

3. Беневоленская Л. И. Руководство по остеопорозу. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2003. – С. 524.
4. Котельников Г. П., Цейтлин О. Я. Распространенность первичного остеопороза в Самарской области // Тезисы Российского конгресса по остеопорозу. – М., 2003.
5. Меньшикова Л. В., Грудина О. В., Киборт Ю. П., Максикова Т. М. Частота остеопороза у лиц старше 50 лет в Иркутской области // Тезисы Российского конгресса по остеопорозу. – М., 2003.
6. Рожинская Л. Я. Системный остеопороз: Практическое руководство для врачей. – М.: издатель Мокеев, 2001. – С. 196.
7. Bagur A., Mautalen C., Findor J., Sorda J. et al. Risk factors for the development of vertebral and total skeleton osteoporosis in patients with primary biliary cirrhosis // *Calcif. tissue int.* – 1998. – № 63. – P. 385–390.
8. Becker U., Andersen J., Poulsen H. S. Variation in hepatic estrogen receptor concentrations in patients with liver disease. A multivariate analysis // *Scand. j. gastroenterol.* – 1992. – № 27. – P. 355.
9. Compston J. E. Hepatic osteodystrophy: vitamin D metabolism in patients with liver disease // *Gut.* – 1986. – № 27 (9). – P. 1073–1090.
10. McDonald J. A., Dunstan C. R., Dilworth P., Sherbon K. et al. Bone loss after liver transplantation // *Hepatology.* – 1991. – № 14. – P. 613–619.
11. Pignata S., Daniele B., Galati M. G., Esposito G. et al. Oestradiol and testosterone blood levels in patients with viral cirrhosis and hepatocellular carcinoma // *Eur. j. gastroenterol. hepatol.* – 1997. – № 9. – P. 283–286.

Поступила 04.02.2016

**О. И. КИТ, Д. И. ВОДОЛАЗЖСКИЙ, Д. С. КУТИЛИН,
Т. И. МОИСЕЕНКО, И. С. НИКИТИН, Е. М. ФРАНЦИЯНЦ**

ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ЭСТРОГЕН-РЕГУЛЯТОРНЫХ ГЕНОВ ПРИ МАЛИГНИЗАЦИИ ТКАНЕЙ ТЕЛА МАТКИ

*Лаборатория молекулярной онкологии ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения РФ,
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14 Линия, 63. E-mail: dvodolazhsky@gmail.com*

В опухолевых и условно здоровых тканях тела матки 27 пациенток Юга России в возрасте 38–72 лет с гистологически подтвержденным диагнозом «рак тела матки» методом ПЦР в реальном времени исследовали относительную экспрессию генов, ответственных за рецепцию и метаболизм эстрогенов: CYP1A 1, CYP1A 2, CYP1B 1, CYP19A, ESR1, ESR2, GPER, STS, SULT1A и SULT1E1. Установлено, что транскрипционная активность данных генов в процессе малигнизации тканей тела матки зависит от возраста пациенток и стадии дифференцировки опухолевых клеток. Это потенциально позволит использовать исследованные гены в качестве биомаркеров малигнизации тканей матки с учетом возрастных особенностей пациенток и стадий развития онкологического процесса.

Ключевые слова: экспрессия генов, рак тела матки, метаболизм эстрогенов.

O. I. KIT, D. I. VODOLAZHSKY, D. S. KUTILIN, T. I. MOISEENKO, I. S. NIKITIN, E. M. FRANTSIYANTS

CHANGES IN EXPRESSION OF ESTROGEN-REGULATORY GENES IN MALIGNANCY UTERINE TISSUES

*Laboratory of molecular oncology federal state budgetary institution
«Rostov cancer research institute» the Ministry of health of the Russian Federation,
Russia, 344037, Rostov-on-Don, str. 14 Line 63.
E-mail: dvodolazhsky@gmail.com*

We investigated the relative expression of genes responsible for the estrogen reception and metabolism – CYP1A 1, CYP1A 2, CYP1B 1, CYP19A, ESR1, ESR2, GPER, STS, SULT1A and SULT1E1 – by real-time PCR in tumor and conditionally healthy uterine tissues of 27 female patients in Southern Russia aged 38-72 years with histologically confirmed diagnosis of uterine cancer. It is found that transcription activity of these genes during malignancy of uterine tissues depends of female patients age and the stage of tumor cells differentiation. It is potentially allow to use investigated genes as biomarkers of uterine tissues malignancy with considering age features of female patients and stages of cancer process development.

