

билитации в тесном взаимодействии педагогов и медицинских работников.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Березина Н.О., Лашнева И.П.* Гигиенические аспекты тестирования физической подготовленности детей 4-7 лет // Гигиена и санитария: двухмесячный научно-практический журнал. – 2005. – № 2. – С. 51–54.
2. *Богомильский М.Р., Орлова О.* Анатомия, физиология и патология органов слуха и речи. – М.: КМК, 2008. – 399 с.
3. *Волкова Г.А.* Методика психолого-логопедического обследования детей с нарушениями речи. Вопросы дифференциальной диагностики: Учеб.-метод. пособие. – СПб.: Детство-Пресс, 2006. – 144 с.
4. *Гуткина Н.И.* Психологическая готовность к школе. – М.: Академический Проект, 2000. – 3-е изд., перераб. и доп. – С. 63–66.
5. *Ильин Е.П.* Психофизиология состояний человека. – СПб.: Питер, 2005. – 412 с.
6. *Калягин В.А., Овчинникова Т.С.* Логопсихология: учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений. – М.: Академия, 2006. – 320 с.
7. *Колосова С.Л.* Детская агрессия. – СПб.: Питер, 2004. – 224 с.
8. *Костина М.Л.* Методы диагностики тревожности. – СПб.: Речь, 2006. – 200 с.
9. *Кучма В.Р.* Медико-профилактические основы обучения и воспитания детей. Рук-во для мед. и пед. работников образоват. и лечебно-проф. учреждений, санитарно-эпидем. службы. – М.: Гэотар-Медиа, 2005. – 528 с.
10. *Немов Р.С.* Психология: Учеб. для студ. высш. пед. учеб. заведений: В 3 кн. – 4-е изд. – М.: Гуманит. изд. центр ВЛАДОС, 2003. – Кн. 1: Общие основы психологии. – 688 с.
11. *Реброва О.Ю.* Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: МедиаСфера, 2003. – 312 с.
12. *Рзянкина М.Ф.* Здоровье детей в образовательных учреждениях. Организация и контроль: учеб. пособие. – 2-е изд. – Ростов/Д.: Феникс, 2007. – 375 с.
13. *Цыганюк И.И.* Цветовая психодиагностика. Модификация полного клинического теста Люшера. – СПб.: Речь, 2007. – 264 с.
14. *Черных А.М., Губарев Е.А., Резцова Е.Ю., Горяинова И.Л.* Методы исследования физического развития детей и подростков (региональные показатели физического развития детей и подростков Курской области) // Учеб. пособие. – Курск: КГМУ, 2009. – 192 с.

УДК 616-006.66

АНГИОГЕНЕЗ В РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

© Должиков А.А., *Чурносов М.И., Быков П.М., *Луговая О.А., Мухина Т.С.,
Савостина Л.А., Файнова И.А.

Научно-образовательный центр прикладной иммуноморфологии и цитогенетики, Белгород;
*кафедра медико-биологических дисциплин
Белгородского государственного университета, Белгород;
**отделение онкоморфологии Белгородского патологоанатомического бюро, Белгород
E-mail: ihcdaa@mail.ru

Обзор литературы содержит современные сведения о роли ангиогенеза в раке молочной железы, прогностическом значении определения степени васкуляризации опухолей, основных механизмах опухолевого неоангиогенеза.

Ключевые слова: рак молочной железы, ангиогенез, клиническое значение.

ANGIOGENESIS IN BREAST CARCINOMA: CLINICO-MORPHOLOGICAL AND PROGNOSTIC ASPECTS

Dolzhikov A.A., Churnosov M.I., Bykov P.M., Lugovaya O.A., Mukhina T.S., Savostina L.A., Faynova I.A.

Scientific-educational Centre of Applied Immunomorphology & Cytogenetic, Belgorod;

Department of Medico-biological Sciences of the Belgorod State University, Belgorod;

Oncomorphology Section of the Regional Pathology Hospital, Belgorod

The review contains the modern information about the role of angiogenesis in breast carcinoma, prognostic importance of the detection of vascularisation degree, the basic mechanisms of tumor angiogenesis.

Keywords: breast cancer, angiogenesis, clinical importance.

Первое место в структуре онкопатологии у женщин неизменно занимает рак молочной железы (РМЖ). Ежегодный прирост числа вновь регистрируемых случаев в большинстве Европейских стран составляет 1–2%. Ежегодно в мире регистрируется более 400 000 летальных исходов от рака молочной железы [62]. По опубликованным официальным данным [1], стандартизованный (на 100 000 населения) показатель заболеваемости РМЖ в 2007 году в России составил 42,7. К настоящему времени убедительно доказана биологическая, морфологическая и клиническая гетерогенность РМЖ, выявлены ведущие экзо- и эндогенные факторы риска заболевания [6]. Основными прогностическими критериями являются стадия опухоли, размер, гистологическая степень злокачественности, рецепторный и Her2/neu статус, наличие метастазов в регионарных лимфоузлах [6, 21, 22, 30-33]. Последний критерий является наиболее значимым. Однако даже при отсутствии поражения лимфоузлов у 20 – 30% больных развиваются отдаленные метастазы [7, 60]. Значительное число исследований ориентировано на получение данных, необходимых для совершенствования методов молекулярной терапии опухолей с помощью таргетных препаратов, действующих на строго определенные свойства опухолевых клеток и их тканевого окружения. К разряду таких свойств относится степень развитости сосудистой сети в опухолях. С активностью

ангиогенеза в опухоли в определенной степени связана вероятность ее диссеминации с появлением циркулирующих опухолевых клеток и микрометастазов в костный мозг [12, 14-17, 36, 41, 47, 57, 61, 66, 81].

