9%)	0,024 (носители мутации <i>BRCA1</i> в сравнении с пациентками без мутации гена); 0,604 (носители мутации <i>CHEK2</i> в сравнении с пациентками без мутации гена); 0,136 (носители мутации гена <i>BRCA1</i> в сравнении с носителями мутации <i>CHEK2</i>)
Носители мутации <i>BRCA1</i>	19	6 (31,6%)	
Носители мутации <i>CHEK2</i>	7	0 (0,0%)	
Тип химиотерапии (n = 415)			
Таксан-содержащий режим (с- или без добавления антрациклинов в состав схемы)	122	16 (13,1%)	1,000 (таксан-содержащие режимы против антрациклиновых режимов);
Антрациклиновые режимы (без применения таксанов)	260	33 (12,7%)	0,766 (таксан-содержащие режимы против прочих режимов);
Прочие режимы	33	3 (9,1%)	0,780 (антрациклин-содержащие против прочих)

Таблица 16

Частота объективного ответа среди пациенток, получавших неoadъювантную терапию

Клинические характеристики	Число пациенток	Частота объективного ответа (%)	Значение <i>p</i>
Возраст (n = 415)			
> 40 лет	296	253 (85,5%)	0,453
</= 40 лет	119	98 (82,4%)	
Клиническая стадия первичной опухоли (n = 414)			
T1–2	154	124 (80,5%)	0,092
T3–4	260	226 (87,0%)	
Клиническая стадия регионарных лимфоузлов (n = 415)			
N0	34	25 (73,5%)	0,080
N1–3	381	326 (85,6%)	
Статус рецепторов эстрогенов (n = 241)			
Позитивные	140	118 (84,3%)	0,456
Негативные	101	89 (88,1%)	
Статус рецепторов прогестерона (n = 241)			
Позитивные	123	103 (83,7%)	0,359
Негативные	118	104 (88,1%)	
Статус рецепторов HER2 (n = 232)			
Гиперэкспрессия	39	35 (89,7%)	0,616
Нет гиперэкспрессии	193	164 (85,0%)	
Принадлежность к трижды негативному типу (n = 240)			
Да	69	60 (87,0%)	0,833
Нет	171	150 (87,7%)	
Гистологический тип (n = 197)			
NST	170	143 (84,1%)	0,381
Прочие	27	25 (92,6%)	
Степень ядерной атипии (n = 140)			
1–2	86	76 (88,4%)	0,322
3	54	44 (81,5%)	
Наследственные мутации (n = 415)			
без мутации гена	388	333 (85,5%)	0,177 (носители мутации <i>BRCA1</i> против пациенток без
носители мутации <i>BRCA1</i>	19	14 (73,7%)	

носители мутации <i>CHEK2</i>	7	4 (50,0%)	мутации гена); 0,020 (носители мутации <i>CHEK2</i> против пациенток без мутации гена); 0,375 (носители мутации <i>CHEK2</i> против носителей мутации <i>BRCA1</i>)
Тип химиотерапевтического лечения (n = 415)			
Таксан-содержащие режимы (с добавлением антрациклинов или без антрациклинов)	122	107 (87,7%)	0,871 (таксан-содержащие режимы против антрациклиновых режимов);
Антрациклиновые режимы (без добавления таксанов)	260	226 (87,0%)	0,0001 (таксан-содержащие режимы против прочих);
Прочие режимы	33	18 (54,5%)	0,0001 (антрациклиновые режимы против прочих)

Таблица 17

Эффективность различных режимов химиотерапии у пациенток с носительством мутации BRCA1, у пациенток с носительством мутации CHEK2 и у пациенток с без мутации гена

		Носители мутации BRCA1		Носители мутации CHEK2		Пациентки без мутации гена		Значение P					
		pCR	OR	pCR	OR	pCR	OR	pCR			OR		
Тип химиотерапии								носители мутации BRCA1 против пациенток без мутации гена	носители мутации CHEK2 против пациенток без мутации гена	носители мутации CHEK2 против носителей мутации BRCA1	носители мутации BRCA1 против пациенток без мутации гена	носители мутации CHEK2 против пациенток без мутации гена	носители мутации CHEK2 против носителей мутации BRCA1
Таксан-содержащие режимы (с добавлением антрациклинов или без антрациклинов)	–	0/7 (0,0%)	4/7 (57,1%)	0/3 (0,0%)	2/3 (66,7%)	16/112 (13,1%)	101/112 (90,2%)	0,592	1,000	1,000	0,035	0,284	1,000
Антрациклиновые режимы (без добавления таксанов)	–	5/9 (55,6%)	8/9 (88,9%)	0/4 (0,0%)	1/4 (25,0%)	28/247 (11,3%)	217/247 (87,9%)	0,002	1,000	0,105	1,000	0,008	0,052
Прочие режимы	–	1/3 (33,3%)	2/3 (66,7%)	0/0 (0,0%)	0/0 (0,0%)	2/29 (6,9%)	15/29 (51,7%)	0,263	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Значение P	таксан-содержащие режимы против антрациклиновых режимов	0,034	0,261	1,000	0,486	0,486	0,594						
	таксан-содержащие режимы против	0,300	1,000	1,000	1,000	0,366	0,00001						

	прочих								
	антрациклиновые режимы против прочих	1,000	0,455	1,000	0,400	0,752	0,00001		

Глава 4. Обсуждение

Данные по эффективности неoadьювантной терапии при РМЖ с наследственными мутациями гена BRCA остаются ограниченными. В данном исследовании с целью получения новой информации был проведен системный анализ результатов эффективности неoadьювантной терапии при носительстве мутаций BRCA1 и CHEK2 в сравнении с контрольной группой пациенток без носительства мутации.

Впервые произведено сравнение эффективности предоперационного лечения у пациенток носителей мутации BRCA1 и носителей мутации CHEK2.

Высокая частота объективного ответа на лечение, зафиксированная в группе пациенток без генетических аномалий, вероятнее всего, объясняется особенностью популяции. В исследование включались пациентки моложе 50 лет. 108 из 422 пациенток отнесены к HER2-позитивному и трижды-негативному подтипу, которые характеризуются высокой частотой ответов на неoadьювантное лекарственное лечение. Среди остальных пациенток превалировал люминальный В тип. На это указывает превалирование опухолей с высокой гистологической степенью злокачественности среди пациенток с положительной экспрессией рецепторов эстрогенов. Поскольку в исследование включались пациентки, получавшие неoadьювантную терапию в условиях НИИО с 2000 года (когда такое лечение проводилось преимущественно в случаях первично-неоперабельного состояния), можно предположить достаточно агрессивное течение опухолевого процесса, результировавшее в обращении за медицинской помощью относительно молодых пациенток на стадии местно-распространенного процесса.

Результаты данного диссертационного исследования подтверждают достаточно высокую чувствительность опухолей, ассоциированных с мутацией BRCA1, к антрациклин-содержащей химиотерапии [143, 167, 168]. Также получены данные об относительно ограниченной чувствительности опухолей, ассоциированных с мутацией BRCA1 к таксан-содержащим режимам.

Полученные данные находятся в соответствии с имеющимся представлением о роли гена BRCA1 в реализации механизмов апоптоза, опосредованного действием таксанов. Исследования на клеточных линиях показали, что дефицит гена BRCA1 ассоциирован с низкой чувствительностью к терапии паклитакселом [129]. Помимо вышеупомянутого исследования Byrski, в работах Wusocki [148] и Kriege [149] была продемонстрирована низкая частота ответов на терапию доцетакселом у носителей мутации BRCA1.

Анализируя обобщенные данные исследований по эффективности неoadьювантной терапии в лечении химионаивного РМЖ, ассоциированного с носительством мутации BRCA1, и результаты приведенного исследования, можно сделать вывод о том, что добавление таксанов к антрациклин-содержащей химиотерапии у данной категории пациенток как минимум не улучшает результаты лечения. Данное наблюдение является основанием для дальнейшего изучения целесообразности применения таксанов при лечении ранних стадий РМЖ, ассоциированного с носительством мутации BRCA1.

