

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ER α И АРОМАТАЗЫ В ОПУХОЛЕВЫХ ТКАНЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ЭНДОМЕТРИЯ

Е.П. Хвостова¹, В.О. Пустыльняк¹, О.З. Гольдинштейн¹,
С.Э. Красильников^{3,4}, С.В. Сидоров^{2,4}, Л.Ф. Гуляева^{1,4}

*Институт молекулярной биологии и биофизики СО РАМН, г. Новосибирск¹
1-я Городская клиническая больница, г. Новосибирск²
Областной онкологический диспансер, г. Новосибирск³
Новосибирский государственный университет⁴*

В работе был определен уровень экспрессии генов эстрогенового рецептора (ER α) и ароматазы (CYP19) в опухолевых и прилежащих к ним нетрансформированных тканях 10 женщин, больных раком эндометрия, и 10 больных раком молочной железы. Сравнение профилей экспрессии генов показало совпадение усиления экспрессии генов CYP19 и ER α у 6 больных с аденокарциномой тела матки и у 5 больных раком молочной железы, что может свидетельствовать о гормональной природе этих опухолей. У остальных больных в опухолях зарегистрировано увеличение экспрессии лишь одного из этих генов. В одной из десяти опухолей молочной железы наблюдалось уменьшение экспрессии генов CYP19 и ER α , свидетельствующее о гормонезависимой природе опухоли. Данные по экспрессии ER α в 78 % случаев подтверждены результатами иммуногистохимического анализа. Таким образом, проведенное исследование подтверждает имеющиеся на сегодняшний день данные, что более чем в половине случаев злокачественные опухоли молочной железы и эндометрия являются гормонозависимыми.

Ключевые слова: ER α , ароматаза, экспрессия гена, ОТ-ПЦР, рак молочной железы, рак эндометрия.

COMPARATIVE ANALYSIS OF ER α AND AROMATASE GENES EXPRESSION IN TUMOROUS TISSUES OF MAMMARY GLAND AND ENDOMETRIUM

E.P. Khvostova¹, V.O. Pustyl'nyak¹, O.Z. Goldinshteyn¹, S.E. Krasilnikov^{3,4}, S.V. Sidorov^{2,4}, L.F. Gulyaeva^{1,4}

*Institute molecular biology and biophysics SB RAMS, Novosibirsk¹,
1-st municipal clinical hospital, Novosibirsk²,
Regional oncological hospital, Novosibirsk³,
Novosibirsk state university⁴*

In this work expression level of ER α and CYP19 genes in tumor and adjacent untransformed tissues of ten women with endometrial cancer and ten women with breast cancer were determined. Comparison of the gene expression profiles has demonstrated the increase of ER α and CYP19 genes expression in six patients with adenocarcinoma of corpus uteri and five patients with breast cancer. It may be the evidence of hormonal origin of malignant tumors in these patients. In tumors of other patients the increase of expression one of these genes only was observed. In one of ten tumors of mammary gland the decrease of CYP19 and ER α genes expression was observed. This fact is evidence of hormone-independent origin of tumor. The results of ER α gene expression are in close agreement with immunohistochemical analysis in 78 % cases. Thus, this investigation confirms the available data to the effect that more than 50 % cases of malignant tumors of mammary gland and endometrium are hormone-dependent.

Key words: ER α , aromatase, gene expression, RT-PCR, breast cancer, endometrial cancer.

В последнее десятилетие во всем мире, в том числе и в России, отмечается увеличение частоты возникновения гормонозависимых опухолей у женщин. В первую очередь это относится к таким заболеваниям, как рак тела матки (РТМ) и молочной железы (РМЖ). В связи с этим важен поиск молекулярных маркеров для улучшения диагностики, что расширит возможности выявления опухолевых заболеваний на ранних

стадиях, а также поможет внедрить новые методы лечения и профилактики. Одним из основных факторов риска развития РТМ и РМЖ является гиперэстрогения, к которой приводит ряд факторов, в частности малое число родов или бесплодие, ожирение, поздняя менопауза, ановуляторный цикл, синдром поликистозных яичников, эстрогенпродуцирующие опухоли яичников, повышенная продукция андрогенов

