

Российский
онкологический
научный центр
им. Н.Н. Блохина РАМН,
Москва

Благодаря успехам биохимии и молекулярной биологии, в настоящее время в арсенале исследователей и клиницистов имеется огромное количество биологически значимых показателей, которые могут помочь в прогнозе раннего рака молочной железы и выборе адъювантной терапии при распространенном процессе. Тем не менее, большинство молекулярных маркеров пока еще прочно не вошли в рутинную практику, что определяется высокой стоимостью подобных исследований и сложностью интерпретации данных одновременного анализа многих прогностических факторов.

ТКАНЕВЫЕ МАРКЕРЫ КАК ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Е.С. Герштейн, д-р биол. наук, проф. Н.Е. Кушлинский, чл.-корр. РАМН, проф.

Благодаря успехам биохимии и молекулярной биологии, в настоящее время в арсенале исследователей и клиницистов имеется огромное количество биологически значимых показателей, которые могут помочь в прогнозе раннего рака молочной железы и выборе адъювантной терапии при распространенном процессе. Задачей исследователей, работающих в данной области, является определение того набора наиболее значимых, дополняющих друг друга показателей, который позволил бы при минимально возможной стоимости обследования обеспечить максимальную эффективность лечения каждого больного. Спектр исследований в каждом конкретном случае может зависеть от стадии заболевания, возраста больной, планируемой терапии и материально-технической базы учреждения.

Общие представления о клеточных маркерах

В отличие от классических опухолевых маркеров, выявляемых в сыворотке крови и являющихся важным инструментом диагностики некоторых типов опухолей, мониторинга за эффективностью лечения и раннего выявления рецидивов заболевания, клеточные или тканевые маркеры, как следует уже из их названия, определяются непосредственно в опухолевой ткани. Большинство из них характеризуют определенные биологические особенности опухоли, специфику ее «поведения» и регуляции – например, гормональную чувствительность или склонность к инвазии и метастазированию. Для некоторых молекулярных маркеров конкретная биологическая функция пока не установлена. Практически ни один из молекулярных маркеров в их традиционном понимании не может быть использован для дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований молочной железы и, тем более, для мониторинга. Их основная роль заключается в том, что, характеризуя биологические особенности каждой конкретной опухоли, они могут помочь в прогнозировании исхода заболевания и в индивидуализации лекарственного лечения.

Количество показателей, рассматривающихся в качестве потенциальных молекулярных маркеров, увеличивается лавинообразно, отражая достижения и находки в области изучения механизмов регуляции пролиферации и дифференцировки опухолевых клеток. В их число входят онкогены и протоонкогены, онкобелки, различные факторы роста и их рецепторы (в большинстве случаев также являющиеся продуктами онкогенов), рецепторы стероидных и пептидных гормонов, супрессорные гены и продукты их экспрессии, гормонозависимые белки, протеазы, участвующие в процессах метастазирования, интегрины, отвечающие за межклеточные контакты, и т.д. В таблице представлен далеко не полный перечень биологически значимых показателей, являющихся действующими или потенциальными тканевыми маркерами рака молочной железы.

Определение любого молекулярного маркера при раке молочной железы может, в принципе, иметь два практических результата: либо выявление группы риска, требующей дополнительного лечения или более тщательного наблюдения, среди больных ранними стадиями, не подлежащих адъювантной терапии по другим клиническим и лабораторным показаниям, либо оценка чувствительности к определенным видам терапии и индивидуализация схем адъювантного лечения больных с распространенным процессом.

Основные группы биологически значимых показателей, которые используются или могут быть использованы в качестве тканевых/клеточных прогностических маркеров при раке молочной железы (курсивом выделены маркеры, которые будут рассмотрены подробно)