Необходимо упомянуть, что нормальное функционирование гена BRCA2 не является необходимым условием для действия стабилизаторов микротрубочек. На сегодняшний день нет наблюдений, указывающих на то, что мутация BRCA2 может оказывать негативное влияние на эффективность терапии таксанами [129].

В противоположность пациенткам с носительством мутации BRCA1 пациентки с опухолями, ассоциированными с мутацией гена CHEK2, продемонстрировали худший ответ на лечение.

Общая частота полного патоморфологического регресса без спецификации по режимам применяемой химиотерапии среди пациенток носительством мутации BRCA1 составила 31% (6/19), частота полного регресса в группе пациенток с опухолями дикого типа составила 11% (46/388), а в группе пациенток с мутацией CHEK2 случаев полного регресса не было зафиксировано — 0% (0/7). Также отмечена особенно низкая эффективность терапии антрациклинами в данной группе больных: ни у одной из 4 пациенток, получавших антрациклиновую химиотерапию без добавления таксанов, не был зафиксирован объективный ответ на проводимое лечение. Полученные данные соответствуют наблюдениям, представленным Chrisanthar et al. [154]. Частота объективного ответа на терапию таксанами среди пациенток с мутацией CHEK2 в проведенном исследовании является приемлемой, что указывает на целесообразность дальнейшего изучения роли этих препаратов в терапии CHEK2-ассоциированного РМЖ.

Концепция инактивации гена в результате так называемого «второго удара» является доказанным механизмом развития большинства злокачественных новообразований, ассоциированных с мутацией генов BRCA1 и BRCA2 [127, 128]. В данном исследовании не удалось выявить четкой взаимосвязи между потерей гетерозиготности BRCA1 и ответом на проводимое лечение. Примечательно, что лишь в 3 из 10 случаев, доступных для анализа на потерю гетерозиготности, была обнаружена потеря аллеля «дикого типа». В двух из этих трех случаев наблюдалась прогрессия заболевания на фоне проводимого лечения с использованием таксанов. Это косвенно подтверждает то, что для реализации индуцируемого таксанами апоптоза необходима сохраненная функция гена BRCA1. У двух женщин без признаков потери гетерозиготности гена BRCA1 был отмечен полный патоморфологический регресс в результате применения антрациклиновых режимов химиотерапии. Данное явление может объясняться другими генетическими или эпигенетическими механизмами инактивации аллеля дикого типа. Потеря нормальной копии гена при РМЖ,

ассоциированном с мутацией СНЕК2, происходит редко [157]. При проведении данного диссертационного исследования потеря гетерозиготности была обнаружена у 1 из 7 пациенток, ни одна из которых не имела полного регресса в ответ на проведенную неoadьювантную терапию.

Данное исследование предоставляет дополнительные данные, указывающие на существенные различия в биологии так называемого «спорадического» рака молочной железы и РМЖ, ассоциированного с наследственными мутациями. Представленные ниже выводы могут оказать влияние на подготовку и проведение клинических исследований, а также на рутинную практику.

Глава 5. Выводы

- 1) Опухоли, ассоциированные с носительством мутации BRCA1 чаще являются трижды-негативными.
- 2) Опухоли, ассоциированные с мутацией CHEK2 не отличимы от опухолей без выявленной генетической аномалии при оценке статуса гормональных рецепторов, гистологической степени злокачественности и прочих фенотипических характеристик.
- 3) У носительниц мутаций в гене BRCA1 частота достижения полного патоморфологического регресса существенно выше, нежели у больных без мутаций (6/19 (31.6%) против 46/388 (11.9%), $p = 0.024$).
- 4) Частота достижения полного патоморфологического регресса при BRCA1-ассоциированном РМЖ особенно высока при проведении неоадьювантной терапии с применением антрациклинов. При лечении пациенток антрациклиновыми режимами без добавления таксанов частота полного регресса в 5 раз превышала таковую у больных без мутаций BRCA1 (5/9 (55.6%) vs. 28/247 (11.3%), $p = 0.002$). Антрациклины остаются значимым компонентом лечения пациенток с РМЖ, ассоциированным с носительством мутации гена BRCA1.
- 5) В неоадьювантном режиме у пациенток с мутациями BRCA1 таксан-содержащие схемы менее эффективны, чем схемы, содержащие только антрациклины (не было зафиксировано ни одного случая полного патоморфологического регресса при использовании таксан-содержащих схем среди носителей мутации BRCA1).
- 6) РМЖ, ассоциированный с носительством мутаций в гене CHEK2, характеризуется низкой чувствительностью к неоадьювантной химиотерапии по сравнению со спорадическим РМЖ: частота объективного ответа составила 57.4% против 85.5%,

частота достижения полного патоморфологического регресса - 0% против 11.3%, соответственно.

- 7) РМЖ, ассоциированный с носительством мутаций в гене СНЕК2, характеризуется крайне низкой чувствительностью к терапии антрациклинами: ни у одной пациентки, получавшей антрациклиновые режимы без применения таксанов, не был достигнут частичный регресс.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

При планировании проведения неoadъювантной терапии всем пациенткам в возрасте до 50 лет, вне зависимости от биологического подтипа РМЖ, целесообразно проводить тестирование на предмет носительства founder-мутаций генов BRCA1 и СНЕК2, так как выявление носительства мутации может оказать влияние на принятие решения о тактике лекарственного лечения и объеме хирургического вмешательства.

В связи с высокой чувствительностью опухолей, ассоциированных с носительством мутации BRCA1, к антрациклинам целесообразно применение данных препаратов в неoadъювантном режиме для повышения вероятности достижения полного регресса.

В связи с потенциальной рефрактерностью к химиотерапии опухолей, ассоциированных с носительством мутации СНЕК2, целесообразно проводить неoadъювантное лечение только пациентам с первично-неоперабельным РМЖ при выявлении носительства мутации СНЕК2. Предпочтение должно отдаваться схемам, содержащим таксаны.

Целесообразно проведение проспективных исследований, направленных на оценку эффективности различных режимов химиотерапии у пациенток с мутацией СНЕК2 для получения данных большей статистической силы и дальнейшей индивидуализации лечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению в 2015 году – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2016. илл. – 236 с.
2. Мерабишвили В.М. Злокачественные новообразования в Санкт-Петербурге (анализ базы данных ракового регистра по международным стандартам: заболеваемость, смертность, выживаемость) / Под ред. проф. А.М. Беляева. – СПб, 2015. – 296 с.
3. DeSantis C., Ma J., Bryan L. et al. Breast cancer statistics 2013 // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. – 2014. – Vol. 64(1). – P. 52–62.
4. Melchor L., Benítez J. The complex genetic landscape of familial breast cancer // *Human Genetics*. – 2013. – Vol. 132(8). – P. 845–863.
5. Njiaju U.O., Olopade O.I. Genetic determinants of breast cancer risk: a review of current literature and issues pertaining to clinical application // *The Breast Journal*. – 2012. – Vol. 18(5). – P. 436–442.
6. Narod S.A., Foulkes W.D. BRCA1 and BRCA2: 1994 and beyond // *Nature Reviews Cancer*. – 2004. – Vol. 4(9). – P. 665–676.
7. Imyanitov E. N., Byrski T. Systemic treatment for hereditary cancers: a 2012 update // *Hereditary Cancer in Clinical Practice*. – 2013. – Vol. 11(1). – P. 2.
8. Hennessy B.T.J. et al. Somatic mutations in BRCA1 and BRCA2 could expand the number of patients that benefit from poly (ADP ribose) polymerase inhibitors in ovarian cancer // *Journal of Clinical Oncology*. – 2010. – Vol. 28(22). – P. 3570–3576.
9. Silver D.P. et al. Efficacy of neoadjuvant Cisplatin in triple-negative breast cancer // *Journal of Clinical Oncology*. – 2010. – Vol. 28(7). – P. 1145–1153.

