

УДК: 618.19-006.6-018-085:577.175.64:615.277.3:615.015.8

РОЛЬ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ СТРОЕНИЯ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНОВ АЛЬФА В РАЗВИТИИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ЭНДОКРИНОТЕРАПИИ ТАМОКСИФЕНОМ У ПАЦИЕНТОК С ЛЮМИНАЛЬНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.М. Слонимская^{1,2}, С.В. Вторушин^{1,2}, Н.Н. Бабышкина^{1,3}, С.В. Паталяк¹

ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН, г. Томск¹

ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет»

Минздравсоцразвития России, г. Томск²

*Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск³
634050 г. Томск, пер. Кооперативный, 5, e-mail: Patalyak@gmail.com¹*

Основным системным компонентом лечения люминального рака молочной железы является гормонотерапия, базисным препаратом которой является тамоксифен. Гормонотерапия оказывается неэффективной в 20–40 %, при этом в качестве возможных причин рассматриваются особенности распределения и строения рецепторов эстрогенов альфа (ERα) в ткани опухоли. Реализация терапевтического действия тамоксифена осуществляется посредством блокирования активационного центра AF-2 рецептора, изменение функционального состояния которого в результате однонуклеотидных полиморфизмов кодирующего его участка rs2228480 (G/A) в 8 экзоне гена ERα рассматривается в качестве возможной причины неэффективности терапии тамоксифеном.

Цель исследования: изучение взаимосвязи экспрессии рецепторов эстрогенов альфа и полиморфных вариантов 8 экзона гена ERα с эффективностью антиэстрогенной терапии тамоксифеном у больных люминальным раком молочной железы.

Материал и методы: в исследование были включены 97 пациенток с люминальным раком молочной железы T₁₋₂N₀₋₁M₀ стадии, получавшие адъювантную терапию тамоксифеном, сроки наблюдения составили от 24 до 130 мес. Отдаленные результаты лечения оценивались по факту прогрессирования заболевания в виде появления отдаленных метастазов. В образцах опухолевой ткани изучалась экспрессия к ERα иммуногистохимическим методом (антитела «Dako», клон 1D5, RTU, мышиные). Оценивались показатели степени и интенсивности экспрессии, а также характер распределения ERα. Изучались полиморфные варианты 8 экзона гена рецептора с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

Результаты: при гомогенном распределении рецепторов степень и интенсивность экспрессии оказалась значимо выше. У пациенток с прогрессированием заболевания гетерогенное распределение наблюдалось в 86,5 %, при благоприятном исходе – в 58,3 % случаев (p=0,0072; $\chi^2=7,22$). Мутация rs2228480 (G/A) в 8 экзоне гена ERα выявлена в 19,4 %, при этом в клетках опухоли с гомогенным распределением рецепторов случаев мутации не отмечено, при гетерогенном распределении мутации выявлены в 25,7 % (p=0,014; $\chi^2=6,09$). Показано, что мутация в 8 экзоне гена ERα значимо чаще встречается у пациенток с прогрессированием заболевания (p=0,01; $\chi^2=6,52$).

Выводы: характер распределения рецепторов эстрогенов альфа и наличие мутации в 8 экзоне гена ERα в ткани опухоли можно рассматривать наряду со стандартными параметрами в качестве дополнительных предсказательных критериев эффективности антиэстрогенной терапии тамоксифеном у пациенток с люминальным типом рака молочной железы.

Ключевые слова: люминальный тип рака молочной железы, резистентность к гормонотерапии, ультраструктура рецепторов эстрогенов.