Биологическое значение	
Показатели эндокринной гормональной чувствительности	Рецепторы стероидных гормонов: <i>РЭ, РП, РА</i>
Показатели активности ауто/паракринной регуляции пролиферации	Факторы роста и их рецепторы: <i>РЭФР</i> и его лиганды: ЭФР, α -ТФР, амфирегулин и др. <i>HER2/neu</i> и др. рецепторы семейства c-erb рецепторы ИФР-1 Рецепторы соматостатина
	Ферменты и белки, участвующие в передаче митогенных сигналов: Рецепторные тирозинкиназы, МАП-киназы, ФИЗК, Akt-1, Grb2 и др.
Показатели метастатической и инвазивной активности	Компоненты системы активации плазминогена: <i>uPA, PAI-1, рецептор uPA, PAI-2, tPA</i>
	Металлопротеазы и их ингибиторы
	Другие протеолитические ферменты (катепсин D, строелизин и др.)
	Интегрины
Показатели неоангиогенеза	<i>ФРЭС (VEGF) А</i> и его рецепторы flt-1 и flk-1
	VEGF С и его рецептор flt-4
	Другие ангиогенные факторы: ФРФ, тимидинфосфорилаза, ФНО, интерлейкины и др.
Регуляторы апоптоза	Супрессорные гены и их продукты: p53, ген ретинобластомы
	Проапоптотические факторы: bcl-2, Fas-рецептор и Fas-лиганд
Показатели, не имеющие четко выраженной биологической роли при РМЖ	Белок pS2
	Онкогены c-мус, int-2 и др.

Еще одним аспектом практического использования результатов изучения молекулярно-биологических характеристик опухолей молочной железы может быть разработка новых препаратов, направленно воздействующих на эти молекулы и блокирующих регулируемыми ими процессы. Этот подход особенно актуален тогда, когда исследуемый маркер имеет непосредственное отношение к регуляции пролиферации и/или дифференцировки клеток или их метастатической активности.

Рассмотрим подробнее некоторые маркеры, уже нашедшие практическое применение в лечении больных раком молочной железы или имеющие четкие клинические перспективы.

Рецепторы стероидных гормонов – критерий чувствительности к эндокринной терапии

Одним из первых вошедших в практику лечения больных раком молочной железы показателей, относящихся к категории клеточных маркеров, были рецепторы стероидных гормонов [5, 13, 27],

в первую очередь, рецепторы эстрогенов (РЭ). Несколько позднее в дополнение к ним стали определять также рецепторы прогестерона (РП).

Рецепторы стероидных гормонов – это белки, специфически и избирательно связывающие соответствующие стероиды после их проникновения в клетку и опосредующие, таким образом, их биологические эффекты. Присутствие РЭ в первичной опухоли молочной железы свидетельствует о ее потенциальной чувствительности к лечебным мероприятиям, направленным на удаление источника эстрогенов из организма или на противодействие их эффектам (овариэктомия, использование антиэстрогенов или ингибиторов ароматазы). РП представляет интерес как молекулярный маркер рака молочной железы не только потому, что он является первым необходимым звеном реакции клетки на прогестины и определяет ее чувствительность к соответствующим препаратам, но и потому, что его синтез в клетках рака молочной железы индуцируется эстрогенами. Таким образом, наличие РП может свидетельствовать о функциональной активности РЭ.

В настоящее время в различных клиниках и лабораториях используется три относительно равнозначных метода определения рецепторного статуса рака молочной железы: радиолигандный – оценка связывающей способности рецепторов в цитозолях опухолей, иммуноферментный – определение концентрации иммунореактивного рецепторного белка в тех же цитозолях, и иммуногистохимический – специфическое окрашивание срезов опухоли с помощью антител к рецепторным белкам. Преимуществом первых двух методов является их количественный характер, позволяющий объективизировать критерии оценки рецепторного статуса. Радиолигандный метод позволяет также оценить и функциональную активность рецептора на одной из первых стадий его взаимодействия с гормоном, что делает прогноз гормоночувствительности более надежным, чем при определении иммунореактивных белков.

С другой стороны, иммуногистохимический метод, хотя и носит относительно субъективный полуквантитативный характер, имеет важное достоинство, заключающееся в том, что при окрашивании срезов можно четко определить принадлежность рецепторов именно опухолевым клеткам, что практически невозможно при использовании биохимических методов. Кроме того, этот метод позволяет работать с архивным материалом – парафиновыми блоками и даже готовыми стеклами, что делает его единственно возможным вариантом в тех случаях, когда необходимость исследования рецепторов стероидных гормонов возникла или была осознана через длительное время после операции.

