

УДК 618.19-006.6

ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНОВ И ПРОГЕСТЕРОНА, Her2/neu, МАРКЕРА ПРОЛИФЕРАЦИИ Ki67 И ИХ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ В РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

© Должиков А.А., Котляров А.А., Мухина Т.С.

Белгородское областное патологоанатомическое бюро, Белгород;
Кафедра анатомии и гистологии человека медицинского факультета
Белгородского государственного университета, Белгород

Исследованы иммунофенотипические свойства 1044 случаев рака молочной железы. Установлена связь рецепторного статуса опухолей и экспрессии белка Her2/neu, наибольшая частота его гиперэкспрессии при полной рецептор-негативности, связь иммунофенотипа опухолевых клеток с возрастом. Пролиферативная активность опухолевых клеток находится в обратной зависимости от содержания рецепторов эстрогенов и прогестерона, с гиперэкспрессией Her2/neu прямая связь пролиферативной активности отсутствует. После неoadьювантной терапии достоверно снижается экспрессия рецепторов эстрогенов и прогестерона, экспрессия Her2/neu приобретает артефициальный характер.

Ключевые слова: рак молочной железы, рецепторы гормонов, онкомаркеры.

INVESTIGATING THE EXPRESSION OF ESTROGEN AND PROGESTERONE RECEPTORS, Her2/neu AND PROLIFERATION MARKER Ki67, AND THEIR INTERRELATIONSHIPS IN BREAST CANCER

Dolzhikov A.A., Kotlyarov A.A., Mukhina T.S.

Belgorod Regional Department of Pathology, Belgorod;

Department of Human Anatomy and Histology of the Medical Faculty of the Belgorod State University, Belgorod

Immunophenotypic features of 1044 cases of breast cancer were examined. The relationship between receptor status and Her2/neu expression, high rate of hyperexpression associated with full receptor-negative status, age dependence of immunophenotype were established. The proliferation of cells is characterized by the reverse links with estrogen and progesterone receptors content, and there are no direct links between Her2/neu hyperexpression and proliferation of tumor cells. After chemotherapy the level of estrogen and progesterone receptors decreases, Her2/neu expression is characterized by artificial type of reaction.

Key words: breast cancer, hormones receptors, oncomarkers.

Рак молочной железы (РМЖ) занимает первое место в структуре онкопатологии у женщин. Ежегодный прирост числа вновь регистрируемых случаев в большинстве европейских стран составляет 1-2% [5]. По опубликованным официальным данным [2], стандартизованный (на 100 000 населения) показатель заболеваемости РМЖ в 2004 году в России составил 63,9 и только в возрастных группах от 15 до 39 лет и старше 70 лет он уступает по частоте раку шейки матки и толстой кишки соответственно. В возрасте от 39 до 69 лет РМЖ составляет от 20,7 до 30,1% в структуре заболеваемости женского населения злокачественными новообразованиями [2].

Достижения последних десятилетий существенно изменили подходы к лечению РМЖ в разных возрастных группах и при разных клинических стадиях. Произошло это благодаря выявлению многих биологических свойств опухолей, установлению их морфологической, иммунофенотипической и генетической гетерогенности [10, 16, 18]. В связи с этим постоянно пересматриваемые принципы лечения в настоящее время изменяются от общих фундаментальных в сторону индивидуализированных тактических [8, 16]. Ведущую роль при этом играет полная морфологическая верификация опухоли с определением ее основных биологических свойств, к числу которых относятся уровень экспрессии рецепторов стероидных гормонов, экспрессии

маркеров пролиферации, рецепторов факторов роста, выраженность ангиогенеза [1, 4, 17]. Показанная в настоящее время нелинейность и разнообразие взаимосвязей биологических свойств опухолевых клеток РМЖ [6, 15, 18] определяют актуальность их анализа с точки зрения оптимизации тактики индивидуализированного лечения. С другой стороны, неоднозначно воспринимается роль лечебного патоморфоза в возможности адекватной оценки биологических свойств опухолевых клеток, чему в отечественной литературе посвящены единичные исследования [9].