ROLE OF MORPHOLOGICAL AND GENETIC STRUCTURAL CHARACTERISTICS OF ESTROGEN RECEPTOR ALPHA IN THE DEVELOPMENT OF RESISTANCE TO ENDOCRINOTHERAPY WITH TAMOXIFEN IN PATIENTS WITH LUMINAL BREAST CANCER

E.M. Slonimskaya^{1,2}, S.V. Vtorushin^{1,2}, N.N. Babushkina^{1,3}, S.V. Patalyak¹

Cancer Research Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk¹

Siberian State Medical University, Tomsk²

National Research Tomsk State University, Tomsk³

5, Kooperativny Street, 634050-Tomsk, Russia, e-mail: Patalyak@gmail.com¹

Hormone therapy with tamoxifen is the commonly used treatment for luminal breast cancer. However, it appears to be ineffective in 20–40 % of cases and the possible reasons of this failure are related to the features of distribution and structure of estrogen receptor alpha (ER α) in tumor tissue. Realization of the therapeutic effect of tamoxifen is carried out by blocking the activation center of AF-2 receptor. The change in the functional state of this receptor resulted from single-nucleotide polymorphisms coding 2228480 (G/A) in exon 8 of ER α gene is considered as a possible cause of treatment failure with tamoxifen.

The purpose of the study was to analyze the relationship between the ER α expression and polymorphic variants in exon 8 of the ER α gene and the efficacy of tamoxifen in patients with luminal breast cancer.

Material and methods: The study included 97 patients with stage T₁₋₂N₀₋₁M₀ luminal breast cancer, who received adjuvant chemotherapy with tamoxifen. The follow-up ranged from 24 to 130 months. Long-term treatment outcomes were assessed upon the progression of the disease with the evidence of distant metastases. In tumor tissue samples, the ER α expression was studied using the immunohistochemical method. The values of the ER α expression intensity as well as the character of ER α distribution were assessed. Polymorphic variants of exon 8 of the ER α gene were studied using real-time PCR.

Results. The heterogeneous distribution of ER α gene was observed in 86.5 % cases with diseases progression and in 58.3 % of cases with favorable disease outcome ($p=0.0072$; $\chi^2=7.22$). Mutation of rs2228480 (G/A) in exon 8 of the ER α gene was observed in 19.4 % of cases. Mutations were not noted in tumor cells with homogenous distribution of the ER α gene and mutations were found in 25.7 % ($p=0.014$; $\chi^2=6.09$) in heterogeneous distribution. Mutation in exon 8 of the ER α gene was shown to occur more often in patients with disease progression ($p=0.01$; $\chi^2=6.52$).

Conclusion: The character of the ER α gene distribution and the presence of mutation in exon 8 of the ER α gene in tumor tissue can be considered as additional predictive factors of response to therapy with tamoxifen in patients with luminal breast cancer.

Key words: luminal breast cancer, resistance to hormone therapy, structure of estrogen receptors.

Рак молочной железы (РМЖ) – гетерогенная группа опухолей. Согласно молекулярно-генетической классификации, предложенной С.М. Perou et al. [13], одним из определяющих критериев разделения РМЖ на подтипы является наличие в опухолевой ткани рецепторов к эстрогену и прогестерону. Опухоли, экспрессирующие рецепторы, относятся к люминальным и составляют 70–80 % всех случаев РМЖ [12, 13]. Основным компонентом адъювантного лечения люминального рака молочной железы является антиэстрогенная терапия, базисным препаратом которой остается тамоксифен [6, 14].

Считается, что главным предсказательным критерием эффективности эндокринной терапии является сам факт наличия рецепторов эстрогенов альфа (ER α) в ткани опухоли. В качестве дополнительных рассматриваются степень экспрессии ER α (доля опухолевых клеток, имеющих рецепторы) и интенсивность их окрашивания. Установлено, что высокие

значения этих показателей ассоциированы с лучшей эффективностью лечения [5]. При стандартной оценке рецепторного статуса, как правило, не учитывается такой параметр, как характер распределения рецепторов эстрогенов альфа в ткани опухоли. Тем не менее показано, что гетерогенное распределение рецепторов ассоциировано с неблагоприятным исходом заболевания – высокой вероятностью лимфогенного и гематогенного метастазирования [1]. Однако предсказательная значимость этого параметра не изучалась.