Известно, что гормонозависимые опухоли молочной железы, содержащие оба или хотя бы один из рецепторов стероидных гормонов, имеют более благоприятное течение, и послеоперационный прогноз у больных с такими опухолями, независимо от проводимого адъювантного лечения, лучше, чем у больных с рецепторотрицательными опухолями [27]. Тем не менее, наиболее важной в практическом отношении областью использования результатов определения рецепторов стероидных гормонов является отбор больных, чувствительных к эндокринной терапии.

Адъювантная эндокринная терапия наиболее эффективна у больных первичными опухолями с высоким уровнем рецепторов стероидов [27]. При метастатических поражениях степень реакции на эндокринную терапию также существенно зависит от наличия РЭ и РП в опухоли: ее эффективность составляет около 10% при РЭ-отрицательных опухолях, примерно 50% при РЭ-положительных опухолях и около 75% при опухолях, содержащих одновременно РЭ и РП. Тем не менее, резистентность к эндокринной терапии может присутствовать с

самого начала, даже у РЭ- и РП-положительных опухолей, или может развиваться позднее по мере прогрессирования болезни, поэтому статус рецепторов стероидных гормонов оказался необходимым, но не всегда достаточным показателем гормоночувствительности рака молочной железы. В связи с этим, постоянно ведется поиск дополнительных критериев, характеризующих функциональную активность рецепторов стероидных гормонов и влияние других регуляторных факторов на биологическое поведение рака молочной железы.

Факторы роста и их рецепторы – показатель способности опухоли к саморегулируемому росту

К числу важнейших регуляторов подобного типа относятся полипептидные факторы роста – белки и небольшие полипептиды, продуцируемые собственными опухолевыми клетками и другими компонентами опухолевой ткани (фибробластами, инфильтрирующими опухоль макрофагами и лимфоцитами, эндотелиальными клетками) и стимулирующие рост клеток-продуцентов (аутокринный механизм) или соседних клеток (паракринный механизм).

В аутокринной и паракринной регуляции пролиферации клеток рака молочной железы участвуют различные ростовые факторы: пептиды группы эпидермального фактора роста (ЭФР, α -трансформирующий фактор роста, амфирегулин и др.), взаимодействующие с общим рецептором, инсулиноподобные факторы роста (ИФР), соматостатин и др. [25]. Рецепторы этих ростовых факторов были обнаружены в опухолях больных раком молочной железы, и их клиническое значение изучается в последние годы достаточно активно. Многими исследователями, в том числе, и в нашей лаборатории, было показано, что наличие в опухоли молочной железы рецепторов ЭФР (РЭФР), в особенности, в отсутствие рецепторов стероидных гормонов, свидетельствует о неблагоприятном прогнозе заболевания даже на ранних стадиях и о резистентности к эндокринной терапии [1, 3, 4, 22]. Существуют данные о том, что наличие рецепторов ИФР и рецепторов соматостатина указывает на более благоприятный прогноз рака молочной железы [16].

Тем не менее, из-за неоднозначности результатов, полученных разными авторами, ни один из показателей, характеризующих чувствительность рака молочной железы к ауто/паракринным регуляторам, не вошел пока в рутинную клиническую практику так прочно, как исследование уровня рецепторов стероидных гормонов [30]. Можно ожидать, однако, что в ближайшее время интерес к исследованию РЭФР при раке молочной железы вновь возрастет в связи с тем, что на стадию клинических испытаний вышли препараты, специфически воздействующие на РЭФР, –

моноклональные антитела к рецептору и ингибиторы внутренней тирозинкиназы РЭФР, реализующей первый этап передачи митогенного сигнала [11].

Следует отметить, что до настоящего времени «золотым стандартом» при исследовании РЭФР считается радиолигандное определение в мембранной фракции тканей с использованием ^{125}I -меченого ЭФР и последующего разделения на гидроксилапатите [23].

HER2/neu – мишень для специфической терапии

Определенный прорыв в области практического использования маркеров, связанных с РЭФР-зависимой регуляцией роста рака молочной железы, уже произошел после появления препарата герцептин, представляющего собой гуманизированные антитела к HER2/neu – одному из рецепторов семейства ErbB, к которому принадлежит и РЭФР [21, 33].