10. Gerson S.L. Clinical relevance of MGMT in the treatment of cancer // *J. Clin. Oncol.* – 2002. – Vol. 20. – P. 2388–2399.
11. Hartman A.R., Ford J.M. BRCA1 induces DNA damage recognition factors and enhances nucleotide excision repair // *Nat. Genet.* – 2002. – Vol. 32. – P. 180–184.
12. Demple B., Harrison L. Repair of oxidative damage to DNA: Enzymology and biology // *Annu. Rev. Biochem.* – 1994. – Vol. 63. – P. 915–948.
13. Schreiber V., Dantzer F., Ame J.C. et al. Poly (ADP-ribose): Novel functions for an old molecule // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2006. – Vol. 7. – P. 517–528.
14. Caldecott K.W. Single strand break repair and genetic disease // *Nat. Rev. Genet.* – 2008. – Vol. 9. – P. 619–631.
15. Alii E., Sharma V.B., Sunderesakumar P. et al. Defective repair of oxidative DNA damage in triple-negative breast cancer confers sensitivity to inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase // *Cancer Res.* – 2009. – Vol. 69. – P. 3589–3596.
16. Curtin N.J. PARP inhibitors for cancer therapy // *Exp. Rev. Mol. Med.* – 2005. – Vol. 7. – P. 1-20.
17. Kolodner R.D, Marsischky G.T. Eukaryotic DNA mismatch repair // *Curr. Opin. Genet. Dev.* – 1999. – Vol. 9. – P. 89–96.
18. Kinsella T.J. Coordination of DNA mismatch repair and base excision repair processing of chemotherapy and radiation damage for targeting resistant cancers // *Clin. Cancer Res.* – 2009. – Vol. 15. – P. 1853–1859.
19. O'Driscoll M., Jeggo P.A. The role of double-strand break repair — Insights from human genetics // *Nat. Rev. Genet.* – 2006. – Vol. 7. – P. 45–54.
20. Lynch H.T. et al. Hereditary breast cancer: part I. Diagnosing hereditary breast cancer syndromes // *The Breast Journal.* – 2008. – Vol. 14(1). – P. 3–13.
21. Easton D.F., Antoniou A.C., Thompson D. The Genetic Epidemiology of Hereditary Breast Cancer. In T. R. I. Isaacs, Claudine. II. Rebbeck, ed. *Hereditary Breast Cancer.* – New York: Informa Healthcare USA, Inc., 2008. – P. 402.

- 22.Имянитов Е.Н., Хансон К.П. Молекулярная онкология: клинические аспекты. – СПб., 2007.
- 23.Кенеманс Р., Verstraeten R., Verheijen R.H.M. Oncogenic pathways in hereditary and sporadic breast cancer // *Maturitas*. – 2004. – Vol. 49(1). – P. 34–43.
- 24.Frank S.A. Age-specific incidence of inherited versus sporadic cancers: a test of the multistage theory of carcinogenesis // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2005. – Vol. 102(4). – P. 1071–1075.
- 25.Weiss R.A. Multistage carcinogenesis // *British Journal of Cancer*. – 2004. – Vol. 91(12). – P. 1981–1982.
- 26.Clemons M., Goss P. Estrogen and the risk of breast cancer // *The New England Journal of Medicine*. – 2001. – Vol. 344(4). – P. 276–285.
- 27.Lynch H.T., Snyder C., Casey M.J. Hereditary ovarian and breast cancer: what have we learned? // *Annals of Oncology*. – 2013. – Vol. 24 (Suppl 8). – P. viii83–viii95.
- 28.De Grève J. et al. Hereditary breast cancer: from bench to bedside // *Current Opinion in Oncology*. – 2008. – Vol. 20(6). – P. 605–613.
- 29.Mavaddat N. et al. Familial relative risks for breast cancer by pathological subtype: a population-based cohort study // *Breast Cancer Research*. – 2010. – Vol. 12(1). – P. R10.
- 30.Kuligina E. et al. Evaluating cancer epidemiologic risk factors using // *Epidemiology*. – 2010. – Vol. 21(3). – P. 366–372.
- 31.Ghoussaini M., Pharoah P.D.P., Easton D.F. Inherited genetic susceptibility to breast cancer: the beginning of the end or the end of the beginning? // *The American Journal of Pathology*. – 2013. – Vol. 183(4). – P. 1038–1051.
- 32.Bogdanova N., Helbig S., Dörk T. Hereditary breast cancer: ever more pieces to the polygenic puzzle // *Hereditary Cancer in Clinical Practice*. – 2013. – Vol. 11(1). – P. 12.
- 33.Foulkes W.D. Inherited susceptibility to common cancers // *The New England Journal of Medicine*. – 2008. – Vol. 359(20). – P. 2143–2153.

34. Vogelstein B., Kinzler K.W. Cancer genes and the pathways they control // *Nature Medicine*. – 2013. – Vol. 10(8). – P. 789–799.
35. Orloff M.S. et al. Germline PIK3CA and AKT1 mutations in Cowden and Cowden-like syndromes // *American Journal of Human Genetics*. – 2013. – Vol. 92(1). – P. 76–80.
36. King M.-C. «The race» to clone BRCA1 // *Science*. – 2014. – Vol. 343(6178). – P. 1462–1465.
37. Hall J.M. et al. Early-Onset Familial Breast Cancer // *Science*. – 1990. – Vol. 250. – P. 17–22.
38. Miki Y. et al. Strong Candidate for the Breast and Ovarian Cancer // *Science*. – 1994. – № 266(October).
39. Begg C.B. et al. Variation of breast cancer risk among BRCA1/2 carriers // *JAMA*. – 2008. – Vol. 299(2). – P. 194–201.
40. Rebbeck T.R. et al. Modification of BRCA1-Associated Breast and Ovarian Cancer Risk by BRCA1-Interacting Genes // *Cancer Research*. – 2011. – Vol. 71(17). – P. 5792–5805.
41. Narod S.A. et al. Risk modifiers in carriers of BRCA1 mutations // *International Journal of Cancer*. – 1995. – Vol. 64(6). – P. 394–398.
42. Ferla R. et al. Founder mutations in BRCA1 and BRCA2 genes // *Annals of Oncology*. – 2007. – Vol. 18 Suppl 6 (Supplement 6). – P. 93–98.
43. Iyevleva A.G. et al. Non-founder BRCA1 mutations in Russian breast cancer patients // *Cancer Letters*. – 2010. – Vol. 298(2). – P. 258–263.
44. Sokolenko A.P. et al. Founder mutations in early-onset, familial and bilateral breast cancer patients from Russia // *Familial Cancer*. – 2007. – Vol. 6(3). – P. 281–286.
45. Krylova N.Y. et al. BRCA1 4153delA founder mutation in Russian ovarian cancer patients // *Hereditary Cancer in Clinical Practice*. – 2006. – Vol. 4(4). – P. 193–196.
46. Tikhomirova L. et al. High prevalence of two BRCA1 mutations, 4154delA and 5382insC, in Latvia // *Familial Cancer*. – 2005. – Vol. 4(2). – P. 77–84.

- 47.Karp S. et al. Influence of BRCA1 mutations on nuclear grade and estrogen receptor status of breast carcinoma in Ashkenazi Jewish women // *Cancer*. – 1997. – Vol. 80(3). – P. 435–441.
- 48.Lakhani S.R. et al. Prediction of BRCA1 status in patients with breast cancer using estrogen receptor and basal phenotype // *Clinical Cancer Research*. – 2005. – Vol. 11(14). – P. 5175–5180.
- 49.Nielsen T.O. et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma // *Clinical Cancer Research*. – 2004. – Vol. 10(16). – P. 5367–5374.
- 50.Lakhani S.R. et al. The pathology of familial breast cancer: predictive value of immunohistochemical markers estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and p53 in patients with mutations in BRCA1 and BRCA2 // *Journal of Clinical Oncology*. – 2002. – Vol. 20(9). – P. 2310–2318.
- 51.Sorlie T. et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2003. – Vol. 100(14). – P. 8418–8423.
- 52.Yehiely F. et al. Deconstructing the molecular portrait of basal-like breast cancer // *Trends in Molecular Medicine*. – 2006. – Vol. 12(11). – P. 537–544.
- 53.Banerjee S. et al. Basal-like breast carcinomas: clinical outcome and response to chemotherapy // *Journal of Clinical Pathology*. – 2006. – Vol. 59(7). – P. 729–735.
- 54.Lakhani S.R. The pathology of hereditary breast cancer // *Disease Markers*. – 1999. – Vol. 15(1–3). – P. 113–114.
- 55.Meijers-Heijboer H. et al. Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2(*)1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations // *Nature Genetics*. – 2002. – Vol. 31(1). – P. 55–59.
- 56.Ingvarsson S. et al. Mutation analysis of the CHK2 gene in breast carcinoma and other cancers // *Breast Cancer Research*. – 2002. – Vol. 4(3). – P. R4.