Представления о роли ангиогенеза (неоангиогенеза) в прогрессии опухолей и развитии метастазов заложены трудами J. Folkman [34] еще в 60-е – 70-е годы прошлого века. Сейчас неоангиогенез в опухолях общепризнан как одна из наиболее значимых стадий опухолевой прогрессии, а усилия фармакотерапии направлены на совершенствование препаратов-блокаторов роста сосудистого эндотелия. Среди методов клинико-морфологической оценки биологического потенциала и определении прогноза рака молочной железы оценка степени васкуляризации опухолей пока не получила статус лечебно-диагностического стандарта, хотя имеющиеся многочисленные исследования свидетельствуют о необходимости оценки данного показателя при РМЖ [11, 39, 40, 56, 63, 65, 69, 74-77, 82]. В отечественной литературе данной проблеме посвящены единичные обзорные статьи [4]. В данном обзоре мы основное внимание уделили клинико-морфологическим, патогенетическим и прогностическим аспектам.

Важным при оценке степени васкуляризации опухолей является использование достоверных, стандартизованных и воспроизводимых методов. Возможности оценки плотности сосудистой сети

предоставляет, в первую очередь, морфологическое исследование операционного материала. В дооперационном периоде эта цель может быть достигнута методами лучевой диагностики. При применении магнитно-резонансной томографии с болюсным усилением и последующим компьютерным анализом изображений [38] выявлены диагностически значимые особенности сосудистых сетей в неинвазивном протоковом раке, инвазивном протоковом раке, фибро-кистозных изменениях и фиброаденомах молочной железы. Инвазивный протоковый рак отличается асимметричным и гетерогенным распределением показателей плотности сосудистого русла, интенсивности кровотока и проницаемости капилляров с наличием «горячих пятен» («hot spots»). При неинвазивном протоковом раке (DCIS) высокой градации также выявлены отличия от доброкачественных изменений, которые, однако, оказались мало достоверными из-за небольшого числа наблюдений; при DCIS низкой градации диагностически достоверных признаков не получено. Неравномерность усиления контраста, более выраженная при угревидном типе DCIS, выявлена и в других исследованиях [73]. Высказывается предположение о критическом значении ангиогенеза в прогрессировании DCIS низких градаций, в DCIS высоких градаций и инвазивную карциному. Показатели плотности сосудов в фиброаденомах ниже, чем в карциномах. Однако имеющиеся результаты противоречивы. Имеются данные как о меньшей плотности сосудистой сети в фиброаденомах в сопоставлении с внутрипротоковыми карциномами [38], так и об отсутствии отличий [78]. Очевидной причиной разночтений в получаемых результатах является неоднородность структуры фиброаденом: в образованиях с большей долей фиброзного компонента («старых» фиброаденомах) плотность сосудистой сети меньше, чем в фиброаденомах с высокой долей растущего эпителиального компонента («молодых» фиброаденомах). Показатели интенсивности кровотока на входе в капиллярное русло оказались малоинформативными для дифференциальной диагностики доброкачественных изменений и карцином. Значимой оказалась интенсивность выхода кровотока: ее статистические показатели ниже в доброкачественных образованиях в сравнении с внутрипротоковыми карциномами [38]. Установлено, что значимое усиление кровотока, по данным магнитно-резонансной томографии с контрастированием [55], происходит при диаметре опухолевых узлов более 2 см.

При морфологическом исследовании ангиогенеза в опухолях первостепенное значение имеют использование адекватных методов детекции сосудов, стандартизация исследуемых участков