Семейство тирозинкиназных рецепторов – продуктов онкогенов группы c-erbB, в которое входят четыре сходных по структуре трансмембранных рецептора – РЭФР (ErbB-1), ErbB-2 (HER2/neu), ErbB-3 (HER3) и ErbB-4 (HER4), – это одна из важнейших регуляторных систем передачи митогенного сигнала [18, 29].

Помимо структуры, рецепторы семейства ErbB отличаются между собой по относительной специфичности и сродству к различным общим лигандам. Основной особенностью всех рецепторных тирозинкиназ является трансмембранная локализация и необходимость во взаимодействии с соответствующим лигандом (активирующим фактором) для реализации киназной активности и последующих биологических эффектов. После активации в результате связывания лигандов и димеризации внутренняя тирозинкиназа рецепторов активируется и приобретает способность фосфорилировать как сам рецептор, так и другие клеточные белки, участвующие в передаче митогенного сигнала. Рецепторы семейства ErbB могут образовывать как гомо-, так и гетеродимеры, при этом во многих случаях наиболее активными являются гетероструктуры с участием рецептора HER2/neu, не имеющего собственного лиганда.

Таким образом, HER2/neu – это уникальный представитель рассматриваемого семейства трансмембранных тирозинкиназ, так как, не имея собственного лиганда и не взаимодействуя ни с одним из известных факторов роста, активирующих родственные рецепторы, он является, тем не менее, ключевым звеном передачи митогенных сигналов всех ЭФР-подобных пептидов и необходим для успешного функционирования всей системы [29].

Блокирование HER2/neu может существенно замедлить или остановить рост опухолей, зависимых

от подобных стимулов, однако эффективное использование биологически активных препаратов предусматривает предварительную оценку индивидуальной чувствительности больных к данному виду лечения. В случае герцептина общепринятым и наиболее адекватным методом оценки чувствительности является использование иммуногистохимического окрашивания опухолевых тканей на белок HER2/neu (p185) с последующей оценкой амплификации гена c-erbB-2 методом флуоресцентной гибридизации in situ (FISH) [10, 34]. Как правило, менее дорогостоящее иммуногистохимическое исследование проводится в качестве предварительного общего скрининга, а FISH-гибридизация используется в спорных случаях, когда ИГХ метод не дает строго положительного или строго отрицательного ответа. Подобный подход хорошо зарекомендовал себя в лечении больных раком молочной железы, позволяя обеспечить максимальную эффективность лечения герцептином, избежав при этом неоправданных затрат.

Что касается прогностического значения гиперэкспрессии или амплификации гена c-erbB-2, то, несмотря на гигантский материал (к настоящему времени в различных лабораториях мира обследовано уже более 12 000 больных раком молочной железы), единого мнения о прогностической ценности HER2/neu пока нет [9, 21]. Некоторые авторы отмечают его неблагоприятное влияние на безрецидивную выживаемость больных раком молочной железы без метастазов в лимфатические узлы, другие исследователи не находят достоверной взаимосвязи этих показателей. Опубликованы данные, свидетельствующие о том, что опухоли с амплифицированным геном HER2/neu слабо реагировали на эндокринную терапию, но были чувствительны к последующей химиотерапии. В настоящее время принято считать также, что больным с HER2/neu-положительными опухолями следует рекомендовать более интенсивные режимы химиотерапии, чем больным с опухолями, не имеющими повышенной экспрессии этого онкогена [19].

Система активации плазминогена – показатель метастатического потенциала рака молочной железы

Способность к метастазированию и инвазии – одно из фундаментальных свойств злокачественных опухолей, важнейшим механизмом которого является разрушение окружающей базальной мембраны и внеклеточного матрикса ассоциированными с опухолью протеазами [12]. Эти протеазы также участвуют в неоангиогенезе, способствуя распространению новых сосудов в опухоли [28].