Key words: gene expression, uterine cancer, estrogen metabolism.

Введение

Рак тела матки (РТМ, uterine cancer) – самая распространенная злокачественная опухоль органов малого таза у женщин. По данным ВОЗ, в 2014 году во всем мире было зафиксировано около 320 тысяч новых случаев рака тела матки, что ставит данную патологию на шестое место по распространенности среди онкологических заболеваний у женщин в развитых странах [12]. Чаще всего заболевание начинается в постменопаузе, 25% случаев приходится на возраст моложе 50 лет и 5% – на возраст моложе 40 лет [18]. Общепринято, что ведущую роль в патогенезе данного заболевания играет гиперэстрогения эндогенного или экзогенного происхождения [6]. Эстрогены стимулируют пролиферацию клеток, индуцируя синтез факторов роста и их рецепторов, в том числе эстрогеновый рецептор б типа (ERб или ESR1) [13]. Увеличение концентрации эстрогенов в условиях дефицита прогестерона может приводить к гиперплазии тканей эндометрия, которая, несмотря на свою обратимость, способна прогрессировать в атипичский вариант, предрасположенный к перерождению в рак. Одним из серьезных доказательств значения эстрогенов в патогенезе РТМ могут быть сведения о повышении частоты заболеваний у женщин после менопаузы, в течение длительного времени получавших заместительную терапию эстрогенсодержащими препаратами [7].

Одним из важных элементов патогенеза гормонозависимого рака является образование эстрогенов из андрогенов. Эта реакция катализируется микросомальным, НАДФН-зависимым ферментом – цитохромом P450 19-го семейства (ароматаза). Ген, кодирующий цитохром P-450 ароматазу, известен как CYP19 (15q21.2) [16]. Биологический эффект эстрогенов реализуется через их взаимодействие с рецепторами эстрогена, которые, в свою очередь, активируют гены-мишени во многих тканях. В настоящее время идентифицировано два вида ER: б и в, биологическое значение которых интенсивно изучается. Так, показано, что повышенная экспрессия ERб (ESR1) сопровождает процессы трансформации во многих тканях [3], тогда как ERв (ESR2) играет ключевую роль в регуляции митотической активности, обеспечивая защиту от ERб-индуцированной гиперпролиферации [8]. Однако роль ERв в гормональном канцерогенезе остается до конца не изученной. Показано, что содержание ERб может измениться в ответ на повышение концентрации эстрогенов, что, в свою очередь, приводит к усилению пролиферации в тканях-мишенях [13]. Одним из механизмов этого процесса может быть увеличение активности ароматазы. Однако вопрос о том, как связаны эти два процесса, остается открытым.

По данным М. Sasaki и соавторов [17], метаболическая активация эстрадиола является ключевым фактором в канцерогенезе эндометрия. Цитохромы P450 1A1 (CYP1A1) и P450 1B1 (CYP1B1) катализируют гидроксирование 17-бета-эстрадиола (E2) в С-2 и С-4 положении соответственно. 4-гидрокси эстрогены (метаболиты CYP1B1) получили особое внимание из-за их важной роли в злокачественной трансформации различных органов, включая эндометрий, в котором CYP1B1 показывает высокий уровень экспрессии.

В работе N. Nevir-Kene и T. L. Riñner [11] на модели клеточных линий рака эндометрия исследовали профили экспрессии рецепторов эстрогенов ESR1, ESR2, GPER и 23 генов биосинтеза и метаболизма эстрогенов, и было показано, что в контрольных и опухолевых клеточных линиях гены рецепторов эстрогенов экспрессировались в разной степени, а также наблюдалось статистически значимое различие в профиле экспрессии генов SULT2B1, CYP19A1, CYP1B1 и SULT1A.

Поэтому целью нашего исследования стало изучение изменения экспрессии генов, ответственных за рецепцию эстрогенов и метаболизм стероидов: CYP1A 1, CYP1A 2, CYP1B 1, CYP19A, ESR1, ESR2, GPER, STS, SULT1A и SULT1E1 – при малигнизации тканей тела матки для создания предиктивных биомаркеров малигнизации.