Актуальность обозначенных выше проблем обусловила проведение настоящего исследования, целью которого явилось изучение взаимосвязей основных иммунофенотипических характеристик рака молочной железы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование основано на анализе результатов определения иммуноморфологических свойств опухолей в 1044 отобранных репрезентативных случаях операбельного рака молочной железы за период с апреля 2006 по январь 2007 года (исследования выполнены в иммуногистохимической лаборатории Белгородского областного патологоанатомического бюро, зав. – А.А. Должиков). Изучены случаи только инвазивных карцином. В общем числе наблюдений 911 случаев представлены операционным материалом без предшествовавшей химио- и/или лучевой терапии, а также первичными трепанобиоптатами опухолей, в 133 случаях выполнению иммуноморфологического исследования предшествовали 2-4 курса неoadьювантной терапии. Наблюдения были разделены на 2 возрастные группы: до 55 лет и старше, отдельно проанализирована группа в возрасте до 35 лет, существенно отличающаяся биологическими свойствами РМЖ [3, 13]. Возраст больных варьировал от 26 до 86 лет (в среднем 56,3 года).

Иммуногистохимически определены уровни экспрессии рецепторов эстрогенов, прогестерона, маркера пролиферации Ki67, белка Her2/neu, являющегося представителем семейства тирозинкиназных рецепторов эпи-

дермального фактора роста. Все исследования выполнены в соответствии с протоколами постановки диагностических реакций с использованием коммерческих диагностических антител фирмы "Dako": моноклональные антитела к рецепторам эстрогенов (клон 1 D5), прогестерона (клон PgR636), белку Ki67 (клон MIB-1), поликлональные антитела к белку Her2/neu. Демаскировка антигенов осуществлялась по протоколу NIER в трис-ЭДТА буфере (pH=9,0) при температуре 95°C в течение 40 минут. Использована полимерная система детекции "Biogenex" (USA), в качестве хромогена диаминобензидин.

Оценку уровней экспрессии рецепторов стероидных гормонов осуществляли по обоим используемым в настоящее время шкалам: шкала HistoScore и шкала PharmDx, характеристика и сравнительная оценка которых будет дана при изложении собственных результатов. Экспрессию белка Her2/neu оценивали по общепринятой визуальной шкале с диагностикой гиперэкспрессии (3+) при наличии непрерывного мембранного окрашивания в более чем 10% опухолевых клеток в инвазивном компоненте. Пролиферацию оценивали по относительному числу опухолевых клеток со средней и интенсивной ядерной реакцией на Ki67 с разделением результатов на 3 группы: низкий уровень пролиферации – до 10% Ki67-позитивных клеток, средний – от 10 до 30%, высокий – более 30% Ki67-позитивных клеток. Анализ выполняли на компьютерных изображениях, полученных с использованием микроскопа, оснащенного стандартной видеокамерой "DCM-300", программы "ScopePhoto" и программного комплекса для анализа изображений "WCIF ImageJ" (USA).

Все количественные данные регистрировали и статистически обрабатывали в электронных таблицах. Достоверность отличий оценивали с использованием непараметрических критериев Пирсона (χ^2) и Фишера при уровне значимости $p < 0,05$. Вычисляли коэффициент линейной корреляции.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При сопоставлении результатов, полученных с использованием двух шкал оценки рецепторного статуса опухолевых клеток, вы-

явлены отличия, имеющие значение с современных позиций оценки потенциальной чувствительности РМЖ к гормональной терапии.

При использовании шкалы HistoScore ("гистосчета") число как эстроген- (ER), так и прогестерон- (PR) позитивных случаев оказалось ниже в сравнении со шкалой PharmDx, причем различия в уровне экспрессии рецепторов прогестерона были большими (разница 9,7%; разница в уровнях экспрессии рецепторов эстрогенов 5,1%). В целом ER-позитивные случаи в группе без неoadъювантной терапии по шкале HistoScore (всего 394 наблюдения) составили 57,6%, по шкале PharmDx 62,7% (из 517 наблюдений). Уровни экспрессии рецепторов прогестерона составили 49,0% и 58,7% соответственно. Такое отличие вполне ожидаемо, исходя из методики подсчета. По шкале HistoScore подсчитывается отношение суммы произведений количества клеток на интенсивность реакции (0 – нет, 1 – слабая, 2 – средняя, 3 – высокая) к общему числу оцененных клеток. Шкала варьирует от 0 до 300 баллов с градациями уровней, среди которых менее 50 баллов оцениваются как отрицательный результат.