Протеолитический каскад активации плазминогена в опухолевой ткани занимает центральное место во всех этих процессах. Считается, что плазмин, который способен уменьшить уровень внеклеточных

матричных гликопротеидов и активировать некоторые прометаллопротеазы, например, коллагеназу 4-го типа, играет решающую роль как в локальном распространении опухоли, так и в формировании метастазов в отдаленных органах и тканях. В многоступенчатой цепочке протеаз, ведущей к разрушению внеклеточного матрикса, ключевую позицию занимает активатор плазминогена урокиназного типа (uPA). Важную роль играет также находящийся на поверхности клеток рецептор uPA, поскольку при связывании с ним способность uPA активировать плазминоген увеличивается. В целом, процесс образования плазмина представляет собой циклическую амплификацию, регулируемую по механизму обратной связи.

Помимо uPA, в активации плазминогена участвует также активатор тканевого типа (tPA), однако, его роль при развитии опухолей, по-видимому, противоположна и сводится к разрушению опухолевых клеток и защите окружающих тканей. Активность uPA и tPA подавляется двумя белковыми ингибиторами, принадлежащими к семейству серпинов, – PAI-1 и PAI-2 [7]. На основании некоторых экспериментальных и клинических данных, считается, что при опухолевом росте два ингибитора активаторов плазминогена также играют разную роль: PAI-1 защищает опухолевые клетки от саморазрушения, а PAI-2 тормозит протеолитические процессы во внеклеточном матриксе.

Различные компоненты системы активации плазминогена в ткани рака молочной железы могут находиться как на самих опухолевых клетках, так и на фибробластах стромы, инфильтрирующих опухоль лимфоцитах и макрофагах, эндотелиальных клетках. В связи с этим можно считать, что процесс активации плазминогена носит преимущественно паракринный характер.

Уровень и соотношение экспрессии компонентов системы активации плазминогена в опухолевой ткани может служить показателем метастатической и инвазивной активности опухоли, являясь вследствие этого биологически значимым фактором прогноза при злокачественных опухолях или показателем риска малигнизации при доброкачественных новообразованиях [12, 13]. Кроме того, подавление активации плазминогена по урокиназному типу на различных уровнях может стать одним из подходов к разработке новых видов антиметастатической терапии, для эффективного использования которых в клинике необходимо выявлять группы больных, потенциально чувствительных к такому лечению. Разработки подобных препаратов уже достаточно активно ведутся в экспериментальных лабораториях и фармацевтических фирмах, что делает исследование их белков-мишеней в опухолях человека особенно актуальным [32].

В достаточно репрезентативных и многочисленных исследованиях продемонстрирована высокая

прогностическая значимость uPA и PAI-1 при раке молочной железы [2, 26, 32]. Они являются факторами неблагоприятного прогноза: риск рецидивирования или метастазирования, даже при ранних стадиях заболевания, возрастает в 1,5–3 раза, если уровень этих белков превышает определенные пороговые значения. Прогностическое значение uPA и PAI-1 сохраняется, как правило, и при многофакторном анализе, что свидетельствует о том, что они являются независимыми факторами прогноза рака молочной железы. В связи с этим, определение этих показателей может быть рекомендовано для больных ранними стадиями рака молочной железы с относительно благоприятным прогнозом для выявления среди них подгрупп с повышенным риском рецидивирования и/или метастазирования, требующих более интенсивного лечения.

Другие компоненты системы активации плазминогена (рецептор uPA, tPA, PAI-2) значительно менее изучены в прогностическом плане. Установлено лишь, что высокий уровень рецептора uPA ухудшает прогноз в некоторых группах больных раком молочной железы, а высокий уровень tPA и PAI-2, напротив, – улучшает.

Наиболее адекватным методом оценки уровня экспрессии компонентов системы активации плазминогена считается в настоящее время количественное иммуноферментное определение их концентрации в цитозолях тканей. К сожалению, единые пороговые значения пока не установлены, хотя уже проводятся международные кооперированные исследования в этом направлении [8].