(центр, периферия опухолевого узла, гистологически различные участки), метод получения и оценки количественных показателей. Несмотря на достаточно высокую информативность рутинного гистологического исследования, предпочтительным является иммуногистохимическое выявление сосудистого эндотелия с помощью антител против антигенов CD34, CD31, Factor VIII (Von Willebrand), CD105. Общие эндотелиальные маркеры (CD31, CD34, Factor VIII) не позволяют отличить предсуществующие сосуды от новообразованных, возможно это с помощью выявления экспрессии CD105, характерного для ангиогенных участков. Стандартом количественной оценки плотности сосудистой сети при световой микроскопии считается метод Chalkley [42, 43, 58, 59, 71, 72]. Его суть состоит в выделении под малым увеличением участков наибольшей плотности сосудов с последующим подсчетом в 3 таких участках числа сосудистых профилей, попадающих на точки морфометрической сетки (сетка из 25 точек с площадью при увеличении $\times 250$ равной $0,196 \text{ мм}^2$). Принципиально метод является адаптацией рутинной морфометрии с использованием окулярных сеток для анализа васкуляризации опухолей. Предварительные этапы: общая оценка препарата, выделение областей изучения - являются субъективными. Поэтому предпочтительны методы автоматизированного компьютерного анализа изображений [70], которые позволяют выявлять значительно большее число показателей: диаметры сосудов, их удельная площадь, периметры, межсосудистые расстояния, тип распределения. Другим методическим аспектом является выработка шкал оценки сосудистого русла, которые для каждого гистологического варианта опухоли могут оказаться индивидуальными [29]. Также важна правильная интерпретация получаемых данных. В частности, удельное количество сосудов не свидетельствует об интенсивности ангиогенеза и функциональном состоянии эндотелия, для этого необходимо выявление маркеров пролиферативной активности, что возможно с использованием техники двойного иммуномечення. Тем не менее при использовании подсчета по Chalkley неоднократно получены результаты, свидетельствующие о значении количества сосудов в участках визуальной наибольшей васкуляризации опухоли в определении прогноза заболевания. Количество сосудов прямо коррелирует с размером опухолевых узлов, степенью гистологической злокачественности, наличием метастазов в регионарные лимфоузлы [42, 43]. При этом статус лимфатических узлов является независимым высоко значимым прогностическим показателем. Риск летального исхода в группе с наличием метастазов в лимфатические узлы возрастает

на 57% при показателе Chalkley 5 – 7, а при показателе больше 7 возрастает на 125%. В других исследованиях также установлено 70% возрастание риска летального исхода с повышением категории по Chalkley [35, 37]. При отсутствии поражения лимфатических узлов летальный риск практически одинаков вне зависимости от показателя Chalkley и близок к таковому при наличии метастазов в лимфоузлах и показателе не более 5. Это может свидетельствовать о критической роли сочетания усиленного ангиогенеза с наличием метастатического клона в опухоли.

Степень васкуляризации опухолей, комплексно оцениваемая по экспрессии CD34 и CD105, с учетом выявления диссеминированных опухолевых клеток является высоко информативным показателем наличия сосудистой инвазии [27]. Как уже отмечено, CD34, будучи общим эндотелиальным маркером, дает информацию о всех сосудах в опухоли – предсуществующих и новообразованных. Дискриминация этих двух категорий возможна при использовании маркера активированных к пролиферации эндотелиоцитов – антигена CD105 [28, 50]. Установлено неблагоприятное прогностическое значение высокой степени васкуляризации первичной опухоли у пациентов с отсутствием поражения лимфатических узлов, не получавших адъювантную терапию [27]. Степень васкуляризации, оцениваемая как по CD34, так и CD105, имеет прогностическое значение для безрецидивной выживаемости, оценка по CD34 коррелирует со специфической выживаемостью [27, 50, 59]. Практически значимые результаты получены при сопоставлении показателей ангиогенеза и наличия костномозговых метастазов. Ассоциация высокой плотности сосудистой сети (оценка по CD34) с костномозговыми метастазами является неблагоприятным прогностическим показателем. При низкой плотности сосудов наличие костномозговых метастазов не являлось прогностическим показателем. В противоположность этому наличие костномозговых метастазов является неблагоприятным прогностическим показателем как в группе с низким уровнем экспрессии CD105, так и с высоким. Данные о связи ангиогенеза в первичной опухоли с вероятностью костномозговой диссеминации неоднозначны. В ряде работ выявлена высокая степень ассоциации данных факторов [36], в других такая зависимость найдена только при дольковом РМЖ [27]. Объясняется это тем, что интенсивная васкуляризация с высокой площадью контакта опухолевых клеток с сосудистыми стенками является необходимым, но недостаточным условием для метастазирования, включающего помимо обязательного формирования метастатического клона целый каскад тканевых изменений, способствующих инвазивности

опухоли. Тем не менее определение степени васкуляризации первичной опухоли может иметь значение для выделения группы риска по наличию костномозговых метастазов (с высокой плотностью сосудистой сети) с последующей индивидуализацией диагностической и лечебной тактики.

Прогностическое значение CD105 было продемонстрировано как в материале свежих замороженных тканей, так и при использовании стандартной парафиновой заливки [23, 26, 83]. Выявлена большая прогностическая информативность экспрессии CD105, чем оценка всех сосудов с помощью пан-эндотелиальных маркеров.