Материалы и методы исследования

Для исследования относительной экспрессии генов послужили ткани матки (опухолевые и условно здоровые) 27 пациенток Юга России в возрасте 38–72 лет с гистологически подтвержденным диагнозом «рак тела матки», поступивших на лечение в РНИОИ ФГБУ МЗ РФ в 2014–2015 гг.

Фрагменты тканей гомогенизировали в жидком азоте и проводили экстракцию суммарной РНК по методу P. Chomczynski и N. Sacchi [5]. Полученные препараты РНК обрабатывали ДНКазой («Синтол», Россия) для удаления следов геномной ДНК. Синтез кДНК проводили с использованием коммерческих наборов «Reverta-L» («Интерлабсервис», Россия).

Методом RT-qPCR проводили определение относительной экспрессии 10 генетических локусов, ответственных за рецепцию и метаболизм эстрогенов: CYP1A 1, CYP1A 2, CYP1B 1, CYP19A, ESR1, ESR2, GPER, STS, SULT1A и SULT1E1. Дизайн праймеров для RT-qPCR осуществляли с использованием референтных последовательностей ДНК NCBI GenBank. В качестве референтного гена использовали ген ACTB.

RT-qPCR проводили в 25 мкл ПЦР-смеси, содержащей 12 нг кДНК, 0,25 мМ dNTPs, 2,5 мМ MgCl₂, 1х ПЦР-буфер и 1 ед. акт. SynTaq ДНК-полимеразы с ингибирующими активностью фермента антителами («Синтол», Россия),

краситель EVA-Green ($\times 1$) и по 400 нМ прямого и обратного праймеров для референтного гена (актина, ACTB) или гена-мишени. RT-qPCR проводили на термоциклере «Bio-Rad CFX96» («Bio-Rad», США). Относительную экспрессию генетического локуса (RE) рассчитывали по формуле $RE=2^{-\Delta Ct}$ [14].

Далее вычисляли медиану [2] REоп опухолевых образцов и медиану REк контрольных (условно нормальная ткань) для каждого генетического локуса и рассчитывали соотношение относительной экспрессии генов в опухолевой ткани к нормальной ткани: $RE_{оп}/RE_{к}$.

Статистический анализ выполняли с использованием прикладных пакетов программ «Microsoft Excel 2013» и «STATISTICA 8.0». Оценку различий проводили с использованием критерия Манна-Уитни [1, 2] для порогового уровня статистической значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования

В ходе проведенного исследования обнаружено статистически достоверное увеличение экспрессии гена ESR1 на 124% ($p < 0,05$) в опухолевой ткани по сравнению с условно здоровой тканью тела матки у пациенток в возрасте от 38 до 72 лет. Достоверного изменения экспрессии других генетических локусов в данной выборке обследуемых не обнаружено (рис. 1а).

В группе пациенток от 38 до 55 лет обнаружено достоверное увеличение экспрессии гена SULT1E1 на 200% ($p < 0,005$), а в группе пациенток от 56 до 72 лет обнаруживается достоверное повышение экспрессии гена ESR1 на 124% ($p < 0,005$) в опухолевой ткани по сравнению с условно здоровой тканью тела матки (рис. 1б и 1в).

После ранжирования имеющейся выборки по стадиям дифференцировки клеток опухолей на G 1, 2 и 3 группы были получены следующие результаты: у группы пациенток с аденокарциномой тела матки стадии G1 в возрасте 63–68 лет обнаружено достоверное ($p < 0,005$) увеличение экспрессии генов CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, CYP19A, ESR1, ESR2, GPER, STS, SULT1A1 и SULT1E1 на 1820%, 845%, 420%, 737%, 198%, 174%, 54%, 746%, 309% и 412% соответственно в опухолевой ткани по сравнению с условно нормальной; у группы пациенток с аденокарциномой тела матки стадии G2 в возрасте 38–72 года отсутствовали достоверные различия в экспрессии исследованного паттерна генов опухолевой ткани по сравнению с условно нормальной, а у группы пациенток с аденокарциномой тела матки стадии G3 в возрасте 56–63 года наблюдалось достоверное ($p < 0,005$) увеличение экспрессии генов CYP1A2 на 90%, CYP19A на 72%, ESR2 на 98%,