Фактор роста эндотелия сосудов – показатель активности неоангиогенеза

В последние годы большое внимание уделяется проблеме неоангиогенеза – формирования новых сосудов – в злокачественных опухолях. В отличие от васкулогенеза, ангиогенез – это процесс ответвления новых капиллярных отростков от уже существующих кровеносных сосудов. Уже не вызывает сомнения тот факт, что опухоль не может развиваться и расти без образования в ней разветвленной сети капилляров, обеспечивающих снабжение клеток кислородом и питательными веществами. Изучение молекулярных механизмов ангиогенеза позволило перейти от микроскопической оценки плотности сосудов в опухолевой ткани к исследованию конкретных молекул, участвующих в регуляции образования и роста новых сосудов. Важнейшим положительным регулятором ангиогенеза бесспорно является фактор роста эндотелия сосудов (ФРЭС), называемый также фактором проницаемости сосудов [14]. Уникальность этого фактора заключается в том, что, в отличие от всех других факторов роста, он митогенен только по отношению к эндотелиальным клет-

кам. Доказано, что ФРЭС играет ключевую роль в неоангиогенезе при раке молочной железы.

Результаты ряда ретроспективных клинических исследований, опубликованные в самое последнее время, свидетельствуют о том, что экспрессия ФРЭС при раке молочной железы имеет, по-видимому, существенное значение для прогноза заболевания, а также влияет на чувствительность опухолей к гормональному и лекарственному лечению [17, 24]. Его высокий уровень свидетельствует о неблагоприятном прогнозе как при раннем, так и при распространенном РМЖ. Кроме того, в настоящее время активно создаются и исследуются новые препараты с антиангиогенными свойствами, и оценка активности ФРЭС-зависимого ангиогенеза может стать основой для их целенаправленного применения [20].

Методически, в работах, посвященных роли ФРЭС при раке молочной железы, равноправно представлены иммуноферментный и иммуногистохимический методы. Попытки использовать показатели содержания ФРЭС в крови (как в сыворотке, так и в плазме) в качестве адекватной замены тканевой экспрессии этого белка при оценке активности ангиогенеза в РМЖ и прогнозировании исхода заболевания и/или эффективности терапии до настоящего времени не принесли большого успеха [6, 31].

Другие молекулярные факторы прогноза рака молочной железы

Как уже отмечалось, количество показателей, которые на основании экспериментальных исследований и теоретических построений могут рассматриваться в качестве молекулярных маркеров рака молочной железы, очень велико, поэтому практически невозможно в одной статье осветить подробно значение каждого из них. В настоящее время, помимо рассматривавшихся выше факторов, достаточно подробно изучены онкогены *c-myc* и *int-2/bcl-1*, супрессорные белки – продукты генов *p53* и ретинобластомы ($pp110^{RB1}$), активно изучается роль интегринов – белков, стабилизирующих межклеточные контакты и целостность ткани [5, 13, 15]. Для некоторых из этих маркеров, в частности, для *p53*, продемонстрирована достаточно значимая роль в прогнозе рака молочной железы [19,

24]. Будучи важными компонентами жизненно важных процессов в клетках, например, контролируемой клеточной гибели – апоптоза, они также являются потенциальными мишенями биотерапии.

Заключение

Благодаря успехам биохимии и молекулярной биологии, в настоящее время в арсенале исследователей и клиницистов имеется огромное количество биологически значимых показателей, которые могут помочь в прогнозе раннего рака молочной железы и выборе адъювантной терапии при распространенном процессе. Тем не менее, большинство молекулярных маркеров пока еще прочно не вошли в рутинную практику, что определяется высокой стоимостью подобных исследований и сложностью интерпретации данных одновременного анализа многих прогностических факторов.

По-прежнему, ведущая роль отводится определению рецепторов стероидных гормонов, главным образом, с целью оценки чувствительности к эндокринной терапии. Все большее значение приобретает исследование HER2/neu, повышенный интерес к которому обусловлен, на наш взгляд, активным внедрением на рынок препарата герцептин и может со временем несколько ослабеть. Можно ожидать нового всплеска интереса к РЭФР, также связанного с появлением специфических анти-РЭФР препаратов. Мы полагаем также, что исследование двух тесно взаимосвязанных систем – протеолитического каскада активации плазминогена и ФРЭС-зависимого ангиогенеза – имеет хорошие перспективы в качестве факторов прогноза при раннем раке молочной железы.