Ангиогенез является как гетерогенным, так и гетерохронным в пределах одной опухоли и тесно связан как с биологическими особенностями опухолевых клеток и их стромального окружения, как и с состоянием периваскулярного (перитуморного) окружения. Заслуживающая внимания концепция предложена J. Tomlinson et al. [67] при сопоставлении прогностического значения ангиогенеза в карциномах и саркомах. В саркомах ангиогенез не имеет прогностического значения, а распределение сосудов отличается относительной равномерностью. Карциномы характеризуются неравномерностью ангиогенеза с наличием точек «взрыва» ангиогенной активности. Отличия объясняются разной структурной организацией тканевых регионов в саркомах и карциномах. В саркомах сосуды находятся в связи с одним тканевым компартментом – злокачественными клетками мезенхимальной природы. В карциномах же присутствуют два компартмента: злокачественный эпителиальный и стромальный, поэтому рост сосудов определяется балансом между ангиогенными факторами и ингибиторами роста сосудов с образованием точек «взрыва» в местах преобладания ангиогенных стимулов. К ангиогенным факторам относятся фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF), основной фактор роста фибробластов (bFGF), трансформирующий фактор роста- α (TGF- α), трансформирующий фактор роста- β (TGF- β), фактор некроза опухоли (TNF- α), тромбоцитарный фактор роста эндотелия (PD-ECGF), колониестимулирующий фактор гранулоцитов и моноцитов (GM-CSF), плацентарный фактор роста (PLGF), интерлейкин-8 (IL-8), ангиопозитин-1 (Ang-1), ангиопозитин-2 (Ang-2) [5]. Ингибиторами являются тромбоспондин, интерферон- α , тканевой ингибитор металлопротеиназы 1 типа. Активность последнего выявлена методом *in situ* гибридизации в стромальных фибробластах рака молочной железы и не выявлялась в опухолевых клетках. Таким образом, стромальные регионы являются участками преобладания ингибиторов ангиогенеза с низкой степенью васкуляри-

зации, а в непосредственной близости к опухолевым элементам преобладает влияние ангиогенных факторов.

Стимуляция ангиогенеза может быть следствием аутокринной/паракринной секреции соматотропного гормона в РМЖ, что продемонстрировано в культурах опухолевых клеток [19], а также инсулин-подобных факторов роста [18]. Зависимость ангиогенеза от эстрогенов неоднозначна. Имеются данные как об ассоциации большей васкуляризации опухолей с прогностически неблагоприятным рецептор-негативным статусом [49], так и полученные в эксперименте доказательства гормональной зависимости неоангиогенеза в РМЖ [45]. Различные результаты получены при изучении циркулирующих (плазменных, сывороточных) и тканевых форм VEGF. Уровень циркулирующего VEGF повышается при лечении тамоксифеном, не связан с клинико-морфологическими параметрами опухоли, включая плотность микрососудов и тканевую экспрессию VEGF [8]. Гиперэкспрессия рецепторов эпидермального фактора роста II типа (Her2/neu) сопровождается усилением опухолевого неоангиогенеза [48].

Помимо гуморальных факторов регуляции ангиогенеза существенное значение имеет микроокружение кровеносных сосудов, в частности, перичитарные элементы. Установлено, что опухоли с различной выраженностью ангиогенеза существенно отличаются по степени вовлечения перичитов в очагах васкуляризации [29]. Опухоли с высокой степенью васкуляризации – глиобластомы, почечно-клеточные карциномы, аденокарциномы толстой кишки, характеризуются высокой ангиогенной активностью, раки молочной железы и легких являются опухолями с сравнительно низкой ангиогенной активностью. Перичитарные элементы характеризуют степень зрелости сосудов: в карциномах толстой кишки и молочной железы около 70% поверхности сосудов находится в контакте с перичитарными элементами, тогда как в глиобластомах и почечно-клеточных карциномах этот индекс составляет только 10–20%.

В экспериментальных моделях роста опухолей установлено, что в раннем периоде формирования опухолевых сосудов и взаимодействия их с опухолевыми элементами прослеживаются 4 стадии: миграция опухолевых клеток в направлении предсуществующих микрососудов, изменения периваскулярных участков с дилатацией, повышением извилистости сосудов, рост новых сосудов, формирование контактов между опухолевыми элементами и новообразующимися сосудами по мере прогрессирования опухоли [54]. Предполагается, что блок взаимодействия опухолевых

клеток с предсуществующими сосудами может быть эффективной мерой подавления опухолевого неоангиогенеза.

К значимым факторам, влияющим на ангиогенез в РМЖ, является степень инфильтрации стромы опухоли макрофагами. Высокая степень инфильтрации ассоциирована с активным ангиогенезом [51-53]. С одной стороны, большее количество макрофагов может быть следствием изначально большего количества сосудов и большей миграцией моноцитов крови. С другой стороны, большее количество сосудов в местах скопления макрофагов может быть следствием действия проангиогенных цитокинов, выделяемых макрофагами, а также деградацией матрикса ферментами. Одним из объяснений концентрации макрофагов с последующим формированием «горячих пятен» ангиогенеза может быть следующее. В гиповаскулярных участках развиваются гипоксические изменения и гибель опухолевых клеток. Данные очаги являются хемоаттрактивными для макрофагов, которые становятся ангиогенно активными, выделяя, в частности, FGF- β , что показано при экспериментальной гипоксии. Гипоксия – один из факторов развития спонтанных некрозов в РМЖ, которые, по общему мнению, являются неблагоприятным прогностическим показателем [3], часто ассоциированы с рецептор-негативным статусом опухолей, гиперэкспрессией Her2/neu. В ряде исследований [24, 25, 46, 47] показана значимая корреляция между плотностью сосудов в опухоли и наличием некрозов, выявлена также положительная корреляция между продукцией VEGF, инфильтрацией макрофагами и некрозами в опухоли [51, 52]. Имеются результаты и противоположного характера [10]. Связь ангиогенеза и степени инфильтрации макрофагами не является линейной. Тем не менее подавление ангиогенной активности макрофагов может быть одним из направлений в таргетной терапии РМЖ. Участие макрофагов в росте сосудов является одним из звеньев воспалительного ангиогенеза, при котором формируется патогенетический круг между изменениями сосудистой стенки, образованием сосудов и активностью как мононуклеарных, так и полиморфноядерных лейкоцитов [9]. Одним из направлений антиангиогенной терапии может быть подавление механизмов, зависящих от воспаления.