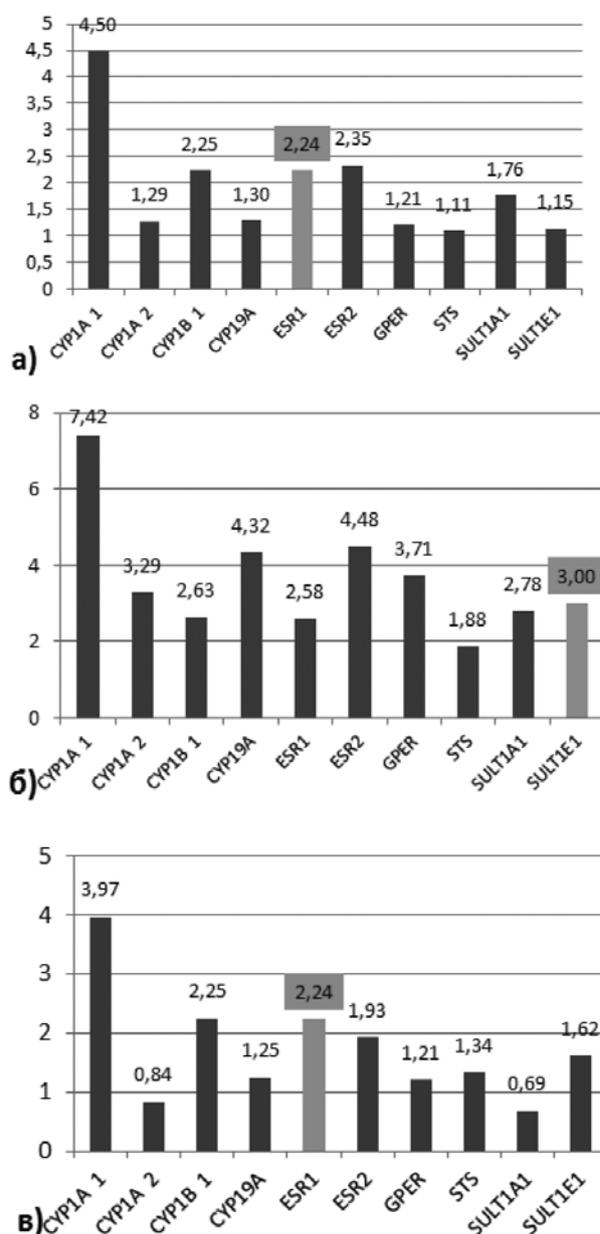


Рис. 1. Сравнение экспрессии генов в опухолевой ткани матки относительно условно нормальной ткани матки пациенток с диагнозом «рак тела матки»:

- а – во всей выборке (возраст от 38 до 72 лет);
- б – в группе пациенток от 38 до 55 лет;
- в – в группе пациенток от 56 до 72 лет

GPER на 50%, STS на 130% и SULT1E1 на 110% (рис. 2а, б, в).

Ранжирование выборки пациенток с аденокарциномой тела матки стадии G2 ($n=14$) по возрастному критерию показало, что в группе пациенток от 38 до 55 лет наблюдается достоверное ($p < 0,05$) увеличение экспрессии генов CYP1A1, GPER, STS и SULT1E1 на 640%, 240%, 100% и 200% соответственно, а в группе пациенток от 56 до 72 лет наблюдается достоверное увеличение экспрессии только гена ESR1 на 110% ($p < 0,05$) в опухолевой ткани по сравнению с условно здоровой тканью тела матки (рис. 3а и 3б).