57. Vahteristo P. et al. A CHEK2 genetic variant contributing to a substantial fraction of familial breast cancer // *American Journal of Human Genetics*. – 2002. – Vol. 71(2). – P. 432–438.
58. McGowan C.H. Checking in on Cds1 (Chk2): A checkpoint kinase and tumor suppressor // *BioEssays*. – 2002. – Vol. 24(6). – P. 502–511.
59. Cybulski C. et al. Risk of breast cancer in women with a CHEK2 mutation with and without a family history of breast cancer // *Journal of Clinical Oncology*. – 2011. – Vol. 29(28). – P. 3747–3752.
60. Weischer M. et al. CHEK2*1100delC genotyping for clinical assessment of breast cancer risk: meta-analyses of 26,000 patient cases and 27,000 controls // *Journal of Clinical Oncology*. – 2008. – Vol. 26(4). – P. 542–548.
61. Kriege M. et al. Survival and contralateral breast cancer in CHEK2 1100delC breast cancer patients: impact of adjuvant chemotherapy // *British Journal of Cancer*. – 2014. – Vol. 111(5). – P. 1004–1113.
62. Fletcher O. et al. Family history, genetic testing, and clinical risk prediction: pooled analysis of CHEK2 1100delC in 1,828 bilateral breast cancers and 7,030 controls // *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. – 2009. – Vol. 8(1). – P. 230–234.
63. Schmidt M.K. et al. Breast cancer survival and tumor characteristics in premenopausal women carrying the CHEK2*1100delC germline mutation // *Journal of Clinical Oncology*. – 2007. – Vol. 25(1). – P. 64–69.
64. De Bock G.H. et al. Tumour characteristics and prognosis of breast cancer patients carrying the germline CHEK2*1100delC variant // *Journal of Medical Genetics*. – 2004. – Vol. 41(10). – P. 731–735.
65. Zhang S. et al. Frequency of the CHEK2 1100delC mutation among women with breast cancer: an international study // *Cancer Research*. – 2008. – Vol. 68(7). – P. 2154–2157.

66. Chekmariova E.V. et al. CHEK2 1100delC mutation is frequent among Russian breast cancer patients // *Breast Cancer Research and Treatment*. – 2006. – Vol. 100(1). – P. 99–102.
67. Huijts P.E. et al. CHEK2*1100delC homozygosity in the Netherlands-prevalence and risk of breast and lung cancer // *European Journal of Human Genetics*. (October 2012). – P. 1–6.
68. Adank M.A. et al. CHEK2*1100delC homozygosity is associated with a high breast cancer risk in women // *Journal of Medical Genetics*. – 2011. – Vol. 48(12). – P. 860–863.
69. Bogdanova N. et al. Association of two mutations in the CHEK2 gene with breast cancer // *International Journal of Cancer*. – 2005. – Vol. 116(2). – P. 263–266.
70. Górski B. et al. Breast cancer predisposing alleles in Poland // *Breast Cancer Research and Treatment*. – 2005. – Vol. 92(1). – P. 19–24.
71. Cybulski C. et al. A personalised approach to prostate cancer screening based on genotyping of risk founder alleles // *British Journal of Cancer*. – 2013. – Vol. 108(12). – P. 2601–2609.
72. Tedaldi G. et al. First evidence of a large CHEK2 duplication involved in cancer predisposition in an Italian family with hereditary breast cancer // *BMC Cancer*. – 2014. – Vol. 14(1). – P. 478.
73. Desrichard A. et al. CHEK2 contribution to hereditary breast cancer in non-BRCA families // *Breast Cancer Research*. – 2011. – Vol. 13(6). – P. R119.
74. Nagel J. H. A. et al. Gene expression profiling assigns CHEK2 1100delC breast cancers to the luminal intrinsic subtypes // *Breast Cancer Research and Treatment*. – 2012. – Vol. 132(2). – P. 439–448.
75. De Bock G. H. et al. Association between the CHEK2*1100delC germ line mutation and estrogen receptor status // *International Journal of Gynecological Cancer*. – 2006. – Vol. 16(Suppl 2). – P. 552–555.

76. Honrado E. et al. Pathology and gene expression of hereditary breast tumors associated with BRCA1, BRCA2 and CHEK2 gene mutations // *Oncogene*. – 2006. – Vol. 25(43). – P. 5837–5845.
77. Weischer M. et al. CHEK2*1100delC heterozygosity in women with breast cancer associated with early death, breast cancer-specific death, and increased risk of a second breast cancer // *Journal of Clinical Oncology*. – 2012. – Vol. 30(35). – P. 4308–4316.
78. Chia S. et al. Locally advanced and inflammatory breast cancer // *Journal of Clinical Oncology*. – 2008. – Vol. 26(5). – P. 786–790.
79. Cristofanilli M. et al. Inflammatory breast cancer (IBC) and patterns of recurrence: understanding the biology of a unique disease // *Cancer*. – 2007. – Vol. 110(7). – P. 1436–1444.
80. Kaufmann M. et al. Recommendations from an international expert panel on the use of neoadjuvant (primary) systemic treatment of operable breast cancer: an update // *Journal of Clinical Oncology*. – 2006. – Vol. 24(12). – P. 1940–1949.
81. Bonadonna G. Evolving Concepts in the Systemic Adjuvant Treatment of Breast Cancer // *Cancer Research*. – 1992. – Vol. 52(8). – P. 2127–2137.
82. Goldie J. H., Coldman A. J. A mathematic model for relating the drug sensitivity of tumors to their spontaneous mutation rate // *Cancer Treatment Reports*. – 1979. – Vol. 63(11–12). – P. 1727–1733.
83. Fisher B., Gunduz N., Saffer E. A. Influence of the interval between primary tumor removal and chemotherapy on kinetics and growth of metastases // *Cancer Research*. – 1983. – Vol. 43(4). – P. 1488–1492.
84. Fisher B., Gunduz N. et al. Presence of a growth-stimulating factor in serum following primary tumor removal in mice // *Cancer Research*. – 1989. – Vol. 49(8). – P. 1996–2001.
85. Fisher B., Saffer E. et al. Effect of local or systemic treatment prior to primary tumor removal on the production and response to a serum growth-stimulating factor in mice // *Cancer Research*. – 1989. – Vol. 49(8). – P. 2002–2004.