В роли синергистов выступают блокатор апоптоза bcl-2 и гипоксия, стимулируя продукцию VEGF, что показано в экспериментальных исследованиях [13]. При этом гиперэкспрессия bcl-2 не влияла на уровень экспрессии p53.

Изучение механизмов влияния гуморальных факторов на ангиогенез осложняется существованием изоформ одного и того же фактора, в част-

ности VEGF [44], а также ограниченными возможностями сопоставления результатов, получаемых в экспериментах *in vitro* или *in vivo* и наблюдаемых в материале от пациентов. Объектом пристального изучения являются в настоящее время система хемокинов, включающая более 40 компонентов, и рецепторы хемокинов, которых идентифицировано 18 типов. Одним из ключевых рецепторов является CXCR4, гиперэкспрессия которого выявлена в РМЖ [20, 68].

В наименьшей степени изучены особенности опухолевого ангиогенеза в зависимости от гистологических и иммунофенотипических вариантов РМЖ. Показано, что степень васкуляризации выше в инвазивных карциномах в сравнении с неинвазивными и в дольковом раке в сравнении с протоковым. В соответствии с выделяемыми в настоящее время пятью молекулярными подтипами РМЖ (люминальный А, люминальный В, Her-2/neu гиперэкспрессирующий, базалоидный, «нормальный» подтип) особенности ангиогенеза изучены в единичных работах [64]. Базальный фенотип (при экспрессии цитокератина 5 не менее чем в 10% клеток) связан с показателями плохого прогноза: высокая степень гистологической злокачественности, высокая митотическая активность, малое содержание железистых структур, выраженный ядерный полиморфизм, метастазы в лимфатические узлы, рецептор-негативность, высокий индекс Ki67. Обнаружена статистически значимая корреляционная связь между экспрессией цитокератина 5 и VEGF. Однако при этом не выявлено повышенной плотности микрососудов, что авторы объясняют потенциальной ролью других ангиогенных факторов, а также значением баланса между ангиогенными факторами и ингибиторами, допускается роль VEGF как аутокринного регулятора в опухолевых клетках. Изменением, способствующим метастазированию, является деградация межклеточного матрикса и базальных мембран при участии металлопротеиназ. Корреляции активности металлопротеиназ 1 и 2 типов с экспрессией цитокератина 5 не выявлено, но найдена парадоксальная зависимость с экспрессией тканевого ингибитора металлопротеиназы-1, что объясняется динамичностью баланса между протеазами и их ингибиторами на разных этапах опухолевой прогрессии. Исследования связи ангиогенеза с молекулярными/иммунофенотипическими подтипами рака молочной железы заслуживают пристального внимания, тем более что сами представления о подтипах подвергаются в настоящее время пересмотру [2].

Таким образом, проблема изучения ангиогенеза в РМЖ с прогностическими целями и с целью оптимизации лечения является актуальной. По

меньшей мере, определение степени васкуляризации опухолей имеет значение для выделения групп риска, особенно при наличии метастазов в регионарные лимфатические узлы. Для устранения принципиальных противоречий необходима стандартизация методических подходов и максимальный учет всех клинико-морфологических и биологических характеристик опухолей.

Работа поддержана Грантом Федерального агентства по науке и инновациям; госконтракт № 02.740.11.0712 от 05.04.2010.