Несмотря на относительно благоприятный клинический прогноз при люминальном типе РМЖ, по данным литературы, у 10–20 % больных на фоне проведения адъювантной гормонотерапии тамоксифеном отмечается прогрессирование заболевания уже в первые 12 мес от начала лечения, а в последующие годы этот показатель увеличивается до 20–40 % [5, 12, 15]. Изучение причин неэффективности терапии

тамоксифеном развивается по двум направлениям. В качестве первого рассматривают реализацию различных путей активации рецепторов эстрогенов. Классический геномный путь активации осуществляется посредством взаимодействия эстрадиола с активационным центром AF-2 (activating functions – AF-2) рецептора. На эту же мишень воздействует и тамоксифен, являясь конкурентным антагонистом эстрадиола [8]. Реализация неклассического геномного пути активации рецепторов эстрогенов альфа (ER α) происходит под воздействием ряда ростовых факторов (IGF-1, EGFR, Her-2/neu, TGF- β), способных активировать домен AF-1 ER α , который не блокируется тамоксифеном, что также может обуславливать неэффективность гормонотерапии [12, 15].

В качестве второй возможной причины резистентности к терапии тамоксифеном обсуждается наличие изменений ультраструктуры самих рецепторов эстрогенов в результате однонуклеотидных полиморфизмов. Установлены области транскрипции гена рецепторов эстрогенов, ответственные за строение активационных центров AF-1 и AF-2 [4, 11]. Так, наличие полиморфизма rs2077647 (C/T) в первом экзоне гена ER α , который локализуется в A/B домене, ассоциировано со структурными изменениями функциональной области транскрипционной активации центра AF-1. Полиморфизм же rs2228480 (G/A) (594Thr) в 8 экзоне, располагающемся в E/F регионе, соответствует лиганд-зависимой функциональной области транскрипции центра AF-2. Структурные изменения в активационных центрах могут приводить к нарушению функции самих рецепторов. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что мутации в 8 экзоне гена ER α делают невозможным связывание тамоксифена с центром AF-2, тем самым обуславливая его неэффективность и, следовательно, нецелесообразность проводимой антиэстрогенной терапии [4]. Однако эти работы немногочисленны и в большей степени носят поисковый характер, что определяет целесообразность изучения обозначенной проблемы.

Целью исследования явилось изучение взаимосвязи экспрессии рецепторов эстрогенов альфа и полиморфных вариантов гена ER α с эффективностью антиэстрогенной терапии тамоксифеном у больных люминальным раком молочной железы.

Материал и методы

В исследование были включены 97 пациенток с люминальным раком молочной железы T₁₋₂N₀₋₁M₀ стадии, средний возраст – 54,35 ± 0,87 года. В состоянии менопаузы лет находились 55 больных, у 42 менструальный цикл был сохранен. Во всех наблюдениях опухоли были представлены инвазивной протоковой карциномой. Пациентки получили комбинированное лечение в виде оперативного вмешательства в объеме радикальной мастэктомии или радикальной резекции. По показаниям проводилась послеоперационная лучевая терапия и/или адъювантная химиотерапия (по схеме FAC). Обязательным компонентом адъювантной терапии явился прием тамоксифена в стандартной дозировке (20 мг/сут). Сроки наблюдения за больными составили от 24 до 130 мес.

Отдаленные результаты лечения оценивались по факту прогрессирования заболевания в виде появления отдаленных метастазов. В зависимости от этого были сформированы 2 группы пациентов: без признаков прогрессирования (n=60) и с прогрессированием заболевания (n=37). Группы были сопоставимы по основным клинико-морфологическим параметрам и объему проведенного лечения.

Исследовались образцы опухолевой ткани. Подготовка материала и патоморфологическое исследование осуществлялись по стандартной методике. Экспрессию к рецепторам эстрогенов альфа изучали иммуногистохимическим методом, применяли антитела фирмы «Dako» (клон 1D5, RTU, мышиные). Оценка экспрессии к рецепторам эстрогенов альфа проводилась количественным методом гисто-счета (Histo-Score). При этом определялась степень экспрессии (доля позитивных клеток) и её интенсивность (показатель экспрессии в баллах). Дополнительно оценивался характер распределения рецепторов в опухолевой ткани [2]. Если отмечалось равномерное распределение рецепторов, независимо от интенсивности окрашивания экспрессию расценивали как гомогенную. При наличии участков с позитивной и негативной экспрессией, а также с различной степенью выраженности – экспрессию рассматривали как гетерогенную.