(адрено-индуцированный гиперкортицизм) [10]. В свою очередь, эстрогены стимулируют пролиферацию клеток, индуцируя факторы роста и их рецепторы, в том числе и эстрогеновый рецептор α (ER α) [13]. Увеличение концентрации эстрогенов в условиях дефицита прогестерона может приводить к гиперплазии тканей молочной железы и 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 и РМЖ могут быть сведения о повышении частоты заболеваний у женщин после менопаузы, в течение длительного времени получавших заместительную терапию эстрогенсодержащими препаратами [12].

Одним из важных элементов патогенеза гормонозависимого рака является образование эстрогенов из андрогенов *in situ*. Эта реакция катализируется микросомальным, НАДФН-зависимым ферментом – цитохромом P450 19-го семейства (CYP19 или ароматаза) [1, 2]. Основным источником эстрогенов в организме женщины, находящейся в пременопаузе, являются яичники. Кроме того, эстрогены синтезируются и в других органах (клетки жировой ткани, кожи и др.), которые являются важнейшим источником этих стероидов после менопаузы. Несмотря на то, что общее количество экстрагенитальных эстрогенов невелико, их высокая концентрация в отдельной ткани может обуславливать значительное влияние *in situ* [15]. Поэтому в настоящее время широкое распространение получила теория локального синтеза эстрогенов, согласно которой нарушение регуляции тканеспецифичного промотора гена ароматазы приводит к усилению активности фермента, что сопровождается увеличением концентрации эстрогенов, приводящей к злокачественной трансформации [5].

Биологический эффект эстрогенов реализуется через их взаимодействие с эстрогеновыми рецепторами, которые, в свою очередь, активируют гены-мишени во многих тканях. В настоящее время идентифицировано два вида ER: α и β , биологическое значение которых интенсивно изучается. Так, показано, что повышенная экспрессия ER α сопровождает процессы

трансформации во многих тканях [6], тогда как ER β играет ключевую роль в регуляции митотической активности, обеспечивая защиту от ER α -индуцированной гиперпролиферации [11]. Однако роль ER β в гормональном канцерогенезе остается до конца не изученной. Показано, что содержание ER α 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.

Таким образом, определение содержания эстрогеновых рецепторов и активности ароматазы поможет выявить гормональную природу опухоли, что является, прежде всего, важным показателем для проведения эффективного лечения. Следует заметить, что в настоящее время в клинике для определения эстрогеновых рецепторов используется иммуногистохимический анализ (ИГХА), тогда как клинический метод определения ароматазы еще не поставлен. Целью настоящей работы являлось определение уровня экспрессии генов эстрогенового рецептора α (ER α) и ароматазы (CYP19) в злокачественных опухолях женщин, больных раком эндометрия и молочной железы.

Материал и методы

Анализировали 20 пар (опухоль и условная норма) образцов тканей пациентов, полученных в ходе хирургического вмешательства; из них 10 пар – образцы тканей пациентов с аденокарциномой тела матки (средний возраст больных – 57 ± 15 лет) и 10 – с инфильтративным протоковым раком молочной железы (средний возраст больных – 64 ± 17 лет). За условную норму принимали гистологически нормальные ткани эндометрия и молочной железы, взятые из прилегающей к опухоли ткани. Верификация диагноза, забор образцов и их патоморфологическая характеристика проводились врачами гинекологического отделения Новосибирского областного онкологического диспансера и 3-го онкологического отделения муниципальной городской больницы № 1. Стадия злокачественного процесса установлена по классификации TNM (табл. 1). Эксперименты соответствовали

