

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И РЕЦЕПТОРНЫЙ СТАТУС ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ И РАКА МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ

Цыганкова М.В.¹, Набока М.В.¹

¹ - федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Автор, ответственный за переписку:

Цыганкова Мария Вадимировна, студентка 611 группы лечебного факультета ФГБОУ ВО ОмГМУ Минздрава России, 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12. tsygankovva98@mail.ru,

Резюме. С позиции современных знаний рак молочной железы (РМЖ) рассматривается как системное полигенное заболевание, возникновение и развитие которого является результатом последовательных генетических изменений с появлением свойств бесконтрольной клеточной пролиферации, иммортализации и злокачественной трансформации, а также утратой ряда физиологических функций. Течение, прогноз, возможности лечения предопухоловой патологии и РМЖ напрямую зависят от их молекулярно-биологических свойств опухоли. В связи с этим, в последние годы в отечественной и зарубежной литературе уделяется особое внимание иммуногистохимическим и молекулярно-генетическим характеристикам РМЖ, при этом особое значение придается таким факторам, как определение рецепторов к эстрогену, прогестерону, HER-2/neu-статусу, пролиферативной активности Ki-67 и др. – так называемый рецепторный статус опухоли, который позволяет выявить молекулярно-генетические подтипы РМЖ, а значит, играет решающую роль в оценке перспективы и выборе тактики лечения. Тем не менее, нет достаточного количества данных о рецепторном статусе и роли генов клеточного деления, контроля пролиферативной активности (Ki-67, CYCLIN D1, B1, MYC и др.), дифференцировки (HER-2/neu), апоптоза (p53) при доброкачественных патологиях молочных желез (фиброзно-кистозная болезнь, внутрипротоковая папиллома, фиброаденомы), которые могли бы обладать ресурсом определения потенциальной злокачественности происходящих процессов в тканях молочной железы с возможностью широкого клинического применения. Определение потенциала злокачественной трансформации предопухоловых диспластических и пролиферативных процессов требует адекватной лечебной стратегии (оперативного вмешательства или консервативного лечения). Целью данной работы являлось рассмотрение значимости понимания молекулярных

процессов и генетических событий канцерогенеза, посредством которых РМЖ развивается из предшествующих поэтапных изменений, а также необходимости определения молекулярно-биологических маркеров предопухолевых, доброкачественных и злокачественных изменений молочных желез в практике врача клинициста, что потенциально могло бы направлять принятие клинических и терапевтических решений для пациенток с диспластическими и гиперпролиферативными заболеваниями, которые подвержены повышенному риску развития инвазивной карциномы молочной железы.

Ключевые слова: рецепторный статус, молекулярно-генетические особенности, канцерогенез, доброкачественные опухоли, рак молочных желез.

Список сокращений

МЖ – молочные железы

РМЖ – рак молочных желез

Введение. Рак молочных желёз (РМЖ) является результатом многочисленных мутационных событий, которые происходят в течение длительного периода времени и представляет множество проблем для исследователей, заинтересованных в изучении трансформации нормального эпителия молочной железы в злокачественное новообразование с использованием традиционных лабораторных методов, особенно в отношении характеристики переходных и предраковых состояний молочных желез (МЖ) [4, 21].

Благодаря стремительному развитию молекулярной биологии за счет появления новых технологий в настоящее время появилось огромное количество биологически значимых показателей, которые позволяют не только уточнять и обновлять представление о канцерогенезе, но и могут помочь в дифференциальной диагностике доброкачественных заболеваний, различных типов опухолевой патологии, прогнозе раннего РМЖ, а также развивать новые направления для

терапии онкологических заболеваний. Поэтому, одной из основных задач врача клинициста является понимание молекулярно-биологических процессов, происходящих в опухоли, благодаря которым представляется возможным определение наиболее значимых показателей или их комбинаций, что в последующем позволило бы подобрать оптимальную для каждого пациента схему лечения [5, 14, 21].