Задачей исследователей, работающих в данной области, является определение того набора наиболее значимых, дополняющих друг друга показателей, который позволил бы при минимально возможной стоимости обследования обеспечить максимальную эффективность лечения каждого больного. Спектр исследований в каждом конкретном случае может зависеть от стадии заболевания, возраста больной, планируемой терапии и материально-технической базы учреждения.

Литература

1. Герштейн Е.С., Бассалык Л.С., Летагин В.П. Клиническое значение исследования рецепторов эпидермального фактора роста при раке молочной железы // *Вопр. онкол.* – 1994. – Т. 40(7-12). – С. 266-275.
2. Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е. Клинические перспективы исследования системы активации плазминогена при раке молочной железы // *Вестн. РАМН.* – 1999. – №8. – С. 58-61.
3. Герштейн Е.С., Муавия М.А., Летагин В.П., Кушлинский Н.Е. Прогностическое значение определения рецепторов эпидермального фактора роста у больных раком молочной железы I–II стадий: результаты шестилетнего наблюдения // *Вопр. онкол.* – 1998. – Т. 44(4) – С. 383-389.
4. Кушлинский Н.Е., Герштейн Е.С. Биохимические критерии прогноза и гормоночувствительности рака молочной железы: сравнительный анализ клинического значения исследования рецепторов стероидных гормонов и рецепторов эпидермального фактора роста в опухолях // *Маммология.* – 1996. – № 3. – С. 15-25.
5. Кушлинский Н.Е., Герштейн Е.С. Современные возможности молекулярно-биохимических методов оценки биологического «поведения» рака молочной железы // *Вестн. РАМН.* – 2001. – №9. – С. 65-70.