Таблица 1

**Характеристика клинических образцов
и результаты изменения уровня экспрессии генов CYP19 и ER α**

| Номер пациентки | Описание опухолевых образцов | | Иммуногисто - химия | Относительный уровень мРНК | |
|---------------------|--|--------|---------------------|----------------------------|-------|
| | TNM | Стадия | ER α | ER α | CYP19 |
| Рак молочной железы | | | | | |
| 133 | T ₂ N ₀ M ₀ | 2 | + | ↑ | ↑ |
| 150 | T ₂ N ₂ M ₀ | 2 | - | ↓ | ↑ |
| 172 | T ₂ N ₀ M ₀ | 2 | + | ↑ | ↑ |
| 173 | T ₁ N ₂ M ₀ | 1 | - | ↓ | ↑ |
| 178 | T ₂ N ₁ M ₀ | 2 | + | ↑ | ↑ |
| 180 | T ₂ N _x M ₀ | 2 | + | ↑ | ↑ |
| 194 | T ₂ N ₁ M ₀ | 2 | + | ↑ | ↓ |
| 202 | T ₂ N _x M ₀ | 2 | + | ↑ | ↓ |
| 203 | T ₁ N _x M ₀ | 1 | н.о. | ↓ | ↑ |
| 206 | T ₂ N _x M ₀ | 2 | + | ↓ | ↓ |
| Рак тела матки | | | | | |
| 1 | T ₁ N ₀ M ₀ | 1 | н.о. | | ↑ |
| 2 | T ₂ N ₀ M ₀ | 2 | н.о. | ↑ | ↑ |
| 3 | T ₁ N ₀ M ₀ | 1 | н.о. | | ↑ |
| 4 | T ₂ N ₀ M ₀ | 2 | н.о. | ↑ | ↑ |
| 5 | T ₂ N ₀ M ₀ | 2 | н.о. | ↓ | ↑ |
| 6 | T ₁ N _x M ₀ | 1 | н.о. | ↓ | ↑ |
| 7 | T ₁ N ₀ M ₀ | 1 | н.о. | ↑ | ↑ |
| 8 | T ₁ N ₀ M ₀ | 1 | н.о. | ↑ | ↑ |
| 9 | T ₂ N ₀ M ₀ | 2 | н.о. | ↑ | ↑ |
| 10 | T ₂ N ₀ M ₀ | 2 | н.о. | ↑ | ↑ |

Примечание: н.о. – не определялось; ↑ – повышение уровня экспрессии гена; ↓ – понижение уровня экспрессии гена, || – экспрессия гена не изменялась; + – ER α > 10%, - – ER α < 10%.

этическим стандартам биоэтического комитета ГУ «НИИ МББ СО РАМН», разработанным в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.03. Все лица, участвующие в исследовании, дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Микроскопические тканевые срезы толщиной 5 мкм депарафинизировали, дегидратировали в спиртах. Кипятили в цитратном буфере (рН 7,6) 5 мин в микроволновой печи. Эндogenous пероксидазу блокировали в течение 30 мин раствором (0,01 % кислый натрий и 1 % перекись водорода). Неспецифичное связывание блокировали кроличьей сывороткой с TBS (150 мл/10мл) в течение 30 мин. Слайды инкубировали 1 ч при комнатной температуре с мышинными моноклональными антителами.

Таблица 2

Праймеры для генов ERα, CYP19, GAPDH и 18S rRNA человека

| Ген | Последовательности нуклеотидных праймеров | | Размер продуктов ПЦР, п.н. |
|----------|---|--------------------------------|----------------------------|
| | Прямой | Обратный | |
| GAPDH | Прямой | 5'-CACCCATGGCAAATCCATGGC-3' | 297 |
| | Обратный | 5'-GCATTGCTGATGATCTTGAGGCT-3' | |
| ERα | Прямой | 5'-ATCCACCGAGTCCTGGACAAGATC-3' | 181 |
| | Обратный | 5'-GGCACCACGTTCTTGCACTTCATG-3' | |
| CYP19 | Прямой | 5'-TGTGGACGTGTTGACCCCTCT-3' | 99 |
| | Обратный | 5'-ACCACGATAGCACTTTCGTCCA-3' | |
| 18S rRNA | Прямой | 5'-GTAACCCGTTGAACCCCAAT-3' | 131 |
| | Обратный | 5'-CCATCCAATCGGTAGTAGCG-3' | |

ми против ER (ДАКА, разведение 1:500), 30 мин со вторичными антителами (разведение 1:1000). Детекцию иммуноокрашивания проводили с помощью Peroxidase Detection Reagent Pack (Pierce) с диаминобензидином в качестве субстрата. Ядра дополнительно окрашивали гематоксилином.