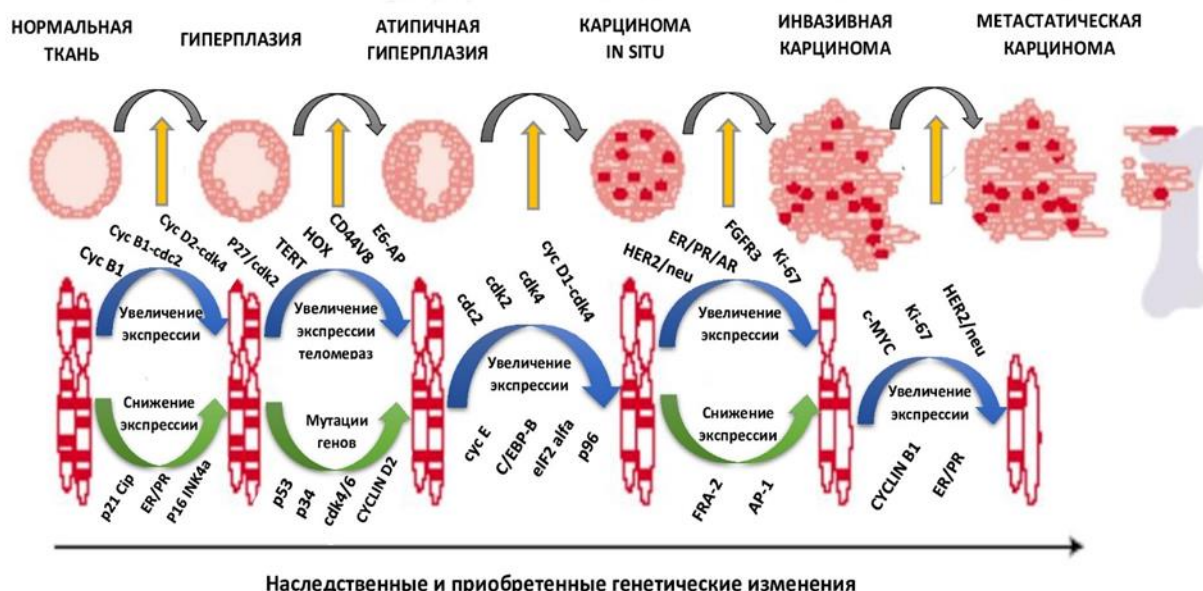
Основная часть. Впервые метод ПЦР-диагностики позволил выявить опухолевые клетки в клинических образцах мочи с мутацией гена p53 у пациентов с аналогичной мутацией в опухоли мочевого пузыря [49]. Позже было показано, что подобный подход может быть использован для диагностики широкого спектра опухолей других локализаций, в частности РМЖ. Так, исследование мутации гена p53 с гиперметилированием промоторов генов p16, 14-3-3 показали, что материалом для исследования могли быть использованы различные биологические жидкости и среды [10, 28, 30].

Доказано, что количество мутаций в геноме при раке молочных желез значительно больше в сравнении с нормальной тканью МЖ. Чаще всего они были отмечены в 4, 15 и 18 хромосомах и свидетельствуют о полигенных мутациях при РМЖ [51, 55]. Определение ключевых молекулярно-биологических и генетических маркеров может помочь для оценки риска малигнизации ткани МЖ в случаях с изменениями, подозрительными по результатам ультразвуковой диагностики или маммографии, а также развития риска местного рецидива после иссечения опухоли. Также экспрессия генов "фоновой" ткани молочной железы может быть предложена для оценки взаимодействия опухоль-окружающая ткань [3, 26, 63].

Существуют 2 основных теории канцерогенеза, согласно которым РМЖ способен

развиваться двумя путями: на фоне нормальных клеточных и тканевых структур, и при наличии уже существующих фоновых изменений с инициацией последовательных мутационных событий с участием генов клеточного деления и дифференцировки. На основании этого можно предположить, что в случаях предопухолевых изменений могли бы определяться аналогичные молекулярно-генетические маркеры, которые характерны для процессов злокачественной трансформации [18].

Поэтапный процесс трансформационных изменений в эпителии, сопровождающихся различными молекулярно-генетическими изменениями и морфологической трансформацией клеток можно представить в виде следующей схемы:



Как показано на схеме, реализация каждой стадии требует определенных моле-

кулярных изменений, при этом, как правило, необходимо от 3 и более независи-

мых случайных событий, связанных с генетическими изменениями в клетке или эпигенетическими изменениями регуляторов внутриклеточных процессов пролиферация и апоптоза клеток [32].

Одним из важных аспектов в дифференциальной диагностике злокачественных процессов в МЖ представляют заболевания, сопровождающиеся гиперпролиферативными процессами, поскольку типичные критерии для злокачественных заболеваний для них также характерны [59]. Среди пролиферативных состояний молочных желез выделяют фиброзно-кистозную болезнь (ФКБ), фиброаденомы различного строения, кисты, внутрипротоковые папилломы. Наиболее частым патологическим процессом в МЖ является ФКБ. Определение вероятности малигнизации в данных патологических процессах затруднительно, а порой невозможно без использования морфоиммуногистохимического исследований [35]. Однако, отсутствие стандартных молекулярно-биологических маркеров, способствующих раннему выявлению неопластического процесса, заставляет задуматься об актуальности их поиска в отношении онконастороженности пациенток с пролиферативными доброкачественными процессами МЖ [1].

На повестку дня встаёт вопрос: какими свойствами должны обладать опухолевые маркеры? По мнению исследователей в этой области, опухолевые маркеры должны коррелировать с размерами опухоли, а также обнаруживаться до клинического проявления онкологической патологии и ее рецидивов [10]. Поэтому включение определения характера молекулярно-генетических изменений в ткани МЖ в диагностический алгоритм позволит с большой долей вероятности проводить дифференциальную диагностику гиперпролиферативных заболеваний, а также давать оценку в отношении

прогноза и методов лечения таких пациенток [38].

Важно понимать, что изменения генетического аппарата самой клетки лежат в основе определения принадлежности опухоли к молекулярному подтипу РМЖ, а также особенностей ее фенотипических и морфологических проявлений. Динамика роста опухолевого узла, метастатический потенциал и клинические проявления зависят от активности генов-контроллеров апоптоза, пролиферативной активности, свойств подвижности и адгезии клеток на макроскопическом уровне. В настоящее время поиску и выявлению потенциальных маркеров, ответственных за оценку вышеперечисленных функций, уделено особое внимание [27, 37]. Это и протоонкогены, и онкогены, гормонзависимые белки, ферменты, рецепторы стероидных гормонов и многие другие, которые будут наиболее подробно рассмотрены в данной работе.