86. Al-Sahaf O. et al. Surgical injury enhances the expression of genes that mediate breast cancer metastasis to the lung // *Annals of Surgery*. – 2010. – Vol. 252(6). – P. 1037–1043.
87. Broet P., Scholl S. M., de la Rochefordie`re A. et al. Short and long-term effects on survival in breast cancer patients treated by primary chemotherapy: an updated analysis of a randomized trial // *Breast Cancer Res Treat.* – 1999. – Vol. 58. – P. 151–156.
88. Cleator S. J., Makris A., Ashley S. E. et al. Good clinical response of breast cancers to neoadjuvant chemoendocrine therapy is associated with improved overall survival // *Ann Oncol.* – 2005. – Vol. 16. – P. 267–272.
89. Mauriac L. et al. Neoadjuvant chemotherapy for operable breast carcinoma larger than 3 cm: a unicentre randomized trial with a 124-month median follow-up. Institut Bergonié Bordeaux Groupe Sein (IBBGS) // *Annals of Oncology*. – 1999. – Vol. 10(1). – P. 47–52.
90. Van der Hage J.A., van de Velde C. J. H., Julien J. P. et al. Preoperative chemotherapy in primary operable breast cancer: results from the European Organization for Research and Treatment of cancer trial 10902 // *J. Clin. Oncol.* – 2001. – Vol. 19. – P. 4224–4237.
91. Wolmark N., Wang J., Mamounas E. et al. Preoperative chemotherapy in patients with operable breast cancer: nine-year results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18 // *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.* – 2001. – Vol. 30. – P. 96–102.
92. Bear H. D. et al. Sequential preoperative or postoperative docetaxel added to preoperative doxorubicin plus cyclophosphamide for operable breast cancer: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27 // *Journal of Clinical Oncology*. – 2006. – Vol. 24(13). – P. 2019–2027.
93. Mieog J.S.D., van der Hage J.A., van de Velde C.J.H. Preoperative chemotherapy for women with operable breast cancer // *Br. J. Surg.* – 2007. – Vol. 94(10). – P. 1189–200.

94. Mieog J. S. D., van der Hage J. A., van de Vijver M. J., van de Velde C. J. H. Tumour response to preoperative anthracyclinebased chemotherapy in operable breast cancer: the predictive role of p53 expression // *Eur. J. Cancer.* – 2006. – Vol. 42. – P. 1369–1379.
95. Chua S. et al. Neoadjuvant vinorelbine/epirubicin (VE) versus standard adriamycin/cyclophosphamide (AC) in operable breast cancer: analysis of response and tolerability in a randomised phase III trial (TOPIC 2) // *Annals of Oncology.* – 2005. – Vol. 16(9). – P. 1435–1441.
96. Therasse P. et al. Final results of a randomized phase III trial comparing cyclophosphamide, epirubicin, and fluorouracil with a dose-intensified epirubicin and cyclophosphamide + filgrastim as neoadjuvant treatment in locally advanced breast cancer: an EORTC-NCIC-SAKK mult // *Journal of Clinical Oncology.* – 2003. – Vol. 21(5). – P. 843–850.
97. Von Minckwitz G. et al. Doxorubicin with cyclophosphamide followed by docetaxel every 21 days compared with doxorubicin and docetaxel every 14 days as preoperative treatment in operable breast cancer: the GEPARDUO study of the German Breast Group // *Journal of Clinical Oncology.* – 2005. – Vol. 23(12). – P. 2676–2685.
98. Loibl S. et al. Surgical procedures after neoadjuvant chemotherapy in operable breast cancer: results of the GEPARDUO trial // *Annals of Surgical Oncology.* – 2006. – Vol. 13(11). – P. 1434–1442.
99. Smith I. E., A'Hern R. P., Coombes G. A. et al. A novel continuous infusional 5-fluorouracil-based chemotherapy regimen compared with conventional chemotherapy in the neo-adjuvant treatment of early breast cancer: 5 year results of the TOPIC trial // *Ann. Oncol.* – 2004. – Vol. 15. – P. 751–758.
100. Cleator S., Parton M., Dowsett M. The biology of neoadjuvant chemotherapy for breast cancer // *Endocrine-Related Cancer.* – 2002. – Vol. 9(3). – P. 183–195.

101. Kaufmann M. et al. Recommendations from an international consensus conference on the current status and future of neoadjuvant systemic therapy in primary breast cancer // *Annals of Surgical Oncology*. – 2012. – Vol. 19(5). – P. 1508–1516.
102. Makhoul I., Kiwan E. Neoadjuvant systemic treatment of breast cancer // *Journal of Surgical Oncology*. – 2011. – Vol. 103(4). – P. 348–357.
103. Rena M. C., Bernstein A.C., Villaflor V.M. et al. Prevalence of Off-Label Use and Spending in 2010 Among Patent-Protected Chemotherapies in a Population-Based Cohort of Medical Oncologists // *J. Clin. Oncol.* – 2013. – Vol. 31(9). – P. 1134–1139. – doi: 10.1200/JCO.2012.42.7252.
104. Von Minckwitz G. et al. Intensified neoadjuvant chemotherapy in early-responding breast cancer: phase III randomized GeparTrio study // *Journal of the National Cancer Institute*. – 2008. – Vol. 100(8). – P. 552–562.
105. Semiglazov V. F., Semiglazov V. V., Dashyan G. A. et al. Phase 2 randomized trial of primary endocrine therapy versus chemotherapy in postmenopausal patients with estrogen receptor-positive breast cancer // *Cancer*. – 2007. – Vol. 110. – P. 244–254.
106. von Minckwitz G., Costa S. D., Eiermann W. et al. Maximized reduction of primary breast tumor size using preoperative chemotherapy with doxorubicin and docetaxel // *J. Clin. Oncol.* – 1999. – Vol. 17. – P. 1999–2005.
107. Miller K.D., McCaskill-Stevens W., Sisk J. et al. Combination versus sequential doxorubicin and docetaxel as primary chemotherapy for breast cancer: A randomized pilot trial of the Hoosier Oncology Group // *J. Clin. Oncol.* – 1999. – Vol. 17. – P. 3033–3037.
108. Malhotra V., Dorr V. J., Lyss A. P. et al. Neoadjuvant and adjuvant chemotherapy (CT) with doxorubicin and docetaxel (DD) with surgery and radiation in locally advanced breast cancer [abstract] // *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* – 2001. – Vol. 2. – P. b6.
109. Valero V., Esteva F. J., Sahin A. A. et al. Phase II trial of neoadjuvant chemotherapy with docetaxel and doxorubicin, surgery, adjuvant CMF, and radiotherapy ± tamoxifen

- in locally advanced breast cancer [abstract] // *Breast Cancer Res Treat.* – 2000. – Vol. 64. – P. 69.
110. Bouzid K., Vinholes J., Salas F. et al. A Phase III trial of Taxotere and doxorubicin (AT) vs 5-fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide (FAC) in patients with unresectable locally advanced breast cancer: An interim analysis [abstract] // *Eur. J. Cancer.* – 2001. – Vol. 37. – P. s167.
111. von Minckwitz G., Costa S. D., Raab G. et al. Dose-dense doxorubicin, docetaxel, and granulocyte colony-stimulating factor support with or without tamoxifen as preoperative therapy in patients with operable carcinoma of the breast: A randomized, controlled, open phase IIb study // *J. Clin. Oncol.* – 2001. – Vol. 19. – P. 3506–3515.
112. Bines J., Vinholes J., Del Giglio A. et al. Neo-adjuvant chemotherapy with weekly docetaxel (taxotere) in poor prognosis locally-advanced breast cancer (LABC) [abstract] // *Breast Cancer Res Treat.* – 2002. – Vol. 76. – P. s54.
113. Chen X.S., Nie X.Q., Chen C.M. et al. Weekly paclitaxel plus carboplatin is an effective nonanthracycline-containing regimen as neoadjuvant chemotherapy for breast cancer // *Ann. Oncol.* – 2010. – Vol. 21. – P. 961–967.
114. Liedtke C. et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer // *Journal of Clinical Oncology.* – 2008. – Vol. 26(8). – P. 1275–1281.
115. Rouzier R., Puszt L., Garbay J. R. et al. Development and validation of nomograms for predicting residual tumor size and the probability of successful conservative surgery with neoadjuvant chemotherapy for breast cancer // *Cancer.* – 2006. – Vol. 107. – P. 1459–1466.
116. Fisher E. R., Wang J., Bryant J. et al. Pathobiology of preoperative chemotherapy: Findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel (NSABP) protocol B-18 // *Cancer.* – 2002. – Vol. 95. – P. 681–695.