По шкале PharmDx оценивается интенсивность реакции и относительное количество позитивных клеток, которые суммируются в баллах. При этом наличие более 1% клеток (2 балла) даже со слабой интенсивностью реакции (1 балл) в сумме дает нижний уровень позитивной реакции (3 балла). Поэтому часть случаев, которые по шкале HistoScore являются отрицательными, при подсчете по методике PharmDx являются позитивными. Это очевидно при сравнении частоты низкого уровня позитивных реакций: в первом случае она была 9,4%, а по шкале PharmDx почти в 2 раза больше (17,9%). В настоящее время 10% рецептор-позитивных

раковых клеток считается достаточным для оценки опухоли как потенциально чувствительной к эндокринной терапии. По этому критерию выделяют три группы: высокочувствительные к эндокринотерапии (экспрессия обоих типов рецепторов), недостаточно чувствительные (низкий уровень экспрессии рецепторов или отсутствие одного из них), нечувствительные (отсутствие рецепторов эстрогенов или прогестерона) [8, 15]. С позиций дифференцированной лечебной тактики, учитывающей всевозможные биологические нюансы опухолевых клеток, шкала PharmDx представляется более оправданной.

Помимо наличия рецепторов эстрогенов и прогестерона как таковых имеют значение варианты их сочетания. При корреляционном анализе установлена средняя прямая связь между экспрессией рецепторов эстрогенов и прогестерона ($r=0,57$). Полученные нами на выборках 383 и 517 случаев результаты представлены в табл. 1. Результаты, приведенные в ней, также подтверждают значение более полной оценки экспрессии рецепторов за счет учета их низкого содержания, так как число случаев полного рецепторного позитива при этом в 1,5 раза больше. Результаты, полученные нами, сопоставимы с имеющимися в литературе данными [10]. По показателю экспрессии рецепторов в клетках рака молочной железы почти половина больных оказывается в группах промежуточного или высокого риска прогрессирования заболевания. Зависимости рецепторного статуса от гистологического типа инвазивного РМЖ нами не обнаружено.

При сопоставлении двух возрастных групп установлено, что у постменопаузальных больных в опухолевых клетках выше частота экспрессии рецепторов эстрогенов (61,1% против 54,4%; $p<0,05$), тогда как экс-

Таблица 1

Варианты рецепторного статуса рака молочной железы

Вариант рецепторного статуса	% по шкале	
	HistoScore (n=383)	PharmDx (n=517)
ER+ PR+	32,9	51,6*
ER+ PR–	17,0	11,0
ER– PR+	12,8	7,0
ER– PR–	37,3	30,4

Примечание. * $p<0,05$ по критерию Фишера.

прессия рецепторов прогестерона не отличается (54,9% и 53,2%). Данный факт известен в литературе и является основанием для различной лечебной тактики у пре- и постменопаузальных пациенток. Особую группу составляют пациентки в возрасте до 35 лет. Карциномы молочной железы у них отличаются агрессивностью течения и менее благоприятным прогнозом, чем у пациенток более старших возрастных групп [3, 13]. В анализируемом нами материале таких пациенток было 36. Рецепторный статус опухолевых клеток как по отдельности, так и в сочетании у них резко отличался от общей выборки. ER-позитивные случаи составили только 33,3%, PR-позитивные только 36,1%, полный рецепторный позитив (ER+ PR+) наблюдался лишь в 25,0%, а 58,3% составили наблюдения полного рецепторного негатива, относящиеся к категории высокого риска прогрессирования заболевания.