Среди основных генов контроля апоптоза выделяют ядерный белок p53. При различных повреждениях ДНК клетки происходит активация протеина, который временно останавливает клеточный цикл, способствуя восстановлению генетического аппарата поврежденной клетки, тем самым предотвращая появление мутаций и новых свойств. В случае чрезмерного повреждения ДНК и невозможности восстановления клетки, запускается p53-зависимый процесс апоптоза [34, 63]. Нарушение функционирования данного гена приводит к накоплению клеток с измененным геномом, которые в последующем могут обрести неопластические свойства. Экспрессия p53 используется в прогностических целях при диагностике раннего рака молочных желез, что может откры-

вать новые перспективы для его использования при диагностике предопухоловой патологии [41, 61].

Генами, отвечающими за контроль пролиферации клеток, являются ядерный белок Ki-67, CYCLIN B1, ген контроля транскрипции MYC и циклин-зависимый ингибитор киназы P16ink4A (p16) [19, 25]. Их основная функция – регуляция процессов, отвечающих за деление клеток, внутриклеточные метаболические процессы, пролиферацию и апоптоз [23]. Ki-67 и CYCLIN B1 экспрессируются только в тех клетках, которые находятся в процессе деления, соответственно сверхэкспрессия данных маркеров ведёт к увеличению пула делящихся клеток [40, 45]. Уровень Ki-67 и CYCLIN B1 значительно повышается в активно пролиферирующих тканях, что позволяет использовать их в диагностических целях и выборе тактики лечения при предопухоловой и злокачественной патологиях. Доказательством этого служат высокие уровни экспрессии Ki-67 и CYCLIN B1 при склеротических процессах в молочных железах и РМЖ [29, 54].

При нарушении регулирования работы гена MYC происходят процессы инициации малигнизации, а также прогрессии РМЖ [13, 43, 44]. Установлена взаимосвязь между генами BRCA1 и MYC: при потере нормальной функции BRCA1 происходит гиперэкспрессия MYC, поскольку в норме BRCA1 является его супрессором [60]. Также известно, что высокие уровни экспрессии MYC наиболее часто выявляются при агрессивных фенотипах РМЖ и часто коррелируют с плохим клиническим течением опухоли и негативным прогнозом.

Ген p16 оказывает ингибирующее сигнальное действие на клеточный цикл чрезмерно пролиферирующих клеток,

соответственно эпигенетические события и мутации p16 приводят к нарушению его функционирования и активному бесконтрольному делению клеток, что наблюдается в процессе канцерогенеза многих типов злокачественных опухолей, в том числе и при РМЖ [4, 6, 33].

Среди генов-супрессоров, играющих ключевую роль в онкогенезе МЖ, наиболее изучены гены BRCA1/BRCA2. Ген BRCA1 является хорошо известным фактором надзора за геномом, а также была обнаружена его важная роль в правильной дифференцировке эпителиальных клеток МЖ. BRCA1 в основном действует как опухолевый супрессор, а мутация BRCA1 коррелирует с повышенным риском РМЖ [46]. У носителей мутации BRCA1 блокирование дифференцировки клеток-предшественников может ассоциироваться с повышенной пролиферацией клеток, как это наблюдалось на нескольких моделях мышей [17, 57]. Анализируя маркеры клеточного строения МЖ, обнаруживается, что BRCA1 важен для дифференцировки базальных клеток-предшественников, потому что потеря BRCA1 блокирует этот процесс [32, 57].

Хотя общепризнано, что онкогенез, связанный с BRCA1 и BRCA2, в основном вызван повреждением ДНК и снижением стабильности генома, остаётся неизученным вопрос связи между мутациями генов BRCA1 и BRCA2 и возникновением рака преимущественно в эстрогенчувствительных тканях (молочные железы и яичники). Недавние исследования показали, что передача сигналов BRCA1 и ER (рецептор эстрогена) синергически регулирует пролиферацию и дифференцировку эпителиальных клеток МЖ, что даёт основания предполагать общий вклад мутаций гена BRCA1 и ER-сигналов в онкогенез МЖ и их непо-

средственное участие в дедифференцировке предрасположенных к раку эпителиальных клеток [32, 52, 57].

Наиболее важным наблюдением является усиленное подавление BRCA1 путём метилирования его промотора. Независимо от причин гиперметилирования (прямых или косвенных), подавление метилирования промотора BRCA1 может быть важной терапевтической возможностью или профилактической стратегией при РМЖ. Гиперметилирование промотора BRCA1 является эпигенетическим событием, которое может регулироваться статусом клеточного метаболизма [4, 26, 57].