117. Rouzier R. et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy // *Clinical Cancer Research*. – 2005. – Vol. 11 (16). – P. 5678–5685.
118. Carey L. A. et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes // *Clinical Cancer Research*. – 2007. – Vol. 13 (8). – P. 2329–2334.
119. Chen S., Huang L., Liu Y. et al. The predictive and prognostic significance of pre- and post-treatment topoisomerase II α in anthracycline-based neoadjuvant chemotherapy for local advanced breast cancer // *Eur. J. Surg. Oncol.* – 2013. – Vol. 39 (Issue 6). – P. 619-626.
120. Waddell W.R., Loughry R.W. Sulindac for polyposis of the colon // *Journal of Surgical Oncology*. – 1983. – Vol. 24 (1). – P. 83–87.
121. Yadav B.S. et al. Systemic treatment strategies for triple-negative breast cancer // *World Journal of Clinical Oncology*. – 2014. – Vol. 5 (2). – P. 125–133.
122. Knudson AG Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1971. – Vol. 68 (4). – P. 820–823.
123. Santarosa, M. & Ashworth, A. Haploinsufficiency for tumour suppressor genes: when you don't need to go all the way // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2004. – Vol. 1654(2). – P. 105–122.
124. Bartek J., Lukas J., Bartkova J. DNA damage response as an anti-cancer barrier: damage threshold and the concept of “conditional haploinsufficiency” // *Cell Cycle*. – 2007. – Vol. 6(19). – P. 2344–2347.
125. Konishi H. et al. Mutation of a single allele of the cancer susceptibility gene BRCA1 leads to genomic instability in human breast epithelial cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 2011. – Vol. 108(43). – P. 17773–17778.
126. Rennstam K. et al. Genomic alterations in histopathologically normal breast tissue from BRCA1 mutation carriers may be caused by BRCA1 haploinsufficiency // *Genes, Chromosomes & Cancer*. – 2010. – Vol. 49(1). – P. 78–90.

127. Cornelis R.S. et al. High allele loss rates at 17q12-q21 in breast and ovarian tumors from BRCA1-linked families // *Genes, Chromosomes & Cancer*. – 1995. – Vol. 13(3). – P. 203–210.
128. Collins N. et al. Consistent loss of the wild type allele in breast cancers from a family linked to the BRCA2 gene on chromosome 13q12-13 // *Oncogene*. – 1995. – Vol. 10(8). – P. 1673–1675.
129. Imyanitov E. N., Moiseyenko V.M. Drug therapy for hereditary cancers // *Hereditary Cancer in Clinical Practice*. – 2011. – Vol. 9(1). – P. 5.
130. Jonkers J. Tracking evolution of BRCA1-associated breast cancer // *Cancer Discovery*. – 2012. – Vol. 2(6). – P. 486–488.
131. Martins F.C. et al. Evolutionary pathways in BRCA1-associated breast tumors // *Cancer Discovery*. – 2012. – Vol. 2(6). – P. 503–511.
132. Bayraktar S., Glück S. Systemic therapy options in BRCA mutation-associated breast cancer // *Breast Cancer Research and Treatment*. – 2012. – Vol. 135(2). – P. 355–366.
133. Kriege M. et al. Sensitivity to first-line chemotherapy for metastatic breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers // *Journal of Clinical Oncology*. – 2009. – Vol. 27(23). – P. 3764–3771.
134. Treszezamsky A.D. et al. BRCA1- and BRCA2-deficient cells are sensitive to etoposide-induced DNA double-strand breaks via topoisomerase II // *Cancer Research*. – 2007. – Vol. 67(15). – P. 7078–7081.
135. Quinn J.E. et al. BRCA1 functions as a differential modulator of chemotherapy-induced apoptosis // *Cancer Research*. – 2003. – Vol. 63(19). – P. 6221–6228.
136. Miyoshi Y. et al. Topoisomerase II α -positive and BRCA1-negative phenotype: association with favorable response to epirubicin-based regimens for human breast cancers // *Cancer Letters*. – 2008. – Vol. 264(1). – P. 44–53.

137. Mulligan J.M. et al. Identification and validation of an anthracycline/cyclophosphamide-based chemotherapy response assay in breast cancer // *Journal of the National Cancer Institute*. – 2014. – Vol. 106(1). – P. djt335.
138. Ignatiadis M. et al. Gene modules and response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer subtypes: a pooled analysis // *Journal of Clinical Oncology*. – 2012. – Vol. 30(16). – P. 1996–2004.
139. Chappuis P.O. et al. A significant response to neoadjuvant chemotherapy in BRCA1/2 related breast cancer // *Journal of Medical Genetics*. – 2002. – Vol. 39(8). – P. 608–610.
140. Hubert A. et al. Response to neo-adjuvant chemotherapy in BRCA1 and BRCA2 related stage III breast cancer // *Familial Cancer*. – 2009. – Vol. 8(3). – P. 173–177.
141. Goffin J.R. et al. Impact of germline BRCA1 mutations and overexpression of p53 on prognosis and response to treatment following breast carcinoma: 10-year follow up data // *Cancer*. – 2003. – Vol. 97(3). – P. 527–36.
142. Deans A.J., West S.C. DNA interstrand crosslink repair and cancer // *Nature Reviews Cancer*. – 2011. – Vol. 11(7). – P. 467–80.
143. Byrski T. et al. Results of a phase II open-label, non-randomized trial of cisplatin chemotherapy in patients with BRCA1-positive metastatic breast cancer // *Breast Cancer Research*. – 2012. – Vol. 14(4). – P. R110.
144. Moiseyenko V.M. et al. High sensitivity of BRCA1-associated tumors to cisplatin monotherapy: report of two cases. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. – 2010. – Vol. 197(1). – P. 91–4.
145. Vollebergh M.A. et al. An aCGH classifier derived from BRCA1-mutated breast cancer and benefit of high-dose platinum-based chemotherapy in HER2-negative breast cancer patients // *Annals of Oncology*. – 2011. – Vol. 22(7). – P. 1561–70.
146. Lafarge S. et al. Inhibition of BRCA1 leads to increased chemoresistance to microtubule-interfering agents, an effect that involves the JNK pathway // *Oncogene*. – 2011. – Vol. 20(45). – P. 6597–606.

147. Byrski T. et al. Response to neo-adjuvant chemotherapy in women with BRCA1-positive breast cancers // *Breast Cancer Research and Treatment*. – 2008. – Vol. 108(2). – P. 289–96.
148. Wysocki P.J. et al. Primary resistance to docetaxel-based chemotherapy in metastatic breast cancer patients correlates with a high frequency of BRCA1 mutations // *Medical Science Monitor*. – 2008. – Vol. 14(7). – P. SC7–10.
149. Kriege M. et al. The efficacy of taxane chemotherapy for metastatic breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers // *Cancer*. – 2012. – Vol. 118(4). – P. 899–907.
150. Kennedy R.D. et al. The role of BRCA1 in the cellular response to chemotherapy // *Journal of the National Cancer Institute*. – 2004. – Vol. 96(22). – P. 1659–68.
151. Rottenberg S. et al. Impact of intertumoral heterogeneity on predicting chemotherapy response of BRCA1-deficient mammary tumors // *Cancer Research*. – 2012. – Vol. 72(9). – P. 2350–61.
152. Pajic M. et al. Moderate increase in Mdr1a/1b expression causes in vivo resistance to doxorubicin in a mouse model for hereditary breast cancer // *Cancer Research*. – 2009. – Vol. 69(16). – P. 6396–6404.
153. Pabla N. et al. ATR-Chk2 signaling in p53 activation and DNA damage response during cisplatin-induced apoptosis // *The Journal of Biological Chemistry*. – 2008. – Vol. 283(10). – P. 6572–6583.
154. Chrisanthar R. et al. CHEK2 mutations affecting kinase activity together with mutations in TP53 indicate a functional pathway associated with resistance to epirubicin in primary breast cancer // *PloS One*. – 2008. – Vol. 3(8). – P. e3062.
155. Ow G.S. et al. Identification of two poorly prognosed ovarian carcinoma subtypes associated with CHEK2 germ-line mutation and non-CHEK2 somatic mutation gene signatures // *Cell Cycle*. – 2014. – Vol. 13(14). – P. 2262–2280.