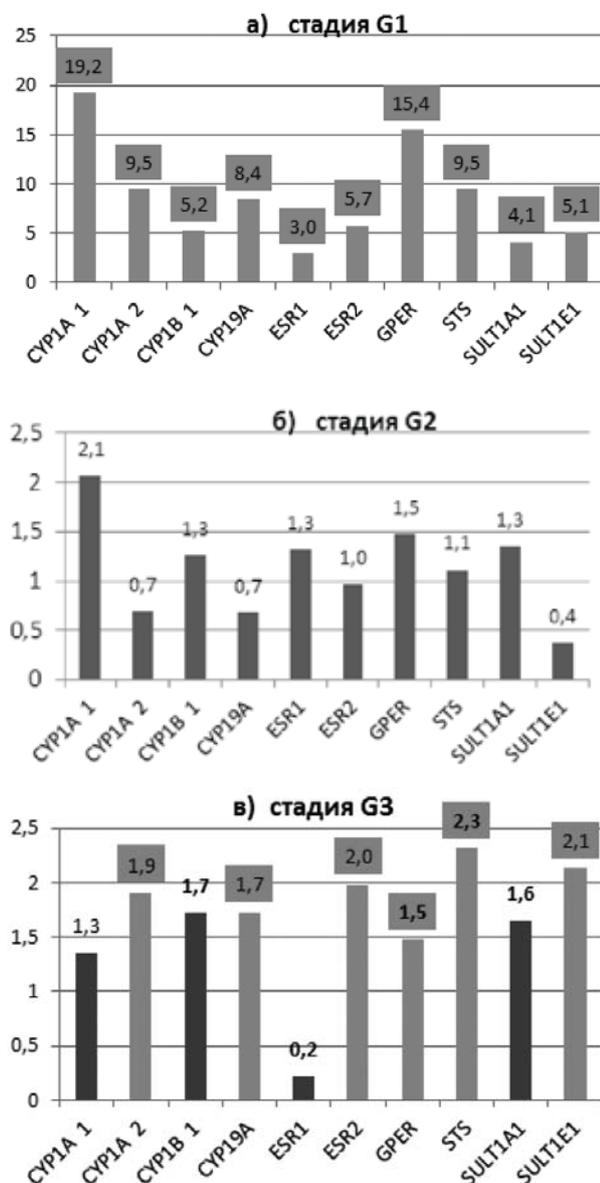


Рис. 2. Сравнение экспрессии генов в опухолевой ткани матки относительно условно нормальной ткани матки у: а – пациенток с аденокарциномой матки стадии G1; б – пациенток с аденокарциномой матки стадии G2, в – пациенток с аденокарциномой матки стадии G3

Обсуждение результатов

Обнаруженное статистически достоверное увеличение экспрессии гена ESR1 на 124% ($p < 0,05$) в опухолевой ткани по сравнению с условно здоровой тканью тела матки в выборке пациенток в возрасте от 38 до 72 лет подтверждает данные о том, что повышенная экспрессия ESR1 вовлечена в процессы онкотрансформации [3]. Анализ вклада возрастной компоненты в гиперэкспрессию гена ESR1 в выборке пациенток в возрасте от 38 до 72 лет показал, что данный эффект обеспечивается особенностями экспрессии гена ESR1 у пациенток старше 55 лет (рис. 1в). Это может свидетельствовать о важной роли повышенной транскрипционной активности гена

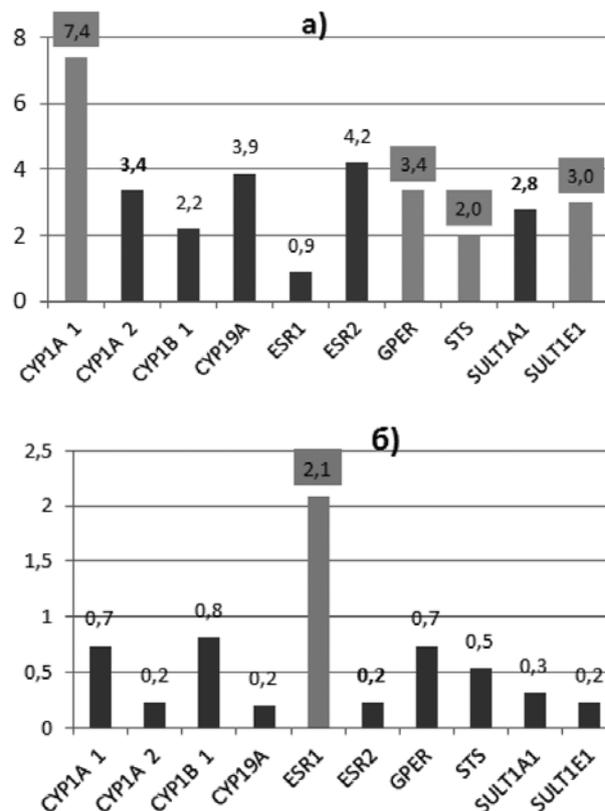


Рис. 3. Сравнение экспрессии генов в опухолевой ткани относительно условно нормальной ткани матки у пациенток с аденокарциномой матки стадии G2: а – в возрасте от 38 до 55 лет; б – от 56 до 72 лет

ESR1 в малигнизации тканей матки в постменопаузе и о возможности использования данного параметра в качестве биомаркера у возрастной группы пациенток старше 55 лет.