Основным геном дифференцировки, участвующем в онкогенезе МЖ, является HER-2/neu - рецептор эпидермального фактора роста 2. HER2-neu может быть сверхэкспрессирован, амплифицирован или мутирован при различных формах РМЖ. Амплификация и гиперэкспрессия HER-2/neu наблюдаются в большинстве случаев рака молочных желез и имеет основное значение в канцерогенезе МЖ. Установлена взаимосвязь между высоким уровнем экспрессии HER-2/neu и рядом неблагоприятных прогностических факторов: размером опухоли, ER/PR-негативным рецепторным статусом, высокой степенью злокачественности, резистентностью к гормонотерапии, высокой вероятностью рецидивирования и снижением выживаемости в популяции [2, 4, 12, 33]. По литературным данным, экспрессия HER-2/neu отсутствует в нормальной ткани МЖ, при доброкачественных образованиях сверхэкспрессия HER-2/neu увеличивает риск развития РМЖ в 8 раз, при высокодифференцированном внутрипротоковом раке выявляется примерно в 15%, а при низкодифференцированном внутрипротоковом раке почти в 80% случаев, что служит прогностическим фактором

развития инвазивного РМЖ. Всё вышеперечисленное даёт основание включить определение HER-2/neu статуса в алгоритм диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований как важного звена в канцерогенезе молочных желез [37, 48, 50, 53].

Гормональный рецепторный статус в развитии канцерогенеза МЖ играет особую роль. В ткани МЖ эстрогены являются основными женскими половыми гормонами. Взаимодействие эстрогенов с их рецепторами (эстрогеновые рецепторы – ER) происходит в ядре клетки, приводит к пролиферативной активности и создаёт условия для активации транскрипции ER-зависимых генов и возникновения мутаций [37, 48, 50]. Большинство опухолей МЖ демонстрирует эстрогензависимый рост, преимущественно регулируемый двумя подтипами рецепторов эстрогена - α (ERα) и β (ERβ), которые являются продуктами разных генов и определяются в различных соотношениях. Несмотря на идентичность структуры, эти рецепторы обладают разными функциями: оба подтипа совместно экспрессируются в нормальных клетках МЖ, но при доброкачественных заболеваниях и РМЖ обычно наблюдается экспрессия одного при отсутствии другого [20, 47]. В опухолевых клетках экспрессия ERα увеличивается в несколько раз, а содержание ERβ уменьшается по сравнению с нормальной тканью, причем степень снижения уровня экспрессии ERβ зависит от степени пролиферации и дифференцировки трансформированной ткани. Таким образом, ERα в большей степени является основным регулятором эстрогензависимой пролиферации эпителиальных клеток МЖ, соответственно определение уровня экспрессии именно этого подтипа играет ключевую роль в выборе тактики лечения и прогнозе заболевания [8, 20, 52].

Существует связь между коэкспрессией ER и маркера Ki-67. При карциноме молочной железы он связан с ER α -негативностью, высокой степенью злокачественности и плохим прогнозом. Исследования показали, что ответ инвазивного ER α -положительного РМЖ на гормональную терапию был связан со снижением экспрессии Ki-67 [3, 62].

Также выявлена связь между взаимодействием ER и BRCA1. Ген-супрессор способен снижать активацию эстрогеновых рецепторов путём образования с ними комплекса. ER является субстратом активности фермента убиквитинлигазы BRCA1, а мутация сайтов убиквитинизации устраняет опосредованное BRCA1 ингибирование активности ER [9, 16, 26, 57]. Кроме того, BRCA1 способен ингибировать опосредованное P300-ацетилирование ER, тогда как ацетилирование ER с помощью фермента P300 важно для его трансактивации.

Гены, кодирующие рецепторы прогестерона на клетках МЖ играют непосредственную роль в процессе дифференцировки эпителия, соответственно уменьшение прогестероновых рецепторов (PR) на клеточных мембранах приводит к снижению чувствительности эпителиальных клеток к действию прогестерона и нарушению процессов дифференцировки. Отмечена особая роль прогестерона в развитии доброкачественных опухолей МЖ. Доказательством этому служат исследования уровня экспрессии рецепторов прогестерона A и B (PGA, PGV) в нормальной ткани МЖ и в ткани фиброаденомы у женщин в пременопаузе, которые показали высокий уровень экспрессии прогестероновых рецепторов в фиброаденоме во всех клинических случаях по сравнению с нормальной тканью [7, 42].

Установлено, что BRCA1 подавляет взаимодействующий синергитический эффект между ER и PR, приводит к снижению восприимчивости PR к прогестерону, следовательно, к онкогенному эффекту [32, 57, 58].

Рецептор андрогенов (AR) экспрессируется в большинстве случаев РМЖ, но его роль в гормональном канцерогенезе до конца не ясна. Обнаружено, что большинство AR-положительных клеток также являются ER-положительными, в другом случае около 10% клеток являются только AR-положительными, тогда как ER-положительные клетки встречаются редко [15, 22, 58]. Статус экспрессии AR и ER в инвазивных карциномах МЖ отражает статус их клеток-предшественников в долевыми единицах терминального протока. Большинство клеток просвета, положительных по рецепторам гормонов, являются AR+/ER+, около 10% AR+/ER-, и редко AR-/ER+ - картина распределения подобна тому, что наблюдалось в инвазивных карциномах. Это наблюдение указывает на то, что статус рецепторов гормонов в инвазивных карциномах, по-видимому, аналогичен статусу их потенциальных клеток-предшественников [11, 24, 39].