Суммарную РНК из опухолевой и прилежащей ткани выделяли гуанидин-фенольным методом [9]. Количество РНК в пробе определяли спектрофотометрическим методом. Качественный анализ выделенной РНК проводили путем электрофоретического разделения в 1,5 % агарозном геле. Анализ экспрессии генов CYP19 и ERα проводили методом мультиплексной ОТ-ПЦР. Объем реакционной смеси для ПЦР составлял 20 мкл. В качестве эндогенного внутреннего контроля, относительно которого проводилось нормирование продуктов амплификации исследуемого гена, были выбраны гены «домашнего хозяйства» GAPDH для ERα и 18S rRNA для CYP19.

Для проведения мультиплексной ОТ-ПЦР использовали праймеры, синтезированные в компании «Лаборатория Медиген», г. Новосибирск (табл. 2). Продукты ПЦР генов CYP19 и 18S rRNA разделяли в 10 % полиакриламидном геле, окрашивали бромистым этидием (рис. 1А), ERα и GAPDH в 1,5 % агарозном геле (рис. 1Б), сканировали в УФ свете с помощью видеосистемы «DNA Analyzer» (г. Москва). Денситометрия проводилась с помощью компьютерной программы «Total Lab». Величину экспрессии

каждого гена представляли в относительных единицах как отношение интенсивности окрашивания специфической полосы генов CYP19 или ERα к интенсивности полосы генов 18S rRNA или GAPDH соответственно.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы «Origin 6.1». В качестве отклонения от среднего значения использовалась средняя статистическая ошибка, в качестве критерия достоверности был использован t-критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Для установления гормональной природы опухоли в клинике стандартным подходом является ИГХА эстрогеновых рецепторов. В настоящей работе наряду с данным методом с помощью ОТ-ПЦР была измерена экспрессия ERα в образцах опухолевой и прилежащей, не трансформированной ткани у 10 больных с диагнозом рак молочной железы. Характеристика этих опухолей с установленным в клинике статусом ER приведена в табл. 1. Как видно из таблицы, семь женщин имели рецептор-положительный эстрогеновый статус опухоли, а две – рецептор-отрицательный. Эти результаты позволяют сделать вывод, что в большинстве случаев (78 %) РМЖ является рецептор-положительным.

При исследовании экспрессии гена ERα у семи больных наблюдалось повышение уровня экспрессии гена ERα в опухолевой ткани в 1,5 – 2,2 раза по сравнению с нормой, тогда как у трех

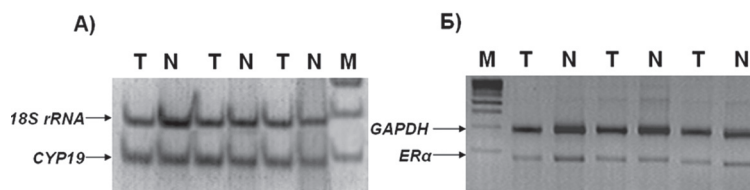


Рис. 1. Типичная картина разделения продуктов амплификации генов CYP19 и 18S rRNA (A) и ERα и GAPDH (Б); N – нетрансформированная ткань, Т – опухолевая ткань, М – ДНК маркер

больных наблюдалась обратная картина (рис. 2А). При сопоставлении этих данных с ИГХА (табл. 1) видно, что в 78 % случаев регистрируется совпадение результатов. Расхождение результатов в остальных случаях может быть связано с недостаточной специфичностью ИГХА, где определяется суммарное содержание всех видов эстрогеновых рецепторов. Тем не менее в большинстве случаев использованный нами метод ОТ-ПЦР показал совпадения с ИГХА.