Для оценки ультраструктуры ER α проводилось выделение ДНК из опухолевых образцов путем депарафинизации срезов с помощью наборов QIAGEN FFPE tissue kit (Qiagen). Качественный и

количественный анализ ДНК проведен на спектрофотометре NanoDrop-1000 («NanoDrop», США). Изучение полиморфных вариантов в 8 экзоне гена рецептора выполнено с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Последовательность праймеров и проб подбирали при помощи программы OligoAnalysisVector NTI с использованием генетического банка данных (www.ncbi.nlm.nih.gov). Реакционная смесь для ПЦР объемом 15 мкл включала 100 нг геномной ДНК; 0,5–1,5 мкл специфической пары праймеров и проб с концентрацией 1 о.е./мл; 200 мкМ каждого дезоксинуклеотидтрифосфата; 1,2–2,0 мкл буфера (60 мМ Tris-HCl (pH 8,5 при 25°C), 1,5 мМ MgCl₂; 25 мМ KCl; 10 мМ 2-меркаптоэтанол; 0,1 % Тритон X-100) и 0,5–1,0 ед. Taq ДНК-полимеразы («Медиген», Новосибирск). Программа амплификации предполагала предварительную денатурацию

при 95°C в течение 2 мин, с последующими 40 циклами денатурации при 95°C (10 сек), отжига при специфической температуре для каждой пары праймеров (30 сек) на амплификаторе ICycler IQ5 («Bio-Rad», США).

Работа проведена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с «Основными законами РФ об охране здоровья граждан (Указ Президента РФ № 2288, от 24.12.93), на основании разрешения локального комитета по биомедицинской этике ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы «STATISTICA 8».

Результаты исследования и обсуждение

На первом этапе исследования были проанализированы стандартные показатели рецепторного статуса. Оценивалась связь степени и интенсив-

Таблица 1

Взаимосвязь интенсивности экспрессии ERα с исходом заболевания

Показатели	Больные РМЖ без прогрессирования (n=38)	Больные РМЖ с прогрессированием (n=29)	P
Степень экспрессии	74,55 ± 3,72 %	68,97 ± 5,22 %	0,016
Интенсивность экспрессии, Ед.	140,83 ± 12,26	117 ± 17,4	0,031

Таблица 2

Связь характера распределения ERα с частотой отдаленного метастазирования

Характер распределения ERα	Больные РМЖ без прогрессирования (n=60)	Больные РМЖ с прогрессированием (n=37)
Гетерогенный	35 (58,3 %)	32 (86,5 %)
Гомогенный	25 (41,7 %)	5 (13,5 %)
p=0,03; χ ² =4,38		

Таблица 3

Соотносимость свойств рецепторов ERα с частотой отдаленного метастазирования

Характеристики опухоли	Больные РМЖ без прогрессирования (n=45)	Больные РМЖ с прогрессированием (n=26)
«Благоприятные»	25	5
«Неблагоприятные»	20	21
p=0,006; χ ² =7,48		

Таблица 4

Распределение аллелей 8 экзона гена ERα в зависимости от исхода заболевания

Генотип 8 экзона гена ERα	Больные РМЖ без прогрессирования (n=45)	Больные РМЖ с прогрессированием (n=26)
Дикий аллель (G)	49*	30
Мутантный аллель (A)	5	14
p=0,01; χ ² =6,52		

ности экспрессии рецепторов эстрогенов альфа в ткани опухоли с исходом заболевания (табл. 1). Установлено, что в группе пациентов без признаков прогрессирования заболевания степень и интенсивность экспрессии ER α были значимо выше. Эти данные согласуются с результатами, ранее полученными другими авторами [5, 7, 9].