Одним из важнейших биологических и прогностических маркеров РМЖ является экспрессия белка Her2/neu, повышенный уровень которого (гиперэкспрессия; 3+) ассоциируется с неблагоприятным прогнозом. Частота гиперэкспрессии варьирует по разным данным от 10 до 35%, что определяется шкалой оценки [18], но в большинстве рандомизированных исследований она составляет 15-20%. В проанализированном нами материале гиперэкспрессия Her2/neu в группе без неoadъювантной терапии составила в целом 14,5%, не отличаясь в возрастной группе до

55 лет и старше (14,7% и 14,2%). Сочетания уровней экспрессии Her2/neu с вариантами рецепторного статуса представлены в табл. 2.

Вне зависимости от способа оценки рецепторного статуса гиперэкспрессия Her2/neu достоверно чаще имеется в случаях полного рецепторного негатива (от 20,9 до 26,1%). Заслуживает внимания достоверное отличие частоты гиперэкспрессии Her2/neu при двух различных вариантах отсутствия одного из рецепторов стероидных гормонов. В случаях ER- PR+ статуса гиперэкспрессия Her2/neu имела в 2-3 раза чаще, чем при ER+ PR-. Традиционным является мнение, что экспрессия рецепторов прогестерона определяется функциональной активностью рецепторов эстрогенов и прямо ее отражает. Однако имеются данные, что активность рецепторов прогестерона зависит также от сигнальных путей между ростовыми факторами и рецепторами эстрогенов, гиперактивность которых может подавлять синтез рецепторов прогестерона [14]. Нами выше уже отмечено, что линейная корреляционная связь между уровнями рецепторов эстрогенов и прогестерона средняя. В эпидемиологических исследованиях также показано, что уровень содержания рецепторов прогестерона может являться независимым прогностическим фактором [10], в частности, для срока развития рецидива. При PR- статусе опухоли срок наступления рецидива короче, чем при ER-, а при PR+ опухолях рецидив возникает позже, чем при ER+ РМЖ [6]. В группе молодых пациенток

Таблица 2

Сочетание экспрессии Her2/neu и вариантов рецепторного статуса рака молочной железы

Вариант	Шкала	Экспрессия Her2/neu (%)			
		0	1+	2+	3+
ER+ PR+	HistoScore	23,0	49,3	19,0	8,7
	PharmDx	44,2	33,3	16,5	6,0
ER+ PR-	HistoScore	40,0	33,8	18,5	7,7
	PharmDx	52,6	36,8	5,3	5,3
ER- PR+	HistoScore	36,7	34,7	16,4	12,2
	PharmDx	55,6	22,2	5,6	16,6
ER- PR-	HistoScore	36,4	25,9	16,8	20,9
	PharmDx	42,7	23,6	7,6	26,1

(<35 лет) гиперэкспрессия Her2/neu нами в целом выявлена в 16,7%, а в группе ER– PR– статуса ее частота составила 23,8%.

Объективным маркером пролиферативной активности клеток является белок Ki67, который экспрессируется начиная с поздней G1 фазы клеточного цикла, в S, G2 и M фазах и, таким образом, позволяет выявлять весь пролиферативный пул опухоли. Считалось, что поскольку эстрогены обладают пролиферативным действием на гормонально-зависимые клетки, в том числе и опухолевые, то высокий уровень рецепторов эстрогенов должен прямо коррелировать с пролиферативной активностью. Однако полученные нами данные свидетельствуют против такой линейной зависимости и указывают на существование более сложных гормональных путей влияния на пролиферацию, по крайней мере, в раке молочной железы. В группах с полностью позитивным рецепторным статусом (ER+ PR+) высокий уровень пролиферативной активности (более 30% Ki67-позитивных клеток) выявлен только в 20%, тогда как низкий уровень выявлен в 60% наблюдений. Напротив, при полном рецепторном негативе (ER– PR–) в 60,9% случаев имелся высокий уровень пролиферации. Коэффициент линейной корреляции между экспрессией рецепторов эстрогенов и Ki67 составил – 0,46; для рецепторов прогестерона данный показатель – 0,40. Таким образом, выявляется обратная корреляционная зависимость между уровнями рецепторов эстрогенов и прогестерона и пролиферативной активностью.

Связь гиперэкспрессии Her2/neu с пролиферацией, определяемой по реакции на Ki67, оказалась незакономерной. Среди случаев с гиперэкспрессией Her2/neu более чем в 70% выявлен высокий индекс Ki67, однако линейной корреляции между данными показателями нет ($r=0,07$).