Для РТМ подходы к определению гормонального статуса опухоли пока находятся в стадии разработки, тем не менее проблема также важна как для лечения, так и для прогноза этого заболевания. Имеющиеся литературные данные по экспрессии ERα достаточно противоречивы, в одних источниках указывается на повышение экспрессии ERα в опухолевой ткани эндометрия по сравнению с нормой [14], тогда как в других сообщается о снижении экспрессии ERα [16], что свидетельствует о недостаточно ясной картине гормональной природы опухолей эндометрия. Поэтому следующим шагом было определение экспрессии эстрогенового рецептора в злокачественных опухолях эндометрия.

Оказалось, что у шести из 10 исследуемых больных в опухолевой ткани наблюдалось 1,5–2-кратное усиление экспрессии гена ERα по сравнению с нормой, у двух пациентов наблюдалась обратная картина, у двух уровень экспрессии гена ERα не изменялся (рис. 2Б). Таким образом, в тканях эндометрия, как и в случае РМЖ, более чем в половине случаев регистрировалось повышение экспрессии гена ERα. Этот факт также может говорить в пользу гормональной природы опухолей для таких больных. Следует заметить, что отсутствие изменений в экспрессии ERα в анализируемых образцах не исключает гормональной природы опухоли, так как ее рост может поддерживаться за счет постоянного синтеза эстрогенов, где существенную роль играет повышение активности ароматазы или стероидной сульфатазы [12].

На сегодняшний день считается доказанным тот факт, что локальное усиление экспрессии гена ароматазы в тканях-мишенях является одним из этиологических факторов возникновения и поддержания роста гормонозависимых опухолей у женщин [7]. Показано, что у женщин, страдающих эндометриозом или другими пред-

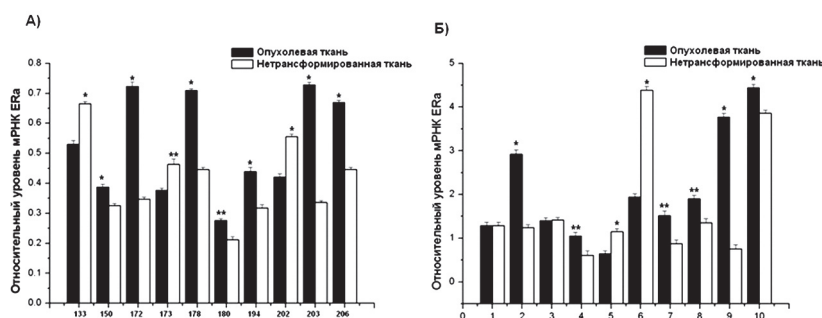


Рис. 2. Относительный уровень мРНК ERα в нетрансформированной и опухолевой ткани молочной железы (А) и эндометрия (Б). Представлено среднее значение ± SD. Каждый эксперимент проводился трижды. Отличия значений с достоверностью: * – $p < 0,01$, ** – $p < 0,05$

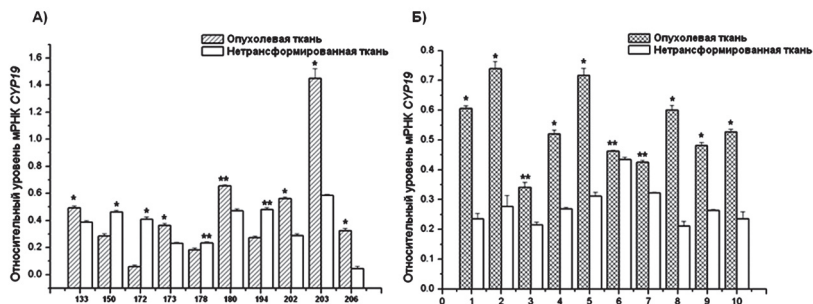


Рис. 3. Относительный уровень мРНК CYP19 в нетрансформированной и опухолевой ткани молочной железы (А) и эндометрия (Б). Представлено среднее значение \pm SD. Каждый эксперимент проводился трижды. Отличия значений с достоверностью: * – $p < 0,01$, ** – $p < 0,05$

раковыми заболеваниями эндометрия, определялся высокий уровень экспрессии гена ароматазы в репродуктивных органах, что позволяло судить о гормонозависимой природе данных заболеваний и проводить лечение ингибиторами ароматазы [8]. Аналогичные результаты были получены для РТМ и РМЖ [4, 17].