У группы пациенток с аденокарциномой тела матки стадии G1 обнаружено увеличение транскрипционной активности генов, ответственных за гидроксирование эстрадиола в С-2 и С-4 положении (CYP1A1 и CYP1B1), образование эстрогенов из андрогенов (CYP19A), контроль метаболизма ксенобиотиков (CYP1A2), ответственных за регулирование уровня ядерных рецепторов эстрогенов (SULT1A1 и SULT1E1 – гены сульфотрансфераз), ESR1 и 2 и мембранных рецепторов эстрогенов (GPER), а также ответственных за преобразование стероидов в их активную форму (ген стероидной сульфатазы, STS). Все пациентки с аденокарциномой тела матки стадии G1 были старше 55 лет, также как и пациентки с аденокарциномой тела матки стадии G3, у которых наблюдалось менее значительное по модулю увеличение экспрессии генов CYP1A2, CYP19A, ESR2, GPER, STS и SULT1E1 (рис. 2в). По возрастному критерию группа пациенток с аденокарциномой тела матки стадии G2 была гетерогенной, что отражается и в особенностях транскрипционного профиля исследованных генов: до 55 лет – увеличение экспрессии генов CYP1A1, GPER, STS и SULT1E1, а после 55 лет – только гена ESR1 (рис. 3а и 3б).

Отличия экспрессии описанных выше генов в опухолевой ткани относительно нормальной ткани тела матки вписываются в теорию локального синтеза эстрогенов [4], согласно которой нарушение регуляции тканеспецифичного промотора гена ароматазы (увеличение экспрессии гена CYP19A) приводит к усилению активности фермента и повышению концентрации эстрогенов. Это совместно с увеличением экспрессии генов CYP1A1 и CYP1B1 и, соответственно, активностью кодируемых ими ферментов приводит к метаболической активации эстрадиола (гидроксилированию) с образованием 2- и 4-гидрокси эстрогенов. В ответ на повышение концентрации эстрогенов меняются экспрессия ESR1 и количество ядерных рецепторов ER α [13], а также повышается экспрессия гена мембранных рецепторов эстрогена (GPER) [9], что, в свою очередь, приводит к усилению пролиферации в тканях-мишенях. Данному эффекту должно препятствовать повышение экспрессии генов сульфотрансфераз SULT1A1 и SULT1E1, участвующих в инактивации эстрогенов в тканях-мишенях, путем их сульфатирования [19]. Но наблюдаемое в нашем исследовании повышение экспрессии гена стероидной сульфатазы (STS), осуществляющей гидролиз сульфатов ряда стероидов, преобразуя их в активную форму, является противодействующей силой, направленной на снижение эффекта от транскрипционной активности SULT1A1 и SULT1E1 [15]. В этой связи интересен тот факт, что на стадии G1 экспрессия гена стероидной сульфатазы STS в 1,9 раза превышает экспрессию гена сульфотрансферазы SULT1E1, на стадии G2 у пациенток старше 55 лет в 2,5 раза, на стадии G3 всего в 1,1 раза. При этом у пациенток с аденокарциномой матки стадии G2 в возрасте до 55 лет экспрессия гена стероидной сульфатазы STS была в 1,5 раза ниже экспрессии гена сульфотрансферазы SULT1E1. Это подчеркивает как возрастные, так и зависимые от стадии дифференцировки опухолевых клеток особенности метаболизма стероидов в тканях тела матки. Так, на основании полученных данных можно судить о том, что:

1) до 55 лет в опухолевой ткани матки (стадии G2) сульфатирование преобладает над гидролизом сульфатов стероидов;

2) по мере снижения уровня дифференцировки клеток опухолевых тканей уменьшается степень преобладания гидролиза сульфатов стероидов над их сульфатированием.