При изучении интенсивности экспрессии рецепторов в зависимости от характера их распределения оказалось, что при гомогенном распределении средняя интенсивность экспрессии составила $208 \pm 10,54$, тогда как при гетерогенном она была существенно ниже – $98,66 \pm 9,4$. Различия статистически значимы ($p=0,0003$). При оценке связи характера распределения рецепторов эстрогенов альфа в ткани опухоли с отдаленными результатами лечения установлено, что у пациенток с прогрессированием заболевания гетерогенное распределение отмечено в 86,5 % (табл. 2), в то время как при благоприятном исходе оно наблюдалось в 58,3 % случаев ($p=0,0072$; $\chi^2=7,22$). Полученные результаты позволяют полагать, что такой морфологический параметр, как характер распределения рецепторов эстрогенов альфа в ткани опухоли больных РМЖ, определенным образом сопряжен с эффективностью антиэстрогенной терапии тамоксифеном. В литературе представлены данные, свидетельствующие лишь об ассоциации гетерогенного распределения ER α с неблагоприятным исходом заболевания (высокой вероятностью лимфогенного и гематогенного метастазирования) [1]. Предсказательная значимость этого параметра ранее не оценивалась.

Учитывая высокую сопряженность уровня экспрессии ER α и характера их распределения с отдаленными результатами лечения, был проведен анализ совместного использования этих показателей. К условно благоприятным отнесены опухоли, в которых степень экспрессии ER α была ≥ 70 % в сочетании с гомогенным характером распределения рецепторов ($n=30$), к неблагоприятным – при наличии в новообразовании степени экспрессии рецепторов < 70 % с гетерогенным характером распределения ($n=41$). Оказалось, что при одновременном сочетании таких неблагоприятных характеристик опухоли, как низкая экспрессия ER α и их гетерогенное распределение достоверно чаще наблюдается прогрессирование заболевания (табл. 3, $p=0,006$; $\chi^2=7,48$).

При оценке наличия полиморфизма rs2228480 (G/A) в 8 экзоне гена ER α в образцах опухолевой ткани, полученных от 49 пациентов, он был выявлен в 19,4 %. Интересно отметить, что у больных, в опухолевых клетках которых определялась гомогенная окраска рецепторов, случаев мутации отмечено не было, в то время как при гетерогенном их распределении мутации 8 экзона были определены в 25,7 % наблюдений ($p=0,014$; $\chi^2=6,09$). Наличие данной мутации было соотнесено с прогрессированием заболевания. У больных с неблагоприятным исходом частота встречаемости мутантного аллеля (A) в ткани опухоли оказалась достоверно выше (табл. 4, $p=0,01$; $\chi^2=6,52$).

Наличие мутации в 8 экзоне гена ER α рассматривается в литературе в качестве неблагоприятного прогностического фактора для РМЖ [10, 11]. Так, S. Abbas et al. изучали однонуклеотидные полиморфизмы в областях rs2077647 (1 экзон), rs1801132, rs2228480 (8 экзон) в гене ER α и кодона 392 в гене ER β . Было показано, что у женщин с ранним менархе (до 12 лет) и наличием полиморфизмов во всех трех участках гена рецепторов эстрогенов альфа риск развития рака молочной железы составляет 60,4 % ($p=0,001$), а у пациенток с установленным диагнозом РМЖ было отмечено более частое поражение регионарных лимфатических узлов ($p=0,033$) [3].

Заключение

Полученные результаты позволяют полагать, что такие показатели, как характер распределения рецепторов эстрогенов альфа и наличие мутации в 8 экзоне гена ER α в ткани опухоли, наряду со стандартными параметрами (степень и интенсивность экспрессии рецепторов), можно рассматривать в качестве дополнительных предсказательных критериев эффективности антиэстрогенной терапии тамоксифеном у пациенток с люминальным типом рака молочной железы. Определение этих показателей в биопсийном или операционном материале может позволить индивидуализировать целесообразность назначения тамоксифена.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вторушин С.В., Слонимская Е.М., Перельмутер В.М., Завьялова М.В., Гарбуков Е.Ю., Кокорина Ю.Л., Дорошенко А.В., Красулина Н.А. Прогнозирование лимфогенного метастазирования и исход заболевания у больных раком молочной железы // Опухоли женской репродуктивной системы: Маммология. 2007. № 1. С. 43–45.
2. Патент 2300111 РФ. Способ прогнозирования течения заболевания раком молочной железы / Вторушин С.В., Перельмутер

В.М., Крицкая Н.Г., Слонимская Е.М., Завьялова М.В.; опубликовано 27.05.07.