ЛИТЕРАТУРА

1. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2007 г. // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина, 2009. – Т. 20, № 3 (прил. 1). – С. 55.
2. Карселадзе Д.А., Поддубная И.В., Карселадзе А.И. Морфология тройного негативного рака молочной железы // Арх. патол. – 2010. – Т. 72. – № 2. – С. 8–12.
3. Крючков А.Н. Клинико-морфологическое значение спонтанных некрозов в раке молочной железы // Вопр. онкологии. – 2007. – Т. 53, № 2. – С. 229–234.
4. Крючков А.Н., Фрейнд Г.Г. Неоангиогенез и плотность сети микрососудов в раке молочной железы // Арх. патол. – 2008. – Т. 70, № 1. – С. 62–65.
5. Луценко С.В., Кисилев С.М., Фельдман Н.Б. и др. Молекулярные механизмы ангиогенеза в физиологических и патологических процессах / Введение в молекулярную медицину. – Под ред. М.А. Пальцева. – М.: Медицина. – 2004. – С. 446–495.
6. Рак молочной железы / В.В. Семиглазов, Э.Э. Топузов / Под ред. чл.-корр. РАМН, проф. В.Ф. Семиглазова. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 176 с.
7. Родионов В.В., Петров С.В. Проблемы костномозгового метастазирования у больных раком молочной железы // Иммунология гемопоза. – 2007. – Т. 4, № 2. – С. 38–53.
8. Adams J., Carder P.J., Downey S. et al. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in Breast Cancer: Comparison of Plasma, Serum, and Tissue VEGF and Microvessel Density and Effects of Tamoxifen // Cancer Res. – 2000. – Vol. 60. – P. 2898–2905.
9. Albini A., Tosetti F., Benelli R., Noonan D.M. Tumor inflammatory angiogenesis and its chemoprevention // Cancer Res. – 2005. – Vol. 65. – P. 10637–10641.
10. Aranda F.I., Laforga J.B. Microvessels quantitation in breast ductal invasive carcinoma // Pathol. Res. Pract. – 1996. – Vol. 192. – P. 124–129.
11. Bamas A., Dimopoulos M.A. Angiogenesis in human cancer: implications in cancer therapy // Eur. J. Intern. Med. – 2003. – Vol. 14. – P. 459–469.
12. Benoy I.H., Salgado R., Elst H. et al. Relative microvessel area of the primary tumor, and not lymph node status, predicts the presence of bone marrow micrometastases detected by reverse transcriptase polymerase chain reaction in patients with clinically non-

- metastatic breast cancer // *Breast Cancer Res.* – 2005. – Vol. 7. – P. 210–219.
13. *Biroccio A., Candiloro A., Mottolese M. et al.* Bcl-2 overexpression and hypoxia synergistically act to modulate vascular endothelial growth factor expression and in vivo angiogenesis in a breast carcinoma line // *The FACEB Journal.* – 2000. – Vol. 14. – P. 652–660.
 14. *Braun S., Pantel K., Muller P. et al.* Cytokeratin-positive cells in the bone marrow and survival of patients with stage I, II, or III breast cancer // *N Engl. J. Med.* – 2000. – Vol. 342. – P. 525–533.
 15. *Braun S., Cevatli B.S., Assemi C. et al.* Comparative analysis of micrometastasis to the bone marrow and lymph nodes of node-negative breast cancer patients receiving no adjuvant therapy // *J. Clin. Oncol.* – 2001. – Vol. 19. – P. 1468–1475.
 16. *Braun S., Vogl F.D., Naume B. et al.* A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer // *N Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 353. – P. 793–802.
 17. *Braun S., Naume B.* Circulating and disseminated tumor cells // *J. Clin. Oncol.* – 2005. – Vol. 23. – P. 1623–1626.
 18. *Brandt B., Kemming D., Packeisen J. et al.* Expression of early placenta insulin-like growth factor in breast cancer cells provides an autocrine loop that predominantly enhances invasiveness and motility // *Endocr. Relat. Cancer.* – 2005. – Vol. 12. – P. 823–837.
 19. *Brunet-Dunand S.F., Vouyovitch C., Araneda S. et al.* Autocrine human growth factor promotes tumor angiogenesis in mammary carcinoma // *Endocrinology.* – 2009. – Vol. 150. – P. 1341–1352.
 20. *Burger J.A., Kipps T.J.* CXCR4: a key receptor in the crosslink between tumor cells and their microenvironment // *Blood.* – 2006. – Vol. 107. – N 5. – P. 1761–1767.
 21. *Carter C.L., Allen C., Henson D.E.* Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases // *Cancer.* – 1989. – Vol. 63. – P. 181–187.