Необходимо также отметить ещё один немаловажный факт, касающийся гиперактивации транскрипции гена GPER на стадии дифференцировки опухолевых клеток G1. На данной стадии экспрессия гена GPER, кодирующего мембранный рецептор эстрогенов, превышает экспрессию генов ядерных рецепторов эстрогена ESR1 и ESR2 в 5 и 3 раза соответственно. На других стадиях этого эффекта не наблюдается (превышает либо ESR1, либо ESR2), а каждая из этих стадий характеризуется своим определенным соотношением экспрессии генов ядерных и мембранных рецепторов эстрогена (табл. 1).

Полученные данные выявили, что важную роль в процессе малигнизации тканей матки играют гены, ответственные за гидроксилирование эстрадиола в C-2 положении (CYP1A1), образование эстрогенов из андрогенов (CYP19A), за регулирование уровня ядерных рецепторов эстрогенов ESR1 и 2 и мембранных рецепторов эстрогенов (GPER), сульфатирование эстрагенов (SULT1E1 – ген эстрогеновой сульфотрансферазы), а также за преобразование стероидов в их активную форму (ген стероидной сульфатазы, STS).

В ходе проведенных исследований установлено, что транскрипционная активность генов (CYP1A 1, CYP1A 2, CYP1B 1, CYP19A, ESR1, ESR2, GPER, STS, SULT1A и SULT1E1) в процессе малигнизации тканей тела матки имеет выраженный возраст-ассоциированный характер, а также зависит от стадии развития онкологического процесса (степени дифференцировки клеток опухоли, G). Так, в опухолевой ткани тела матки пациенток старше 55 лет со стадией дифференцировки клеток опухоли G1 особо выделяется транскрипционная активность двух генов – CYP1A1 и GPER, в 19 и 15 раз соответственно превышающая таковую в условно здоровой ткани; со стадией дифференцировки клеток опухоли G2 только экспрессия ESR1, превышающая таковую в условно здоровой ткани в 2,1 раза; со стадией дифференцировки клеток опухоли G3 транскрипционная активность генов ESR2, STS и SULT1E1, в 2, 2,3 и 2,1 раза соответственно превышающая таковую в условно здоровой ткани. В опухолевой ткани тела матки пациенток моложе 55 лет со стадией дифференцировки клеток опухоли G2 особо выделяется повышенная (в 7,4 и 3,4 раза соответственно) экспрессия генов CYP1A1 и GPER (табл. 2).

Таблица 1

Соотношение экспрессии генов рецепторов эстрогена

Гены	Стадия G1, после 55 лет	Стадия G2, до 55 лет	Стадия G2, после 55 лет	Стадия G3, после 55 лет
ESR1/ESR2/ GPER	1/2/5	1/5/4	1/0,1/0,3	1/10/7,5

Сводная информация о генах, транскрипционная активность которых является маркерной для разных групп пациенток

Стадия дифференцировки опухолевых клеток и возраст пациенток	Маркерные гены
1. Стадия G1, после 55 лет	CYP1A1*, CYP1A2, CYP1B 1, CYP19A, ESR1, ESR2, GPER* , STS , SULT1A и SULT1E1
2. Стадия G2, до 55 лет	CYP1A1*, GPER* , STS и SULT1E1
3. Стадия G2, после 55 лет	ESR1
4. Стадия G3, после 55 лет	CYP1A2, CYP19A, ESR2*, GPER , STS* и SULT1E1*

Примечание: в таблице приведены генетические локусы, достоверно изменяющие свою экспрессию в опухолевой ткани матки относительно её нормальной ткани. Полуужирным шрифтом выделены локусы, изменяющие свою экспрессию в большинстве исследованных групп (в 3 из 4), * – отмечены локусы, максимально изменяющие свою экспрессию.