Для подтверждения гормональной природы опухолей, зависимой от активности ароматазы, нами было проведено измерение экспрессии ее гена в опухолях молочной железы и эндометрия. В опухолевых тканях молочной железы регистрировалось повышение уровня экспрессии гена CYP19 в 1,5–2,7 раза у шести из 10 исследуемых больных по сравнению с прилегающей нетрансформированной тканью, тогда как у четырех пациенток наблюдалась обратная картина (рис. 3А). Эти результаты могут свидетельствовать о различном вкладе ароматазы в опухолевый процесс в молочной железе.

У больных с аденокарциномой тела матки наблюдалась иная картина, во всех 10 исследуемых образцах было выявлено повышение уровня экспрессии гена CYP19 в опухолевой ткани (в 1,2–2,5 раза) относительно прилегающей нетрансформированной ткани (рис. 3Б). Эти данные могут свидетельствовать о существенном вкладе этого фермента в патогенез рака эндометрия, что подтверждают результаты, полученные N. Pathirage et al. [14]. Этот важный факт можно использовать для назначения лечения опухолей эндометрия ингибиторами ароматазы, что в настоящее время применяется в НИИ онкологии Томского научного центра СО РАМН [3].

При сравнении результатов экспрессии генов CYP19 и ER α в одной и той же опухолевой ткани установлено, что у шести больных с диагнозом аденокарцинома тела матки и у пяти больных с диагнозом рак молочной железы наблюдалось одновременное увеличение экспрессии генов CYP19 и ER α , что может говорить в пользу гормональной природы опухолей у данных больных (рис. 4). При этом увеличение экспрессии гена CYP19 и снижение экспрессии гена ER α отмечались у двух больных с диагнозом аденокарцинома тела матки и у двух с диагнозом рак молочной железы. Увеличение экспрессии CYP19 без изменения уровня экспрессии ER α наблюдалось у двух больных раком эндометрия. Такая комбинация также может говорить в пользу гормонозависимой опухоли, которая растет за счет постоянно поддерживаемой высокой концентрации эстрогенов без увеличения содер-

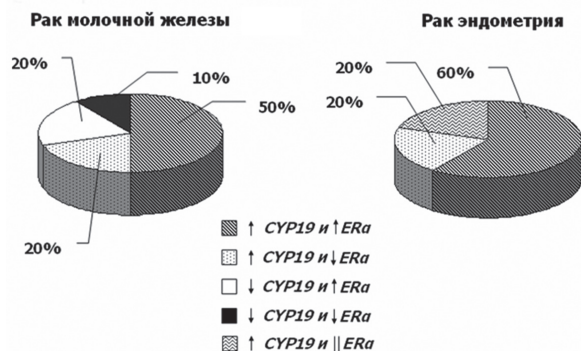


Рис. 4. Сравнение профилей экспрессии генов CYP19 и ER α . \uparrow – повышение уровня экспрессии гена; \downarrow – понижение уровня экспрессии гена; || – экспрессия гена не изменяется

жания ER α . Снижение экспрессии гена CYP19 и увеличение экспрессии гена ER α отмечалось у двух больных РМЖ, что также говорит о гормональной природе опухоли, возникновение которой, возможно, обусловлено увеличением количества и активности эстрогеновых рецепторов. В данном случае эстрогены могут поступать из крови либо синтезироваться *in situ* за счет повышения активности стероидной сульфатазы. Снижение экспрессии генов CYP19 и ER α наблюдалось лишь у одной пациентки с диагнозом рак молочной железы, что может свидетельствовать о гормоннезависимой природе опухоли. Такой комбинации не обнаружено для исследуемых опухолей эндометрия.