Данную теорию подтвердили Clarke R.V. и соавт., продемонстрировав, что клетки, положительные по стероидным рецепторам, также могут коэкспрессировать маркеры стволовых клеток, тем самым предполагая их потенциальную роль в канцерогенезе МЖ [22, 26, 32, 57].

Booth B.W. и Smith G.H. также показали, что ER/PR-положительные клетки просвета обладают функциями предшественников (стволовых клеток) [15, 20, 32, 36].

Таким образом, статус экспрессии AR, ER и PR в карциномах МЖ может быть предопределен таковым из популяций

клеток-предшественников. Процесс гормонального канцерогенеза может запускаться при нарушении гомеостаза нормальных эпителиальных клеток, включая активацию онкогенов и инактивацию генов-супрессоров опухолей. ER и/или AR могут играть свою роль в пролиферации опухолевых клеток в этом процессе, даже если они не могут быть канцерогенными сами по себе [33, 56, 58].

Определение гормонального рецепторного статуса доброкачественных опухолей и РМЖ играет решающую роль в отношении прогноза развития заболевания и разработки дальнейшего плана наблюдения и лечения пациентки. Тем не менее многочисленные исследования, в том числе проспективные и ретроспективные, показали, что статус рецепторов является динамичным и нестабильным на протяжении прогрессирования опухоли и на поздних стадиях заболевания [11, 24, 39].

Заключение. Развитие рака молочных желез является результатом генетических изменений, которые придают трансформированной клетке свойства пролиферации и иммортализации. На каждом этапе канцерогенеза происходят определенные молекулярно-генетические события, отследить которые явля-

ется важной задачей диагностики доброкачественных и злокачественных заболеваний молочных желез. Роль белков и генов Ki-67, BRCA1/2, p16, p53, CYCLIN B1 и D1, MYC крайне важна для процессов клеточного деления и метаболизма, дифференцировки, апоптоза, нарушение которых приводят к возникновению опухолевой трансформации внутренних структур молочных желез в злокачественные новообразования. Изменения гормонального рецепторного статуса доказало свою ключевую роль в патогенезе данного заболевания. Определение экспрессии HER-2/neu, рецепторов эстрогена, прогестерона и андрогена позволяет разделить опухоли МЖ на биологические подтипы и предоставить возможность прицельного воздействия на определённые этапы сигнального пути канцерогенеза, в том числе и на рецепторы стероидных гормонов. Попытка разделить РМЖ на молекулярные подтипы по-прежнему является предметом интенсивных исследований и доказала свою важность при проведении дифференциальной диагностики, прогноза и тактики лечения опухолевых заболеваний МЖ. Дальнейшие исследования в данном направлении позволят выработать единый алгоритм, нацеленный на выявление и дифференциальную диагностику ранних предопухолевых, опухолевых и злокачественных изменений в молочной железе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bosenko E.S., Kuchkina L.P., Luganskaya R.G. et al. Prognostic value of some proteins in the genesis of proliferative conditions and tumor diseases of the gland. 2017; 4: 4-9. Russian (Босенко Е.С., Кучкина Л.П., Луганская Р.Г. и соавт. Прогностическое значение некоторых белков в генезе пролиферативных состояний и опухолевых заболеваний молочной железы. Естественные науки. 2017; 4: 4-9).