Аналогичный феномен недавно выявлен и другими исследователями. Г.А. Раскиным и С.В. Петровым [7] также обнаружен более высокий уровень пролиферации в эстроген-рецептор негативных случаях, что авторами расценивается как свидетельство наличия гормонально независимого механизма активации пролиферации опухолевых клеток. Основным кандидатом для этого является онко-

ген и белок Her2/neu. Однако и в этом случае пути действия на пролиферативную активность клеток не имеют вид прямого каскада, так как гиперэкспрессия Her2/neu приводит к исчезновению на клеточной мембране $\alpha\beta 1$ интегрина и E-кадгерина, что нарушает известный путь стимуляции деления клеток. Отсутствие прямой связи между гиперэкспрессией Her2/neu и пролиферацией может быть объяснено количественным, а не качественным характером влияния Her2/neu.

Особую группу представляют случаи после неоадьювантной терапии, результаты иммуногистохимических исследований в которой отличаются высокой частотой артефактов и сложных для оценки картин. Рекомендации отказа в исследовании материала с лечебным патоморфозом не являются в России общепризнанными, и главным препятствием к узакониванию этой позиции является невозможность выполнения во всех случаях качественной трепан-биопсии до начала неоадьювантной терапии. Исследованная нами группа после лечения представлена 133 наблюдениями. В 62 оценка рецепторного статуса проводилась по шкале HistoScore (материал в течение 2006 года), в 71 – по шкале PharmDx (материал 2007 года). Таким образом, имелись две независимые группы для сопоставительного анализа. Полученные результаты представлены в табл. 3. Из них следует, что вне зависимости от технических особенностей оценки рецепторного статуса после неоадьювантной терапии происходит статистически значимое снижение числа рецептор-позитивных случаев и еще более значимое увеличение частоты полного рецепторного негатива.

Помимо этого, типичными для умеренной и выраженной степеней лечебного патоморфоза являются артефакты в виде цитоплазматической реакции на рецепторы гормонов, фрагментарной мембранной и диффузной или в виде пятен цитоплазматической реакции на Her2/neu (рис. 1), которые оценке не подлежат и делают результаты исследования неадекватными. Более того, после неоадьювантной терапии увеличилась частота выявления гиперэкспрессии Her2/neu, составившая в среднем 20,7%, и в большей степени она возросла в возрастной группе до 55 лет (24%; в группе старше 55 лет – 17,9%). Однако эти результаты, полученные при сравне-

Таблица 3

Изменения вариантов рецепторного статуса рака молочной железы после неoadьювантной терапии

Вариант	Шкала	Частота вариантов (%)	
		До терапии	После терапии
ER+ PR+	HistoScore	32,9	10,7*
	PharmDx	51,6	39,4*
ER+ PR–	HistoScore	17,0	14,3
	PharmDx	11,0	7,0
ER– PR+	HistoScore	12,8	3,6*
	PharmDx	7,0	11,3
ER– PR–	HistoScore	37,3	71,4*
	PharmDx	30,4	42,3*

Примечание. $p < 0,05$ по критерию Фишера.