3. *Abbasi S., Nouri M., Azimi C.* Estrogen receptor genes variations and breast cancer risk in Iran // *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2012. Vol. 5 (4). P. 332–341.

4. *Anghel A., Raica M., Narita D., Seclaman E., Nicola T., Ursoniu S., Anghel M., Popovici E.* Estrogen receptor alpha polymorphisms: correlation with clinicopathological parameters in breast cancer // *Neoplasma*. 2010. Vol. 57. P. 306–315.

5. *Burstein H.J., Anderson H., Buchholz T.A., Davidson N.E., Gelmon K.E., Giordano S.H., Hudis C.A., Malin J., Mamounas E.P., Rowden D., Solky A.J., Sowers M.R., Stearns V., Winer E.P., Somerfield M.R., Griggs J.J.* American society of clinical oncology clinical practice guideline: update on adjuvant endocrine therapy for women with hormone receptor-positive breast cancer // *J. Clin. Oncol.* 2010. Vol. 28 (23). P. 3784–3796. doi: 10.1200/JCO.2009.26.3756.

6. *Duffy S., Jackson T.L., Lansdown M., Philips K., Wells M., Pollard S., Clack G., Coibion M., Bianco A.R.* Retrospective Analysis of Time to Recurrence in the ATAC Trial According to Hormone Receptor Status: An Hypothesis-Generating Study // *Hum. Reprod.* 2006. Vol. 21 (2). P. 545–553.

7. *Fisher B., Redmond C., Brown A.* Influence of tumor estrogen and progesterone receptor levels on the response to tamoxifen and chemotherapy in primary breast cancer // *J. Clin. Oncol.* 1983. Vol. 1 (4). P. 227–241.

8. *Glaros S., Atanaskova N., Zhao C., Skafar D.F., Reddy K.B.* Activation function-1 domain of estrogen receptor regulates the agonistic and antagonistic actions of tamoxifen // *J. Mol. Endocrinol.* 2006. Vol. 20 (5). P. 996–1008.

9. *Johnston S. R. D., Saccani-Jotti G., Smith I.E.* Changes in estrogen receptor, progesterone receptor, and pS2 expression in tamoxifen-resistant human breast cancer // *Cancer Res.* 1995. Vol. 55. P. 3331–3338.

10. *Long J.R., Xu H., Zhao L.J.* The oestrogen receptor a gene is linked and/or associated with age of menarche in different ethnic groups // *J. Med. Genet.* 2005. Vol. 42. P. 796–800.

11. *Mascrez B., Mark M., Krezel W.* Differential contributions of AF-1 and AF-2 activities to the developmental functions of RXRa // *Development*. 2001. Vol. 128. P. 2049–2062.

12. *Massarweh S., Osborne C. K., Creighton C.J., Qin L., Tsimelzon A., Huang S., Weiss H., Rimawi M., Schiff R.* Tamoxifen resistance in breast tumors is driven by growth factor receptor signaling with repression of classic estrogen receptor genomic function // *Cancer Res.* 2008. Vol. 68 (3). P. 826–833. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2707.

13. *Perou C.M., Sorlie T., Eisen M.B.* Molecular portraits of human breast tumours // *Nature*. 2000. Vol. 406 (6797). P. 747–752.

14. *Puzstai L., Mazouni C., Anderson K., Wu Y., Symmans F.W.* Molecular Classification of Breast Cancer: Limitations and Potential // *The Oncologist*. 2006. Vol. 11. P. 868–877.

15. *Ring A., Dowsett M.* Mechanisms of tamoxifen resistance // *Endocr. Relat. Cancer*. 2004. Vol. 11. P. 643–658.

Поступила 30.04.14

REFERENCES

1. *Vtorushin S.V., Slonimskaya E.M., Perelmuter V.M., Zaviyalova M.V., Garbukov E.Yu., Kokorina Yu.L., Doroshenko A.V., Krasulina N.A.* The prediction of lymphatic cancer spread and the outcome of the disease in patients with breast cancer // *Opuholi zhenskoy reproduktivnoy sistemii: Mammologija*. 2007. Vol. 1. P. 43–45.