2. Volchenko N.N., Savostikova M.V. Atlas of cytological and immunocytochemical tumor diagnostics.

- Moscow: Reprocentr M; 2010. pp. 61-65. Russian (Волченко Н.Н., Савостикова М.В. Атлас цитологической и иммуоцитохимической диагностики опухоли. М.: Репроцентр М; 2010. с. 61— 65).
3. Vysotskaya I.V., Letyagin V.P., Pogodina E.M. Molecular characteristics of premalignant breast lesions. *Journal of Modern Oncology*. 2017; 19(1): 5-8. Russian (Высоцкая И.В., Летягин В.П., Погодина Е.М. Молекулярные особенности предопухолевой патологии молочных желез. Современная онкология. 2017; 19(1): 5-8).
4. Gordeeva O.O., Zhukova L.G., Kolyadina I.V., Ganshina I.P. Assessment of the receptor status in primary breast cancer with synchronous locoregional metastases: prognostic and clinical role. *Siberian Journal of Oncology*. 2019; 18(2): 78-82. Russian (Гордеева О.О., Жукова Л.Г., Колядина И.В., Ганьшина И.П. Оценка рецепторного статуса первичной опухоли молочной железы и синхронных регионарных метастазов: какова клиническая и прогностическая роль? Сибирский онкологический журнал. 2019; 18 (2): 78-82) doi:10.21294/1814-4861-2019-18-2-78-82.
5. Grishina K.A., Muzaffarova T.A., Khaylenko V.A., Karpukhin A.V. Molecular genetic markers of breast cancer. *Tumors of female reproductive system*. 2016; 12(12): 36-42. Russian (Гришина, К.А., Музаффарова Т.А., Хайленко В.А., Карпукhin А.В. Молекулярно-генетические маркеры рака молочной железы. Опухоли женской репродуктивной системы. 2016; 12(12): 36-42). doi:10.17650/1994-4098-2016-12-3-36-42
6. Koljadina I.V., Poddubnaja I.V., CJH. van de Velde et al. Prognostic value of p53 expression in patients with stage I breast cancer. *Journal of Modern Oncology*. 2013; 15(2): 17-21. Russian (Колядина И.В., Поддубная И.В., CJH. van de Velde исоавт. Прогностическое значение экспрессии p53 у больных раком молочной железы I стадии. Современная онкология. 2013; 15(2): 17-21).
7. Lukavenko I.M., Andrijushhenko V.V., Kononenko N.G. The clinical significance of the expression of estrogen, progesterone and mammaglobin receptors in precancerous breast pathology in the practice of a mammary surgeon. *Journal of Clinical and Experimental Medical Researches*. 2013; 1(1): 51-54. Russian (Лукавенко И.М., Андриященко В.В., Кононенко Н.Г. Клиническое значение экспрессии рецепторов эстрогена, прогестерона и маммаглобина при предопухолевой патологии молочных желез в практике хирурга-маммолога. Журнал клінічних та експериментальних медичних досліджень. 2013; 1: 51-54).
8. Savostikova M.V. Immunocytochemical determination of estrogen α and progesterone receptors in benign breast cells. *Onkoginekologija*. 2013; 3: 48. Russian (Савостикова М.В. Иммуоцитохимическое определение рецепторов эстрогена α и прогестерона в клетках доброкачественных образований молочной железы. Онкогинекология. 2013; 3: 48).
9. Savostikova M.V., Payanidi Yu.G., Zhordania K.I. Immunocytochemical examination of prognostic factors for benign breast diseases. *Problemy reprodukcii*. 2014; 5: 26-30. Russian (Савостикова М.В., Паяниди Ю.Г., Жордания К.И. Иммуоцитохимическое исследование некоторых факторов прогноза при доброкачественных образованиях молочной железы. Проблемы репродукции. 2014; 5: 26-30).
10. Sergeeva N.S., Marshutina N.V., Solohina M.P. Modern concepts of serological tumor-associated markers and their place in oncology. 2014; 1(1). Russian (Сергеева Н.С., Маршутина Н.В., Солохина М.П. Современные представления о серологических опухолеассоциированных маркерах и их месте в онкологии. Успехи молекулярной биологии. 2014; 1(1)).
11. Amir E., Clemons M., Purdie C.A. et al. Tissue confirmation of disease recurrence in breast cancer patients: pooled analysis of multi-centre, multi-disciplinary prospective studies. *Cancer Treat. Rev*. 2012;38(6):708–714. doi:10.1016/j.ctrv.2011.11.006
12. Baselga J., Bradbury I., Eidtmann H. et al. Lapatinib with trastuzumab for HER2- positive early breast cancer (NeoALTTO): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet*. 2012;379:633–640. doi:10.1016/s0140-6736(11)61847-3
13. Bazarov A.V., Yaswen P. Who is in the driver's seat in 8p12 amplifications? ZNF703 in luminal B breast tumors. *Breast Cancer Res*. 2011;13(3):308. doi:10.1186/bcr2873
14. Bleyer A., Welch H.W. Effect of Three Decades of Screening Mammography on Breast-Cancer Incidence. *N Engl J Med*. 2012;367(21):1998-2005. doi:10.1056/nejmoa1206809
15. Booth B.W., Smith G.H. Estrogen receptor-alpha and progesterone receptor are expressed in label-retaining mammary epithelial cells that divide asymmetrically and retain their template DNA strands. *Breast Cancer Res*. 2006;8:R49. doi:10.1186/bcr1538