6. 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(11). – P. 2898-2905.
7. Andreasen P.A., Georg B., Lund L.R. et al. Plasminogen activator inhibitors: hormonally regulated serpins// *Mol. Cell. Endocrinol.* – 1990. – Vol. 68. – P.1-19.
8. Benraad Th.J., Geurts-Moespot J., Grondal-Hansen J. et al. Immunoassays (ELISA) of urokinase-type plasminogen activator (uPA): report of an EORTC/BIOMED-1 Workshop// *Europ. J. Cancer.* – 1996. – Vol. 32A(8). – P. 1371-1381.
9. Berns P.M.J.J., Klijn J.G.M., Van Staveren I.L. et al. Prevalence of amplification of the oncogenes c-myc, HER2/neu and int-2 in one thousand human breast tu-mors: correlation with steroid receptors// *Europ. J. Cancer.* – 1992. – Vol. 28. – P. 697-700.
10. Birner P., Oberhuber G., Stani J. et al. Evaluation of the United States Food and Drug Administration-approved scoring and test system of HER-2 protein ex-pression in breast cancer// *Clin. Cancer Res.* – 2001. – Vol. 7(6). – P. 1669-1675.
11. Ciardiello F., Tortora G. A novel approach in the treatment of cancer: targeting the epidermal growth factor receptor // *Clin. Cancer Res.* – 2001. – Vol. 7(10). – P. 2958-2970.
12. DeVries T.J., vanMuijen G.N., Ruiter D.J. The plasminogen activation system in tumour invasion and metastasis// *Pathol. Res. Pract.* – 1996. – Vol. 192. – P. 718-733.
13. Duffy M.J. Biochemical markers in breast cancer: which ones are clinically useful? // *Clin. Biochem.* – 2001. – Vol. 34(5). – P. 347-352.
14. Ferrara N. The role of vascular endothelial growth factor in pathological angio-genesis// *Breast Cancer Res. Treat.* – 1995. – Vol. 36(2). – P. 127-137.
15. Foekens J.A., Peters H.A., Portengen H. et al. Cell biological prognostic factors in breast cancer: a review// *J. Clin. Immunoassay.* – 1991. – Vol. 14. – P. 184-196.
16. Foekens J.A., Portengen H., Van Putten W.L.J. et al. Prognostic value of recep-tors for insulin-like growth factor I, somatostatin, and epidermal growth factor in human breast cancer// *Cancer Res.* – 1989. – Vol. 49. – P. 7002-7009.
17. Gasparini G. Clinical significance of determination of surrogate markers of an-giogenesis in breast cancer// *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* – 2001. – Vol. 37(2). – P. 97-114.
18. Hackel P.O., Zwick E., Prenzel N., Ullrich A. Epidermal growth factor recep-tors: critical mediators of multiple receptor pathways// *Current Opinion on Cell Biology.* – 1999. – Vol. 11. – P. 184-189.
19. Hamilton A., Piccart M. The contribution of molecular markers to the prediction of response in the treatment of breast cancer: a review of the literature on HER-2, p53 and BCL-2// *Ann. Oncol.* – 2000. – Vol. 11(6). – P. 647-663.
20. Harris A.L. Anti-angiogenesis therapy and strategies for integrating it with ad-juvant therapy// *Recent Results Cancer Res.* – 1998. – Vol. 152. – P. 341-352.
21. Kaptain S., Tan L.K., Chen B. Her-2/neu and breast cancer// *Diagn. Mol. Pathol.* – 2001. – Vol. 10(3). – P. 139-152.
22. Klijn J. G., Berns P.M., Schmitz P.I. et al. The clinical significance of epidermal growth factor receptor (EGF-R) in human breast cancer: a review on 5232 pati-ents // *Endocrin. Rev.* – 1992. – Vol. 13. – P. 3-17.
23. Koenders P.G., Faverly D., Beex L.V. et al. Epidermal growth factor re-ceptors in human breast cancer: a plea for standardization of assay methodology // *Europ. J. Cancer.* – 1992. – -Vol. 28. – P. 693-697.
24. Linderholm B., Lindh B., Tavelin B. et al. p53 and vascular-endothelial-growth-factor (VEGF) expression predicts outcome in 833 patients with primary breast carcinoma// *Int. J. Cancer.* – 2000. – Vol. 89(1). – P. 51-62.
25. Lippman M.E., Dickson R.B., Gelmann E.P. et al. Growth regulatory peptide production by human breast carcinoma cells// *J. Steroid Biochem.* – 1988. – Vol. 30. – -P. 53-61.
26. Look M.P., Foekens J.A. Clinical relevance of the urokinase plasminogen acti-vator system in breast cancer// *APMIS.* – 1999. – Vol. 107. – P. 150-159.
27. McGuire W.L. Hormone receptors: their role in predicting prognosis and re-sponse to endocrine therapy// *Semin. Oncol.* – 1978. – Vol. 5. – P. 428-433.
28. Mignatti P., Rifkin D.B. Plasminogen activators and matrix metalloproteinases in angiogenesis// *Enzyme Protein.* – 1996. – Vol. 49. – P. 117-137.
29. Moghal N., Sternberg P.W. Multiple positive and negative regulators of signal-ing by the EGF-receptor// *Current Opinion on Cell Biology.* – 1999. – Vol. 11. – P. 190-196.
30. Nicholson R.I., Gee J.M., Harper M.E. EGFR and cancer prognosis // *Europ. J. Cancer.* – 2001. – Vol. 37 (Suppl. 4). – P. 9-15.
31. Salven P., Perhoniemi V., Tykka H. et al. Serum VEGF levels in women with a benign breast tumor or breast cancer// *Breast Cancer Res. Treat.* – 1999. – Vol. 53(20). – P. 161-166.
32. Schmitt M., Harbeck N., Thomssen C. et al. Clinical impact of the plasminogen activation system in tumor invasion and metastasis: prognostic relevance and tar-get for therapy// *Thromb. Haemost.* – 1997. – Vol. 78(1). – P. 285-296.
33. Schmitt S.J. Breast cancer in the 21st century: neu opportunities and neu chal-lenges // *Mod. Pathol.* – 2001. – Vol. 14(3). – P. 213-218.
34. Wang S., Saboorian M.H., Frenkel E. et al. Laboratory assessment of the status of Her-2/neu protein and oncogene in breast cancer specimens: comparison of immunohistochemistry assay with fluorescence in situ hybridisation assays // *J. Clin. Pathol.* – 2000. – Vol. 53(5). – P. 374-381.