2. *Patent No 2300111 Russia.* The prediction of outcome of the disease in patients with breast cancer / *Vtorushin S.V., Perel'muter V.M., Krickaja N.G., Slonimskaja E.M., Zav'jalova M.V.* 27.05.07.

3. *Abbasi S., Nouri M., Azimi C.* Estrogen receptor genes variations and breast cancer risk in Iran // *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2012. Vol. 5 (4). P. 332–341.

4. *Anghel A., Raica M., Narita D., Seclaman E., Nicola T., Ursoniu S., Anghel M., Popovici E.* Estrogen receptor alpha polymorphisms: correlation with clinicopathological parameters in breast cancer // *Neoplasma*. 2010. Vol. 57. P. 306–315.

5. *Burstein H.J., Anderson H., Buchholz T.A., Davidson N.E., Gelmon K.E., Giordano S.H., Hudis C.A., Malin J., Mamounas E.P., Rowden D., Solky A.J., Sowers M.R., Stearns V., Winer E.P., Somerfield M.R., Griggs J.J.* American society of clinical oncology clinical practice guideline: update on adjuvant endocrine therapy for women with hormone receptor-positive breast cancer // *J. Clin. Oncol.* 2010. Vol. 28 (23). P. 3784–3796. doi: 10.1200/JCO.2009.26.3756.

6. *Duffy S., Jackson T.L., Lansdown M., Philips K., Wells M., Pollard S., Clack G., Coibion M., Bianco A.R.* Retrospective Analysis of Time to Recurrence in the ATAC Trial According to Hormone Receptor Status: An Hypothesis-Generating Study // *Hum. Reprod.* 2006. Vol. 21 (2). P. 545–553.

7. *Fisher B., Redmond C., Brown A.* Influence of tumor estrogen and progesterone receptor levels on the response to tamoxifen and chemotherapy in primary breast cancer // *J. Clin. Oncol.* 1983. Vol. 1 (4). P. 227–241.

8. *Glaros S., Atanaskova N., Zhao C., Skafar D.F., Reddy K.B.* Activation function-1 domain of estrogen receptor regulates the agonistic and antagonistic actions of tamoxifen // *J. Mol. Endocrinol.* 2006. Vol. 20 (5). P. 996–1008.

9. *Johnston S. R. D., Saccani-Jotti G., Smith I.E.* Changes in estrogen receptor, progesterone receptor, and pS2 expression in tamoxifen-resistant human breast cancer // *Cancer Res.* 1995. Vol. 55. P. 3331–3338.

10. *Long J.R., Xu H., Zhao L.J.* The oestrogen receptor a gene is linked and/or associated with age of menarche in different ethnic groups // *J. Med. Genet.* 2005. Vol. 42. P. 796–800.

11. *Mascrez B., Mark M., Krezel W.* Differential contributions of AF-1 and AF-2 activities to the developmental functions of RXRa // *Development*. 2001. Vol. 128. P. 2049–2062.

12. *Massarweh S., Osborne C. K., Creighton C.J., Qin L., Tsimelzon A., Huang S., Weiss H., Rimawi M., Schiff R.* Tamoxifen resistance in breast tumors is driven by growth factor receptor signaling with repression of classic estrogen receptor genomic function // *Cancer Res.* 2008. Vol. 68 (3). P. 826–833. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2707.

13. *Perou C.M., Sorlie T., Eisen M.B.* Molecular portraits of human breast tumours // *Nature*. 2000. Vol. 406 (6797). P. 747–752.

14. *Puzstai L., Mazouni C., Anderson K., Wu Y., Symmans F.W.* Molecular Classification of Breast Cancer: Limitations and Potential // *The Oncologist*. 2006. Vol. 11. P. 868–877.

15. *Ring A., Dowsett M.* Mechanisms of tamoxifen resistance // *Endocr. Relat. Cancer*. 2004. Vol. 11. P. 643–658.