 22. *Chang J., Clark G.M., Allred D.C. et al.* Survival of patients with metastatic breast carcinoma: importance of prognostic markers of the primary tumor // *Cancer.* – 2003. – Vol. 97. – P. 545–553.
 23. *Charpin C., Dales J.P., Garcia S. et al.* Tumor neoangiogenesis by CD31 and CD105 expression evaluation in breast carcinoma tissue microarrays // *Clin. Cancer Res.* – 2004. – Vol. 10. – P. 5815–5819.
 24. *Colpaert C.G., Vermeulen P., Jeuris W. et al.* Early distant relapse in node-negative breast cancer patients is not predicted by occult axillary lymph node metastases, but by the features of the primary tumor // *J. Pathol.* – 2001. – Vol. 193. – P. 442–449.
 25. *Colpaert C.G., Vermeulen P.B., van Beest P. et al.* Cutaneous breast cancer deposits show distinct growth patterns with different degrees of angiogenesis, hypoxia and fibrin deposition // *Histopathology.* – 2003. – Vol. 42. – P. 530–540.
 26. *Dales J.P., Garcia S., Andrac L. et al.* Prognostic significance of angiogenesis evaluated by CD105 expression compared to CD31 in 905 breast carcinomas: correlation with long-term patient outcome // *Int. J. Oncol.* – 2004. – Vol. 24. – P. 1197–1204.
 27. *Dhawal H.P., Naume B., Synnestvedt M. et al.* Vascularization in primary breast carcinomas: its prognostic significance and relationship with tumor cell dissemination // *Clin. Cancer Res.* – 2008. – Vol. 14, N 8. – P. 2341–2350.
 28. *Duff S.E., Chenggang L., Garland J.M., Kumar S.* CD105 is important for angiogenesis: evidence and potential application // *FASEB J.* – 2003. – Vol. 17. – P. 984–992.
 29. *Eberhard A., Kahlert S., Goede V. et al.* Heterogeneity of Angiogenesis and Blood Vessel Maturation in Human Tumors: Implications for Antiangiogenic Tumor Therapies // *Cancer Res.* – 2000. – Vol. 60. – P. 1388–1393.
 30. *Ellis I.O., Schnitt S.J., Sastre-Garau X. et al.* Invasive breast carcinoma / In: Tavassoli F.A. DP, editor. World Health Organization classification of tumours pathology and genetics. Tumours of the breast and female genital organs. Lyon (France): IARC Press; 2003. – P. 13–59.
 31. *Elston C.W., Ellis I.O.* Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up // *Histopathology.* – 1991. – Vol. 19. – P. 403–410.
 32. *Fehm T., Becker S., Pergola-Becker G. et al.* Influence of tumor biological factors on tumor cell dissemination in primary breast cancer // *Anticancer Res.* – 2004. – Vol. 24. – P. 4211–4216.
 33. *Fitzgibbons P.L., Page D.L., Weaver D. et al.* Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999 // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2000. – Vol. 124. – P. 966–978.
 34. *Folkman J.* Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease // *Nat. Med.* – 1995. – N 1. – P. 27–31.
 35. *Fox S.B., Leek R.D., Weekes M.P. et al.* Quantitation and prognostic value of breast cancer angiogenesis: comparison of microvessel density, Chalkley count, and computer image analysis // *J. Pathol.* – 1995. – Vol. 177. – P. 275–283.
 36. *Fox S.B., Leek R.D., Bliss J. et al.* Association of tumor angiogenesis with bone marrow micrometastases in breast cancer patients // *J. Natl. Cancer. Inst.* – 1997. – Vol. 89. – P. 1044–1049.
 37. *Fox S.B., Harris A.L.* Histological quantitation of tumor angiogenesis // *APMIS.* – 2004. – Vol. 112. – P. 413–430.
 38. *Furman-Haran E., Schechtman E., Kelcz F. et al.* Magnetic resonance imaging reveals functional diversity of the vasculature in benign and malignant breast lesions // *Cancer.* – 2005. – Vol. 104. – N 4. – P. 709–718.
 39. *Gasparini G., Fox S.B., Verderio P. et al.* Determination of angiogenesis adds information to estrogen receptor status in predicting the efficacy of adjuvant tamoxifen in node-positive breast cancer patients // *Clin. Cancer Res.* – 1996. – Vol. 2. – P. 1191–1198.
 40. *Gasparini G., Toi M., Verderio P. et al.* Prognostic significance of p53, angiogenesis, and other conventional features in operable breast cancer: subanalysis in node-positive and node-negative patients // *Int. J. Oncol.* – 1998. – Vol. 12. – P. 117–125.