Анализ полученных результатов указывает на гетерогенность экспрессии генов CYP19 и ER α в исследуемых образцах. В половине случаев выявляется повышение экспрессии ER, сопровождающееся повышением экспрессии ароматазы. Аналогично можно выявить ситуацию, когда экспрессия данных генов существенно не меняется, хотя такие случаи довольно редки. Лишь в 1 из 20 анализируемых опухолей не выявляется повышение экспрессии ни ER α , ни ароматазы, что может говорить об истинной гормонозависимой природе опухоли. Интересным является также выявление опухолей с повышением экспрессии лишь одного из генов. Так, лишь в опухоли эндометрия выявлена комбинация, когда увеличение экспрессии ароматазы не сопровождалось увеличением эстрогенового рецептора. В этом случае можно предположить, что такие опухоли будут чувствительны к ингибиторам ароматазы. Напротив, лишь для РМЖ выявлено повышение экспрессии ER α и снижение ароматазы. В данном случае может быть рекомендована антиэстрогеновая терапия без применения ингибиторов ароматазы.

Таким образом, характеристика опухолей по экспрессии ER α и CYP19 может быть и одним из этапов разработки стратегии для дифферен-

циального лечения опухолей молочной железы и эндометрия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Берштейн Л.М. Гормональный канцерогенез. СПб.: Наука, 2000.
2. Берштейн Л.М., Ковалевский А.Ю., Ларионов А.А. Ароматаза в нормальном и малигнизированном эндометрии // Акушерство и гинекология. 2001. № 4. С. 9–11.
3. Бочкарева Н.В., Коломиец Л.А., Кондакова И.В. Патогенетическое обоснование использования ингибиторов ароматазы в лечении рака эндометрия // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2003. № 2. С. 57–60.
4. Иванова С.В., Бочкарева Н.В. Ароматазная активность при гиперпластических процессах и раке эндометрия // Бюллетень СО РАМН. 2003. № 1. С. 24–27.
5. Bulun S., Sebastian S., Takayama K. et al. 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.
6. 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.
7. Bulun S.E., Lin Z., Imir G. et al. Regulation of aromatase expression in estrogen-responsive breast and uterine disease: from bench to treatment // Pharmacol. Rev. 2005. Vol. 57. P. 359–383.
8. Bulun S.E., Yang S., Fang Z. et al. Role of aromatase in endometrial disease // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 2001. Vol. 79. P. 19–25.
9. Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction // Anal. Biochem. 1987. Vol. 162. P. 156–159.
10. Emons G., Fleckenstein G., Hinney D. et al. Hormonal interactions in endometrial cancer // Endocrine-Related Cancer. 2000. Vol. 7. P. 227–242.
11. Enmark E., Gustafsson J.A. Oestrogen receptors – an overview // J. Intern. Med. 1999. Vol. 2. P. 133–138.
12. Enmark E., Peltto-Huikko M., Grandien K. et al. Human estrogen receptor β - gene structure, chromosomal localisation and expression pattern // Clin. Endocrinol. Met. 1997. Vol. 82. P. 4258–4265.
13. Katzenellenbogen B.S. Estrogen Receptors: Bioactivities and Interactions with Cell Signaling Pathways // Biol. Reproduction. 2001. Vol. 54. P. 287–293.
14. Pathirage N., Di Nezza L.A., Salmonsens L.A. et al. Expression of aromatase, estrogen receptors, and their coactivators in patients with endometrial cancer // Fertil Steril. 2006. Vol. 86. P. 469–472.
15. Sipson E.R., Davis S.R. Minireview: Aromatase and the Regulation of Estrogen Biosynthesis – Some New Perspectives // Endocrinology. 2001. Vol. 142. P. 4589–4594.
16. Smuca T., Ruprecht R., Sinkovec J. et al. Expression analysis of estrogen-metabolizing enzymes in human endometrial cancer // Mol. Cell. Endocrin. 2006. Vol. 248. P. 114–117.
17. Takayama K., Zeitoun K., Gunby R.T. et al. Treatment of severe postmenopausal endometriosis with an aromatase inhibitor // Fertil. Steril. 1998. Vol. 69. P. 709–713.

Поступила 13.04.07