156. Zhang P. et al. Inducible degradation of checkpoint kinase 2 links to cisplatin-induced resistance in ovarian cancer cells // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2005. – Vol. 328(2). – P. 567–572.
157. Suspitsin E.N. et al. Development of breast tumors in CHEK2, NBN/NBS1 and BLM mutation carriers does not commonly involve somatic inactivation of the wild-type allele // *Medical Oncology*. – 2014. – Vol. 31(2). – P. 828.
158. Jekimovs C.R. et al. Low frequency of CHEK2 1100delC allele in Australian multiple-case breast cancer families: functional analysis in heterozygous individuals // *British Journal of Cancer*. – 2005. – Vol. 92(4). – P. 784–790.
159. Dumon-Jones V. et al. Nbn heterozygosity renders mice susceptible to tumor formation and ionizing radiation-induced tumorigenesis // *Cancer Research*. – 2003. – Vol. 63(21). – P. 7263–7269.
160. Sodha N. et al. CHEK2 variants in susceptibility to breast cancer and evidence of retention of the wild type allele in tumours // *British Journal of Cancer*. – 2002. – Vol. 87(12). – P. 1445–1448.
161. Goss K.H. et al. Enhanced tumor formation in mice heterozygous for Blm mutation // *Science*. – 2002. – Vol. 297(5589). – P. 2051–2053.
162. Imyanitov E. N. et al. Isolation of Nucleic Acids from Paraffin-Embedded Archival Tissues and Other Difficult Sources / In J. Kieleczawa, ed. *DNA Sequencing II — Optimizing Preparation and Cleanup*. – Sudbury, Massachusetts: Jones and Bartlett Publishers, 2006. — P. 85–97.
163. Krylova N.Y. et al. BRCA1 4153delA founder mutation in Russian ovarian cancer patients // *Hereditary Cancer in Clinical Practice*. – 2006. – Vol. 4(4). – P. 193–196.
164. Bardia A., Baselga J. Neoadjuvant therapy as a platform for drug development and approval in breast cancer // *Clinical Cancer Research*. – 2013. – Vol. 19(23). – P. 6360–6370.

165. Hennessy B.T., Hortobagyi G.N., Rouzier R. et al. Outcome after pathologic complete eradication of cytologically proven breast cancer axillary node metastases following primary chemotherapy // *J. Clin. Oncol.* – 2005. – Vol. 23. – P. 9304–9311.
166. Carey L.A., Metzger R., Dees E.C. et al. American Joint Committee on Cancer tumor-node metastasis stage after neoadjuvant chemotherapy and breast cancer outcome // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2005. – Vol. 97. – P. 1137–1142.
167. Fourquet A. et al. Familial breast cancer: clinical response to induction chemotherapy or radiotherapy related to BRCA1/2 mutations status // *American journal of clinical oncology.* – 2009. – Vol. 32(2). – P. 127–131.
168. Wong Wong Keet A. et al. Long-term outcome after neo-adjuvant chemotherapy for breast cancer in BRCA1/2 carriers // *International journal of cancer // Journal international du cancer.* – 2009. – Vol. 125(9). – P. 2236–2238.
169. Abeliovich D. et al. The founder mutations 185delAG and 5382insC in BRCA1 and 6174delT in BRCA2 appear in 60% of ovarian cancer and 30% of early-onset breast cancer patients among Ashkenazi women // *American Journal of Human Genetics.* – 1997. – Vol. 60(3). – P. 505–514.
170. Aebi S. et al. Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up // *Annals of Oncology.* – 2011. – Vol. 22 (Suppl 6). — Pp. vi12–24.
171. Arun B. et al. Response to neoadjuvant systemic therapy for breast cancer in BRCA mutation carriers and noncarriers: a single-institution experience // *Journal of Clinical Oncology.* – 2011. – Vol. 29(28). – P. 3739–3746.
172. Backe J. et al. Frequency of BRCA1 mutation 5382insC in German breast cancer patients // *Gynecologic Oncology.* – 1999. – Vol. 72(3). – P. 402–406.
173. Balmaña J. et al. BRCA in breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines // *Annals of Oncology.* – 2010. – Vol. 21 (Suppl 5). – P. 20–22.

174. Beristain E. et al. OH analysis should not be used as a tool to assess whether UVs of BRCA1/2 are pathogenic or not // *Familial Cancer*. – 2010. – Vol. 9(3). – P. 289–290.
175. Byrski T. et al. Pathologic complete response rates in young women with BRCA1-positive breast cancers after neoadjuvant chemotherapy // *Journal of Clinical Oncology*. – 2010. – Vol. 28(3). – P. 375–379.
176. Byrski T. et al. Pathologic complete response to neoadjuvant cisplatin in BRCA1-positive breast cancer patients // *Breast cancer research and treatment*. – 2014. – Vol. 147(2). – P. 401–405.
177. Capalbo C. et al. BRCA1 and BRCA2 genetic testing in Italian breast and/or ovarian cancer families: mutation spectrum and prevalence and analysis of mutation prediction models // *Annals of Oncology*. – 2006. – Vol. 17 (Suppl 7). – P. vii34–40.
178. Caudle A.S., Hunt K.K. The neoadjuvant approach in breast cancer treatment: it is not just about chemotherapy anymore // *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology*. – 2011. – Vol. 23(1). – P. 31–36.
179. Chetrit A. et al. Effect of BRCA1/2 mutations on long-term survival of patients with invasive ovarian cancer: the national Israeli study of ovarian cancer // *Journal of Clinical Oncology*. – 2008. – Vol. 26(1). – P. 20–25.
180. Cipollini G. et al. Genetic alterations in hereditary breast cancer // *Annals of Oncology*. – 2004. – Vol. 15 (Suppl 1). – P. I7–I13.
181. Claes K. et al. Mutation analysis of the BRCA1 and BRCA2 genes in the Belgian patient population and identification of a Belgian founder mutation BRCA1 IVS5 + 3A > G // *Disease Markers*. – 1999. – Vol. 15(1-3). – P. 69–73.
182. Cybulski C. et al. A deletion in CHEK2 of 5,395 bp predisposes to breast cancer in Poland // *Breast Cancer Research and Treatment*. – 2007. – Vol. 102(1). – P. 119–122.
183. Domchek S.M. et al. Challenges to the Development of New Agents for Molecularly Defined Patient Subsets : Lessons From BRCA1/2-Associated Breast Cancer // *Journal of Clinical Oncology*. – 2011. – Vol. 29(32). – P. 4224–4226.

184. Farmer H. et al. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy // *Nature*. – 2005. – Vol. 434(7035). – P. 917–921.
185. Friedberg E.C. DNA damage and repair // *Nature*. – 2003. – Vol. 421(6921). – P. 436–440.
186. Gaj P. et al. High frequency of BRCA1 founder mutations in Polish women with nonfamilial breast cancer // *Familial Cancer*. – 2012. – Vol. 11(4). – P. 623–628.
187. Garcia-Patiño E. et al. Germ-line BRCA1 mutations in women with sporadic breast cancer: clinical correlations // *Journal of Clinical Oncology*. – 1998. – Vol. 16(1). – P. 115–120.
188. Górski B. et al. A high proportion of founder BRCA1 mutations in Polish breast cancer families // *International Journal of Cancer*. – 2004. – Vol. 110(5). – P. 683–686.
189. Hanrahan E.O., Hennessy B.T., Valero V. Neoadjuvant systemic therapy for breast cancer: an overview and review of recent clinical trials // *Expert Opinion on Pharmacotherapy*. – 2005. – Vol. 6(9). – P. 1477–1491.
190. Henderson I.C. et al. Improved outcomes from adding sequential Paclitaxel but not from escalating Doxorubicin dose in an adjuvant chemotherapy regimen for patients with node-positive primary breast cancer // *Journal of Clinical Oncology*. – 2003. – Vol. 21(6). – P. 976–983.
191. Hennessy B.T.J. et al. Somatic mutations in BRCA1 and BRCA2 could expand the number of patients that benefit from poly (ADP ribose) polymerase inhibitors in ovarian cancer // *Journal of Clinical Oncology*. – 2010. – Vol. 28(22). – P. 3570–3576.
192. Huusko P. et al. Evidence of founder mutations in Finnish BRCA1 and BRCA2 families // *American Journal of Human Genetics*. – 1998. – Vol. 62(6). – P. 1544–1548.
193. Kaye S.B. et al. Phase II, open-label, randomized, multicenter study comparing the efficacy and safety of olaparib, a poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor, and pegylated liposomal doxorubicin in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and recurrent