41. Gebauer G., Fehm T., Merkle E. et al. Epithelial cells in bone marrow of breast cancer patients at time of primary surgery: clinical outcome during long-term follow-up // *J. Clin. Oncol.* – 2001. – Vol. 19. – P. 3669–3674.
42. Hansen S., Grabau D.A., Rose C. et al. Angiogenesis in breast cancer. A comparative study of the observer variability of methods for determining microvessel density // *Lab. Investig.* – 1998. – Vol. 78. – P. 1563–1573.
43. Hansen S., Grabau D.A., Sorensen F.B. et al. The prognostic value of angiogenesis by Chalkley counting in a confirmatory study design on 836 breast cancer patients // *Clin. Cancer Res.* – 2000. – Vol. 6. – P. 139–146.
44. Herve M-A., Buteao-Lozano Y., Vassy R. et al. Overexpression of vascular endothelial growth factor 189 in breast cancer cell leads to delayed tumor uptake with dilated intratumoral vessels // *The American J. of Pathol.* – 2008. – N 1, Vol. 172. – P. 167–178.
45. Higgins K.J., Liu S., Abdelrahim M. et al. Vascular endothelial growth factor receptor-2 expression is induced by 17{beta}-estradiol in ZR-75 breast cancer cells by estrogen receptor {alpha}/Sp proteins // *Endocrinology.* – 2006. – Vol. 147. – P. 3285 – 3295.
46. Jitsuiki Y., Hasebe T., Tsuda H. et al. Optimizing microvessel counts according to tumor zone in invasive ductal carcinoma of the breast // *Mod. Pathol.* – 1999. – Vol. 12. – P. 492–498.
47. Kato T., Kameoka S., Kimura T. et al. Angiogenesis and blood vessel invasion as prognostic indicators for node-negative breast cancer // *Breast Cancer Res. Treat.* – 2001. – Vol. 65. – P. 203–215.
48. Klos K.S., Wyszomierski S.L., Sun M. et al. ErbB2 increases vascular endothelial growth factor protein synthesis via activation of mammalian target of rapamycin/p70S6K leading to increased angiogenesis and spontaneous metastasis of human breast cancer cells // *Cancer Res.* – 2006. – Vol. 66. – P. 2028–2037.
49. Koukourakis M.I., Manolas C., Minopoulos G. Angiogenesis Relates to Estrogen Receptor Negativity, c-erbB-2 Overexpression and Early Relapse in Node-Negative Ductal Carcinoma of the Breast // *Internat. J. of Surg. Pathol.* – 2003. – Vol. 11. – P. 29–34.
50. Kumar S., Ghellal A., Li C. et al. Breast carcinoma: vascular density determined using CD105 antibody correlates with tumor prognosis // *Cancer Res.* – 1999. – Vol. 59. – P. 856–861.
51. Leek R.D., Lewis C.E., Whitehouse R. et al. Association of macrophage infiltration with angiogenesis and prognosis in invasive breast carcinoma // *Cancer Res.* – 1996. – Vol. 56. – P. 4625–4629.
52. Leek R.D., Landers R.J., Harris A.L., Lewis C.E. Necrosis correlates with high vascular density and focal macrophage infiltration in invasive carcinoma of the breast // *Brit. J. Cancer.* – 1999. – Vol. 79. – P. 991–995.
53. Leek R.D., Hunt N.C., Landers R.J. et al. Macrophage infiltration is associated with VEGF and EGFR expression in breast cancer // *J. Pathol.* – 2000. – Vol. 190. – P. 430–436.
54. Li Ch.-Y., Shan S., Huang Q. et al. Initial stages of tumor cell-induced angiogenesis: evaluation via skin window chambers in rodent models // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2000. – Vol. 92, N 2. – P. 143–147.
55. Makkat S., Luypaert R., Stadnik T. et al. Deconvolution-based dynamic contrast-enhanced MR imaging of breast tumors: correlation of tumor blood flow with human epidermal growth factor receptor 2 status and clinicopathologic findings – preliminary results. – *Radiology.* – 2008. – Vol. 249. – P. 471–482.
56. McDonnell C.O., Hill A.D., Mc Namara D.A. et al. Tumor micrometastases: the influence of angiogenesis // *Eur. J. Surg. Oncol.* – 2006. – Vol. 26. – P. 105–115.
57. Naume B., Borgen E., Kvalheim G. et al. Detection of isolated tumor cells in bone marrow in early-stage breast carcinoma patients: comparison with preoperative clinical parameters and primary tumor characteristics // *Clin. Cancer Res.* – 2001. – Vol. 7. – P. 4122–4129.
58. Offersen B.V., Sorensen F.B., Yilmaz M. et al. Chalkley estimates of angiogenesis in early breast cancer-relevance to prognosis // *Acta Oncol.* – 2002. – Vol. 41. – P. 695–703.
59. Offersen B.V., Borre M., Overgaard J. Quantification of angiogenesis as a prognostic marker in human carcinomas: a critical evaluation of histopathological methods for estimation of vascular density // *Eur. J. Cancer.* – 2003. – Vol. 39. – P. 881–890.
60. Ozbas S., Dafydd H., Purushotham A.D. Bone marrow micrometastasis in breast cancer // *Br. J. Surg.* – 2003. – Vol. 90. – P. 290–301.
61. Pantel K., Brakenhoff R.H. Dissecting the metastatic cascade // *Nat. Rev. Cancer.* – 2004. – N4. – P. 448–456.
62. Parkin D.M., Bray F., Ferlay J., Pisani P. Global cancer Statistics 2002 // *CA Cancer J. Clin.* – 2005. – Vol. 55. – P. 74–108.
63. Pinder S.E., Ellis I.O., Galea M. et al. Pathological prognostic factors in breast cancer. III. Vascular invasion: relationship with recurrence and survival in a large study with long-term follow-up // *Histopathology.* – 1994. – Vol. 24. – P. 41–47.
64. Ribeiro-Silva A., Ribeiro F., Zucoloto S. Vascular endothelial growth factor expression in the basal subtype of breast carcinomas // *Amer. J. Clin. Pathol.* – 2006. – Vol. 125. – P. 512–518.
65. Steinbjorn H., Dorthe A.G., Flemming B. et al. The prognostic value of angiogenesis by Chalkley counting in a confirmatory study design on 836 breast cancer patients // *Clin. Cancer Res.* – 2000. – Vol. 6. – P. 139–146.
66. Solomayer E.F., Diel I.J., Salanti G. et al. Time independence of the prognostic impact of tumor cell detection in the bone marrow of primary breast cancer patients // *Clin. Cancer Res.* – 2001. – Vol. 7. – P. 4102–4108.
67. Tomlinson J., Barsky S.H., Nelson S. et al. Different patterns of angiogenesis in sarcomas and carcinomas // *Clin. Cancer Res.* – 1999. – Vol. 5. – P. 3516–3522.
68. Tsoi E., Tsantoulis P.K., Papalambros A. et al. Simultaneous evaluation of maspin and CXCR4 in patients with breast cancer // *J. Clin. Pathol.* – 2007. – Vol. 60. – P. 261–266.
69. Uzzan B., Nicolas P., Cucherat M., Perret G.Y. Microvessel density as a prognostic factor in women with