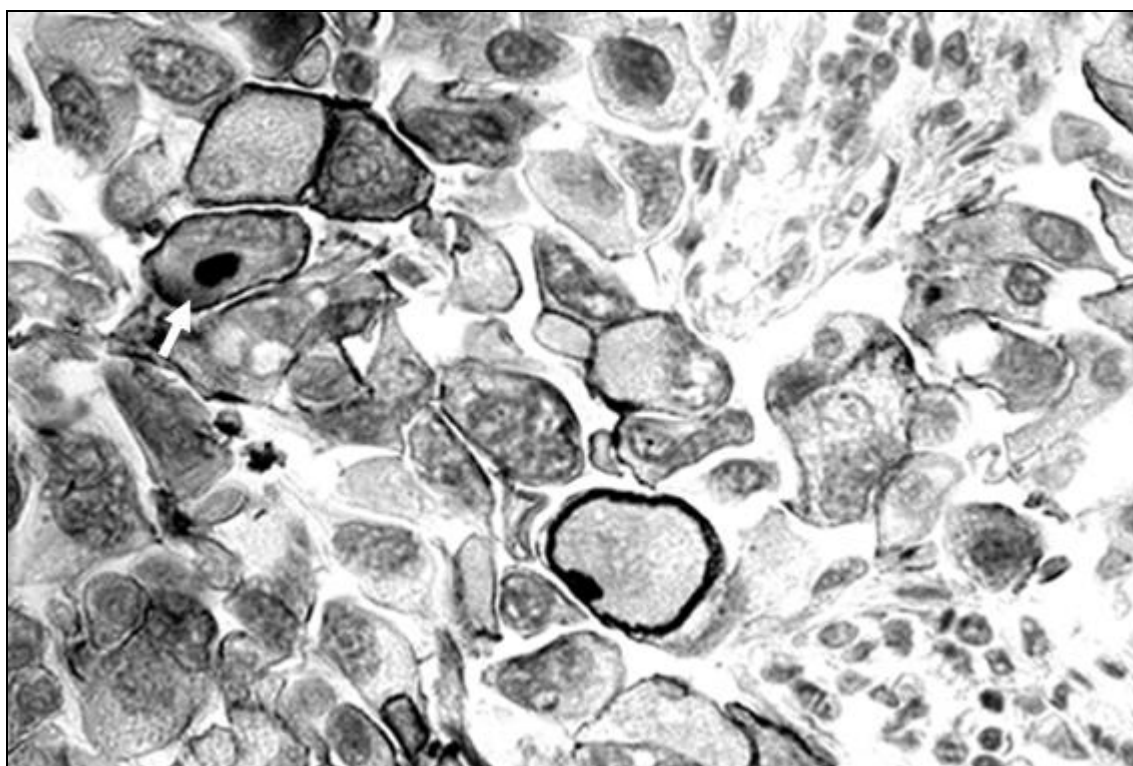


Рис. 1. Картина экспрессии Her2/neu после неoadьювантной терапии.

Примечание. Ниже центра поля зрения клетка с гиперэкспрессией (непрерывное интенсивное мембранное окрашивание), окружающие клетки с артефициальными изменениями: диффузной и пятнистой (на стрелке) цитоплазматической реакцией. ИГХ-реакция. Антитела "Dako". Микрофото x 400.

нии разнородных групп, совпали с данными, полученными при исследовании до и после терапии у одних и тех же пациенток только в отношении изменений рецепторного статуса. Таких наблюдений у нас имелось 19. Изменения экспрессии Her2/neu следующие: в 5 слу-

чаях она снизилась, в 10 осталась неизменной, в 4 повысилась, но из них истинным повышением следует считать только 3 наблюдения, в которых выявлена гиперэкспрессия онкобелка. В последних опубликованных в литературе данных [9], основанных также на

небольших сериях наблюдений (29 пациентов) указывается на преимущественное отсутствие изменений Her2/neu статуса рака молочной железы после неоадьювантной терапии и равнозначность повышения и понижения уровня экспрессии Her2/neu.

Таким образом, на основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы.

1. Зависимость экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона не является линейно детерминированной, а находится под влиянием других факторов, в частности Her2/neu.

2. В возрасте до 35 лет наблюдается наиболее неблагоприятный иммунофенотип, характеризующийся преобладанием рецептор-отрицательности, которая более чем в половине случаев полная, а также относительно высокой частотой гиперэкспрессии Her2/neu, особенно при ER– PR– рецепторном статусе.

3. Связь между содержанием рецепторов эстрогенов, прогестерона и пролиферативной активностью опухолевых клеток имеет обратный характер. Высокая пролиферативная активность достоверно чаще наблюдается при полном рецептор-отрицательном статусе. Зависимость между уровнем пролиферативной активности и гиперэкспрессией Her2/neu разнонаправленная и, вероятно, определяется взаимодействием промежуточных механизмов регуляции клеточного цикла.