Таким образом, можно предложить использование исследованных нами генетических локусов и их соотношения (табл. 1) в качестве биомаркеров малигнизации тканей матки с учетом разных возрастных групп и стадий развития онкологического процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Водолажский Д. И., Димитриади С. Н., Кутилин Д. С., Франциянц Е. М., Кит О. И.* Транскриптомные маркеры предрасположенности к ишемическому повреждению почки у онкологических больных // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. – 2015. – Т. 10. – № 4. – С.357–361.
2. *Гублер Е. В., Генкин А. А.* Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Издание 2-е. – Л.: Медицина, 1973. – 141 с.
3. *Bardin A., Boulle N., Lazennec G., Vignon F.* Loss of ER β expression as a common step in estrogen-dependent tumor progression // *Endocrine-related cancer*. – 2004. – Vol. 11. – P. 537–551.
4. *Bulun S., Sebastian S., Takayama K., Suzuki T., Sasano H., Shozu M.* The human CYP19 (aromatase P450) gene: update on physiologic roles and genomic organization of promoters // *J. steroid biochem. mol. biol.* – 2003. – Vol. 86. – P. 219–224.
5. *Chomczynski P., Sacchi N.* The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on // *Nat. protoc.* – 2006. – Vol. 1. № 2. – P. 581–585.
6. *William M. Burke, James Orr, Mario Leitao, Emery Salom, Paola Gehrig, Alexander B. Olawaiye, Molly Brewer, Dave Boruta, Jeanine Vilella, Tom Herzog.* Endometrial cancer: A review and current management strategies: Part I. SGO clinical practice endometrial cancer working group // *Gynecologic oncology*. – 2014. – № 134. – P. 385–392.
7. *Enmark E., Peltö-Huikko M., Grandien K., Lagercrantz S., Lagercrantz J., Fried G., Nordenskjöld M., Gustafsson J. A.* Human estrogen receptor β – gene structure, chromosomal localisation and expression pattern // *Clin. endocrinol. met.* – 1997. – Vol. 82. – P. 4258–4265.
8. *Enmark E., Gustafsson J. A.* Oestrogen receptors – an overview // *J. intern. med.* – 1999. – Vol. 2. – P. 133–138.
9. *Filardo E. J., Thomas P.* Minireview: G protein-coupled estrogen receptor-1, GPER-1: its mechanism of action and role in female reproductive cancer, renal and vascular physiology // *Endocrinology*. – 2012. – Vol. 153 (7). – P. 2953–2962.
10. *Galaal K., Al Moundhri M., Bryant A., Lopes A. D., Lawrie T. A.* Adjuvant chemotherapy for advanced endometrial cancer // *Cochrane database of systematic reviews (gynaecological cancer group)*. – 2014. – CD010681.
11. *Hevir-Kene N., Rižner T. L.* The endometrial cancer cell lines Ishikawa and HEC-1A, and the control cell line HIEEC, differ in expression of estrogen biosynthetic and metabolic genes, and in androstenedione and estrone-sulfate metabolism // *Chem. biol. interact.* – 2015. – Vol. 234. – P. 309–319.
12. International agency for research on cancer. World cancer report 2014. World health organization. Chapter 5.12 (2014) ISBN 978-92-832-0429-9.
13. *Katzenellenbogen B. S.* Estrogen receptors: bioactivities and interactions with cell signaling pathways // *Biol. reproduction*. – 2001. – Vol. 54. – P. 287–293.
14. *Livak K. J., Schmittgen T. D.* Methods. – 2001. – Vol. 25. – P. 402–408.
15. *Reed M. J., Purohit A., Woo L. W., Newman S. P., Potter B. V.* Steroid sulfatase: molecular biology, regulation, and inhibition // *Endocr. rev.* – 2005. – Vol. 26 (2). – P. 171–202.
16. *Salhab M., Reed M. J., Al Sarakbi W., Jiang W. G., Mokbel K.* The role of aromatase and 17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 mRNA expression in predicting the clinical outcome of human breast cancer // *Breast cancer res. treat.* – 2006. – Vol. 99 (2). – P. 155–162.
17. *Sasaki M., Kaneuchi M., Fujimoto S., Tanaka Y., Dahiya R.* CYP1B1 gene in endometrial cancer // *Mol. cel. endocrinol.* – 2003. – P. 171–176.
18. *Soliman P. T., Lu K. H.* Neoplastic diseases of the uterus // *Comprehensive gynecology* (6th ed.). Mosby. – 2013. – ISBN 978-0-323-06986-1.
19. *Xu Y., Liu X., Guo F., Ning Y., Zhi X., Wang X., Chen S., Yin L., Li X.* Effect of estrogen sulfation by SULT1E1 and PAPSS on the development of estrogen-dependent cancers // *Cancer. sci.* – 2012. – Vol. 103 (6). – P. 1000–1009.