16. Branchini G., Schneider L., Cericatto R. et al. Progesterone receptors A and B and estrogen receptor alpha expression in normal breast tissue and fibroadenomas. *Endocrine*. 2009;35(3):459-466. doi:10.1007/s12020-009-9176-0
17. Burga L.N., Tung N.M., Troyan S.L. et al. Altered proliferation and differentiation properties of primary mammary epithelial cells from BRCA1 mutation carriers. *Cancer res*. 2009;69:1273-1278. doi:10.1158/0008-5472.CAN-08-2954.
18. Cardiff R.D., Borowsky A.D. Precancer: sequentially acquired or predetermined? *Toxicol. Pathol*. 2009;38(1):171-179. doi:10.1177/0192623309356447
19. Chae S.W., Sohn J.H., Kim D.H. et al. Overexpressions of Cyclin B1, cdc2, p16 and p53 in human breast cancer: the clinicopathologic correlations and prognostic implications. *Yonsei Med. J*. 2011;52(3):445-453. doi:10.3349/ymj.2011.52.3.445
20. Chantzi N.I., Palaiologou M., Stylianidou A. et al. Estrogen receptor β 2 is inversely correlated with Ki 67 in hyperplastic and noninvasive neoplastic breast lesions. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2014;140:1057-1066. doi:10.1007/s00432-014-1652-0
21. Chapa J., An G., Kulkarni S.A. Examining the Relationship between Pre-Malignant Breast Lesions, Carcinogenesis and Tumor Evolution in the Mammary Epithelium Using an Agent-Based Model. *PLoS One*. 2016;11(3):e0152298. doi:10.1371/journal.pone.0152298
22. Clarke R.B., Spence K., Anderson E. et al. A putative human breast stem cell population is enriched for steroid receptor-positive cells. *Dev Biol*. 2005;277(2):443-456. doi:10.1016/j.ydbio.2004.07.044
23. Dedić Plavetić N., Jakić-Razumović J., Kulić A., Vrbanc D. Prognostic value of proliferation markers expression in breast cancer. *Med Oncol*. 2013;30(2):523. doi:10.1007/s12032-013-0523-x
24. Dieci M.V., Barbieri E., Piacentini F. et al. Discordance in receptor status between primary and recurrent breast cancer has a prognostic impact: a single institution analysis. *Ann. Oncol*. 2013;24:101-108. doi:10.1093/annonc/mds248
25. Ding K., Li W., Zou Z. et al. CCNB1 is a prognostic biomarker for ER+ breast cancer. *Med Hypotheses*. 2014;83(3):359-364. doi:10.1016/j.mehy.2014.06.013
26. Esserman L.J., Yau C., Thompson C.K. et al. Use of Molecular Tools to Identify Patients With Indolent Breast Cancers With Ultralow Risk Over 2 Decades. *Jama Oncology*. 2017;3(11):1503-1509. doi:10.1001/jamaoncol.2017.1261
27. Giuliano A.E., Hunt K.K., Ballman K.V. Axillary dissection versus no axillary dissection in women with invasive breast cancer and sentinel node metastasis. *JAMA*. 2011;305(6):569-575. doi:10.1001/jama.2011.90
28. Gonzalez-Angulo A.M., Ferrer-Lozano J., Stemke-Hale K. et al. PI3K Pathway Mutations and PTEN Levels in Primary and Metastatic Breast Cancer. *Mol Cancer*. 2011;10(6):1093-1101. doi:10.1158/1535-7163.mct-10-1089
29. Green A.R., Aleskandarany M.A., Agarwal D. et al. MYC functions are specific in biological subtypes of breast cancer and confers resistance to endocrine therapy in luminal tumours. *Br J Cancer*. 2016;114:917-928.
30. Jobard E.A., Pontoizeau C., Blaise B.J. et al. Serum nuclear magnetic resonance-based metabolic signature of advanced metastatic human breast cancer. *Cancer Lett*. 2014;343(1):33-41. doi:10.1016/j.canlet.2013.09.011
31. Kalinsky K., Lim E.A., Andreopoulou E. et al. Increased expression of tumor proliferation genes in Hispanic women with early-stage breast cancer. *Cancer Invest*. 2014;32(9):439-444. doi:10.3109/07357907.2014.958232
32. Kato S., Lippman S.M., Flaherty K.T., Kurzrock R. The Conundrum of Genetic “Drivers” in Benign Conditions. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2016;108(8):djwo36. doi: 10.1093/jnci/djwo36
33. Khazai L., Rosa M. Use of Immunohistochemical Stains in Epithelial Lesions of the Breast. *Cancer Control*. 2015;22(2):220-225. doi:10.1177/107327481502200214
34. Kontzoglou K., Palla V., Karaolanis G. et al. Correlation between Ki67 and breast cancer prognosis. *Oncology*. 2013;84(4):219-225. doi:10.1159/000346475
35. Kumar G.L., Rudbeck L. Immunohistochemical methods. In.: Key M. Immunohistochemical staining methods. A guide. USA: Dako; 2011. pp. 91-97.
36. Le A., Lane A.N., Hamaker M. et al. Glucose-independent glutamine metabolism via TCA cycling for proliferation and survival in B cells. *Cell Metab*. 2012;15:110-121. doi:10.1016/j.cmet.2011.12.009.