- ovarian cancer // *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. – 2012. – Vol. 30(4). – P. 372–379.
194. Kleibl Z. et al. The CHEK2 c.1100delC germline mutation rarely contributes to breast cancer development in the Czech Republic // *Breast Cancer Research and Treatment*. – 2005. – Vol. 90(2). – P. 165–167.
195. Kurian A.W. BRCA1 and BRCA2 mutations across race and ethnicity: distribution and clinical implications // *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology*. – 2010. – Vol. 22(1). – P. 72–78.
196. Ledermann J. et al. Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial // *The Lancet. Oncology*. – 2014. – Vol. 15(8). – P. 852–861.
197. Lee C.K. et al. Impact of secondary cytoreductive surgery on survival in patients with platinum sensitive recurrent ovarian cancer: Analysis of the CALYPSO trial // *Gynecologic oncology*, 2014.
198. Liu S.V. et al. Neoadjuvant therapy for breast cancer // *Journal of Surgical Oncology*. – 2010. – Vol. 101(4). – P. 283–291.
199. Loman N. et al. Family history of breast and ovarian cancers and BRCA1 and BRCA2 mutations in a population-based series of early-onset breast cancer // *Journal of the National Cancer Institute*. – 2001. – Vol. 93(16). – P. 1215–1223.
200. Van Der Looij M. et al. Prevalence of founder BRCA1 and BRCA2 mutations among breast and ovarian cancer patients in Hungary // *International Journal of Cancer*. – 2000. – Vol. 86(5). – P. 737–740.
201. Machackova E. et al. Spectrum and characterisation of BRCA1 and BRCA2 deleterious mutations in high-risk Czech patients with breast and/or ovarian cancer // *BMC Cancer*. – 2008. – Vol. 8. – P. 140.

202. Mamounas E.P. et al. Paclitaxel after doxorubicin plus cyclophosphamide as adjuvant chemotherapy for node-positive breast cancer: results from NSABP B-28 // *Journal of Clinical Oncology*. – 2005. – Vol. 23(16). – P. 3686–3696.
203. Martin M. et al. Adjuvant docetaxel for node-positive breast cancer // *The New England Journal of Medicine*. – 2005. – Vol. 352(22). – P. 2302–2313.
204. Martin M. et al. Doxorubicin in combination with fluorouracil and cyclophosphamide (i.v. FAC regimen, day 1, 21) versus methotrexate in combination with fluorouracil and cyclophosphamide (i.v. CMF regimen, day 1, 21) as adjuvant chemotherapy for operable breast cancer: a // *Annals of Oncology*. – 2003. – Vol. 14(6). – P. 833–842.
205. Meindl A. et al. Hereditary breast and ovarian cancer: new genes, new treatments, new concepts // *Deutsches Ärzteblatt International*. – 2011. – Vol. 108(19). – P. 323–330.
206. Von Minckwitz G., Untch M., Loibl S. Update on neoadjuvant/preoperative therapy of breast cancer: experiences from the German Breast Group // *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology*. – 2013. – Vol. 25(1). – P. 66–73.
207. Moiseyenko V.M. et al. Evidence for clinical efficacy of mitomycin C in heavily pretreated ovarian cancer patients carrying germ-line BRCA1 mutation // *Medical oncology (Northwood, London, England)*. – 2014. – Vol. 31(10). – P. 199.
208. Narod S.A. et al. Risk modifiers in carriers of BRCA1 mutations // *International Journal of Cancer*. – 1995. – Vol. 64(6). – P. 394–398.
209. Narod S.A. Testing for CHEK2 in the cancer genetics clinic: ready for prime time? // *Clinical Genetics*. – 2010. – Vol. 78(1). – P. 1–7.
210. Ottini L. et al. BRCA1 and BRCA2 mutation status and tumor characteristics in male breast cancer: a population-based study in Italy // *Cancer Research*. – 2003. – Vol. 63(2). – P. 342–347.
211. Peto R. The worldwide oxford overview: updated (2005–2006) meta-analyses of trial results. Plenary Lecture 1. San Antonio Breast Cancer Symposium, 2007.

212. Phillips E. Tamoxifen resistance in breast cancer: A proteomic approach / The University of Birmingham, 2011.
213. Rashid M.U. et al. German populations with infrequent CHEK2*1100delC and minor associations with early-onset and familial breast cancer // *European Journal of Cancer*. – 2005. – Vol. 41(18). – P. 2896–903.
214. Reding K.W. et al. Adjuvant systemic therapy for breast cancer in BRCA1/BRCA2 mutation carriers in a population-based study of risk of contralateral breast cancer // *Breast Cancer Research and Treatment*. – 2010. – Vol. 123(2). – P. 491–498.
215. Roa B.B. et al. Ashkenazi Jewish population frequencies for common mutations in BRCA1 and BRCA2 // *Nature Genetics*. – 1996. – Vol. 14(2). – P. 185–187.
216. Roché H. et al. Sequential adjuvant epirubicin-based and docetaxel chemotherapy for node-positive breast cancer patients: the FNCLCC PACS 01 Trial // *Journal of Clinical Oncology*. – 2006. – Vol. 24(36). – P. 5664–5671.
217. Symmans W.F. et al. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy // *Journal of Clinical Oncology*. – 2007. – Vol. 25(28). – P. 4414–4422.
218. Tan D. S. P. et al. Implications of BRCA1 and BRCA2 mutations for the efficacy of paclitaxel monotherapy in advanced ovarian cancer // *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. – 2013. – Vol. 49(6). – P. 1246–1253.
219. THE CHEK2 Breast Cancer Case-Control Consortium. CHEK2*1100delC and susceptibility to breast cancer: a collaborative analysis involving 10,860 breast cancer cases and 9,065 controls from 10 studies // *American Journal of Human Genetics*. – 2004. – Vol. 74(6). – P. 1175–1182.
220. Thull D.L., Vogel V.G. Recognition and Management of Hereditary Breast Cancer Syndromes // *The Oncologist*. – 2004. – Vol. 9(1). – P. 13–24.
221. Tonin P.N. Genes implicated in hereditary breast cancer syndromes // *Seminars in Surgical Oncology*. – 2000. – Vol. 18(4). – P. 281–286.

222. Tutt A. et al. Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and advanced breast cancer: a proof-of-concept trial // *Lancet*. – 2010. – Vol. 376(9737). – P. 235–244.
223. Tutt A. et al. The TNT trial. San Antonio Breast Cancer Symposium. Abstract S3-01. Presented December 11, 2014.
224. Verhoog L.C. et al. Large regional differences in the frequency of distinct BRCA1/BRCA2 mutations in 517 Dutch breast and/or ovarian cancer families // *European Journal of Cancer*. – 2001. – Vol. 37(16). – P. 2082–2090.
225. Weischer M. et al. Increased risk of breast cancer associated with CHEK2*1100delC // *Journal of Clinical Oncology*. – 2007. – Vol. 25(1). – P. 57–63.
226. Yang Y. et al. CHEK2 1100delC variant and breast cancer risk in Caucasians: a meta-analysis based on 25 studies with 29,154 cases and 37,064 controls // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. – 2012. – Vol. 13(7). – P. 3501–3505.
227. Zhou C., Smith J.L., Liu J. Role of BRCA1 in cellular resistance to paclitaxel and ionizing radiation in an ovarian cancer cell line carrying a defective BRCA1 // *Oncogene*. – 2003. – Vol. 22(16). – P. 2396–2404.
228. Семиглазов В.Ф. Неoadъювантное и адъювантное лечение рака молочной железы: учебное пособие / В. Ф. Семиглазов, В. В. Семиглазов, А. Е. Клетсель. – М.: МИА, 2008. – 288 с.