4. После неоадьювантной терапии в опухолевых клетках рака молочной железы происходит значимое снижение экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона. Экспрессия Her2/neu приобретает артефициальный характер и меняется незакономерно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е. Тканевые маркеры как факторы прогноза при раке молочной железы // Практическая онкология / Под ред. С.А. Тюляндина, В.М. Моисеенко. – СПб.: Центр ТОММ, 2004. – С. 41–50.
2. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и стран СНГ в 2004 г. // Вестн. РОНЦ им. Н.Н. Блохина. – 2006. – Т. 17, № 3 (прил.). – С. 45–77.
3. Дамениа А.О., Туркевич Е.А., Семиглазов В.Ф. и др. Биологические особенности опухоли у больных раком молочной железы моложе 35 лет // Вопр. онкологии. – 2007. – Т. 53, № 6. – С. 674–676.
4. Ермилова В.Д. Роль современной патоморфологии в характеристике рака молочной железы // Прак. онкология. – 2002. – Т. 3, № 1. – С. 15–20.
5. Иванов В.Г. Эпидемиологические факторы риска, ранняя диагностика рака молочной железы // Практическая онкология / Под ред. С.А. Тюляндина, В.М. Моисеенко. – СПб.: Центр ТОММ, 2004. – С. 15–21.
6. Поддубная И.В., Комов Д.В., Колядина И.В. и др. Влияние рецепторного статуса первичной опухоли на срок наступления локальных рецидивов рака молочной железы // Материалы XI Российского онкологического конгресса. – М., 2007. – С. 161.
7. Раскин Г.А., Петров С.В. Влияние сверхэкспрессии Her2 на пролиферацию в раке молочной железы // Вопр. онкологии. – 2007. – Прил. 1. – С. 22–23.
8. Семиглазов В.Ф. Современные стандарты лечения рака молочной железы (по материалам X Международной конференции по раку молочной железы в Сант-Галлене, 2007) // Материалы XI Российского онкологического конгресса. – М., 2007. – С. 16–20.
9. Фролов А.С., Шайдоров М.В., Ермаков В.Е. и др. Влияние неоадьювантной химиотерапии на ИГХ-статус опухоли при раке молочной железы // Материалы XI Российского онкологического конгресса. – М., 2007. – С. 166.
10. Bardou V.-J., Arpino G., Elledge R.M. et al. Progesterone receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in two large breast cancer databases // J. of Clin. Oncol. – 2003. – Vol. 21, N 10. – P. 1973–1979.
11. Cipollini G., Tomassi S., Paradiso A. et al. Genetic alterations in hereditary breast cancer // Ann. of Oncol. – 2004. – Vol. 15. – P. 7–13.
12. Colleoni M., Minchella I., Mazzarol G. et al. Response to primary chemotherapy in breast cancer patients with tumors not expressing estrogen and progesterone receptors // Ann. of Oncol. – 2000. – Vol. 11. – P. 1057–1059.
13. Colleoni M., Rotmensz N., Robertson C. et al. Very young women (<35 years) with operable breast cancer: features of disease at presentation // Ann. of Oncol. – 2002. – Vol. 13. – P. 273–279.
14. Cui X., Schiff R., Arpino G. et al. Biology of progesterone receptor loss in breast cancer and its

- implications for endocrine therapy // *J. of Clin. Oncol.* – Vol. 23, N 30. – P. 7721–7735.
15. Goldhirsch A., Glack J. H., Gelber R.D. *et al.* Meeting highlights: International expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005 // *Ann. of Oncol.* – 2005. – Vol. 16. – P. 1569–1583.
16. Hilakivi-Clarke L. Estrogen, BRCA1, and breast cancer // *Cancer res.* – 2000. – Vol. 15. – P. 49993–5001.
17. La Castagnetta G., Traina A., Liquoru M. *et al.* Quantitative image analysis of estrogen and progesterone receptors as a prognostic tool for selecting breast cancer patients for therapy // *Anal. Quant. Cytol. Histol.* – 1999. – Vol. 21, N 1. – P. 59–62.
18. Wolff A.C., Hammond E.H., Schwartz J.N. *et al.* American society of clinical oncology/College of American pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer // *J. of Clin. Oncol.* – 2007. – Vol. 25, N 1. – P. 1–28.