37. Lee H.J., Kim J.Y., Park S.Y. et al. Clinicopathologic Significance of the Intratumoral Heterogeneity of HER2 Gene Amplification in HER2-Positive Breast Cancer Patients Treated With Adjuvant Trastuzumab. *Am J Clin Pathol.* 2015;144(4):570-578. doi:10.1309/ajcp51hcgpopwscy
38. Li R., Campos J., Iida J. A Gene Regulatory Program in Human Breast Cancer. *Genetics.* 2015;201(4):1341-1348. doi:10.1534/genetics.115.180125
39. Lindström L.S., Karlsson E., Wilking U.M. et al. Clinically used breast cancer markers such as estrogen receptor, progesterone receptor, and human epidermal growth factor receptor 2 are unstable throughout tumor progression. *J. Clin. Oncol.* 2012;30(21):2601–2608. doi:10.1200/jco.2011.37.2482
40. Mao X.Y., Fan C.F., Wei J. et al. Increased N-myc downstream-regulated gene 1 expression is associated with breast atypia-to-carcinoma progression. *Tumour Biol.* 2011;32:1271-1276. doi:10.1007/s13277-011-0232-z
41. Nassar A., Hoskin T.L., Stallings-Mann M.L. et al. Ki-67 expression in sclerosing adenosis and adjacent normal breast terminal ductal lobular units: a nested case-control study from the Mayo Benign Breast Disease Cohort. *Breast Cancer Res. Treat.* 2015;151(1):89-97. doi:10.1007/s10549-015-3370-y
42. Obr A.E., Edwards D.P. The biology of progesterone receptor in the normal mammary gland and in breast cancer. *Mol Cell Endocrinol.* 2012;357(1-2):4-17. doi:10.1016/j.mce.2011.10.030
43. Pape-Zambito D., Jiang Z., Wu H. et al. Identifying a highly-aggressive DCIS subgroup by studying intra-individual DCIS heterogeneity among invasive breast cancer patients. *PLoS One.* 2014;9(6):e100488. doi:10.1371/journal.pone.0100488
44. Peurala E., Koivunen P., Haapasaari K.M. et al. The prognostic significance and value of cyclin D1, CDK4 and p16 in human breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2013;15(1):R5. doi:10.1186/bcr3376
45. Ren J., Jin F., Yu Z. et al. MYC overexpression and poor prognosis in sporadic breast cancer with BRCA1 deficiency. *Tumour Biol.* 2013;34(6):3945-3958. doi:10.1007/s13277-013-0983-9
46. Rohan T.E., Hartwick W., Miller A.B., Kandel R.A. Immunohistochemical Detection of c-erbB-2 and p53 in Benign Breast Disease and Breast Cancer Risk. *J National Cancer Institute.* 1998; 90(17):1262–1269. doi:10.1093/jnci/90.17.1262
47. Sasaki Y., Miki Y., Hirakawa H. et al. Immunolocalisation of estrogen-producing and metabolizing enzymes in benign breast disease: comparison with normal breast and breast carcinoma. *Cancer Sci.* 2010;101(10):2286-2292. doi:10.1111/j.1349-7006.2010.01673.x
48. Saunus J.M., Quinn M.C., Patch A.M. Integrated genomic and transcriptomic analysis of human brain metastases identifies alterations of potential clinical significance. *J Pathol.* 2015;237(3):363-378. doi:10.1002/path.4583
49. Sidransky D., Von Eschenbach A., Tsai Y.C. et al. Identification of p53 gene mutations in bladder cancers and urine samples. *Science.* – 1991;252(5006):706-709.
50. Slamon D., Eiermann W., Robert N. et al. Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med.* 2011;365(14):1273– 1283. doi:10.1056/nejmoa0910383
51. Song X.X., Song X.D., Wang M. et al. Integration of gene expression data and genetic variations involved in breast cancer. *J BUON.* 2016;21(1):61-69.
52. Spranklin L., Nair S. Discordance of receptor status in breast cancer throughout tumor progression and the associated prognostic implications: A case report and review of the literature. *Cancer Treatment Communications.* 2016;5:36–38.
53. Stark A., Hulka B.S., Joens S. et al. Her-2 new Amplification in Benign Breast Disease and the Risk of Subsequent Breast Cancer. *J Clin Oncol.* 2000;18(2):267–276. doi:10.1200/jco.2000.18.2.267
54. Stine Z.E., Walton Z.E., Altman B.J. et al. MYC, Metabolism, and Cancer. *Cancer Discov.* 2015;5(10):1024-1039. doi:10.1158/2159-8290.cd-15-0507
55. Suo C., Hrydziuszko O., Lee D. et al. Integration of somatic mutation, expression and functional data reveals potential driver genes predictive of breast cancer survival. *Bioinformatics.* 2015;31(16):2607-2613. doi:10.1093/bioinformatics/btv164
56. Wang C., Mayer J.A., Mazumdar A. et al. Estrogen induces c-myc gene expression via an upstream enhancer activated by the estrogen receptor and the AP-1 transcription factor. *Molecular endocrinology.* 2011;25:1527-1538. doi:10.1210/me.2011-1037

57. Wang L., Di L.-J. BRCA1 And Estrogen/Estrogen Receptor In Breast Cancer: Where They Interact? *Int. J. Biol. Sci.* 2014;10(5):566-575. doi:10.7150/ijbs.8579
58. Wang X., Yarid N., McMahon L. et al. Expression of Androgen Receptor and Its Association With Estrogen Receptor and Androgen Receptor Downstream Proteins in Normal/Benign Breast Luminal Epithelium. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2014;22(7):498-504. doi:10.1097/pai.0b013e3182a20933
59. Weissenbacher T.M., Zschage M., Janni W. et al. Multicentric and multifocal versus unifocal breast cancer: is the tumornode-metastasis classification justified? *Breast Cancer Res Treat.* 2010;122(1):27-34. doi:10.1007/s10549-010-0917-9
60. Witkiewicz A.K., Ertel A., McFalls J. et al. RB-Pathway Disruption Is Associated with Improved Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer. *Clin Cancer Res.* 2012;18(18):5110-5122. doi:10.1158/1078-0432.ccr-12-0903
61. Yang X.Q., Wang F.B., Chen C. et al. High Ki-67 expression is a poor prognostic indicator of 5-year recurrence free survival in patients with invasive breast cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011;12(11):3101-3105.
62. Zhao Z., Qiao J.X., Shetty A. et al. Regulation of estrogen receptor signaling in breast carcinogenesis and breast cancer therapy. *Cell. Mol. Life. Sci.* 2014;71(8): 1549. doi:10.1007/s00018-013-1376-3
63. Zubor P., Hatok J., Moricova P. et al. Gene expression profiling of histologically normal breast tissue in females with human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer. *Mol Med Rep.* 2015;11(2):1421-1427. doi:10.3892/mmr.2014.2863