

Иммуногистохимическая оценка экспрессии Ki-67, циклина D1 и β-катенина в подтипах тройного негативного рака молочной железы

Лариса Николаевна Ващенко, Татьяна Николаевна Гудцкова*,
Евгения Марковна Непомнящая, Николай Сергеевич Карнаухов,
Мрамза Витальевна Кварчия

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт,
г. Ростов-на-Дону, Россия

Реферат

Цель. Оценить уровни экспрессии Ki-67 и циклина D1 и β-катенина в подтипах тройного негативного рака молочной железы.

Методы. Исследование проведено на операционном материале 60 пациенток клинической стадии 2A (T1N1M0 либо T2N0M0), находившихся на лечении в ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» с 2012 по 2015 гг. Для иммуногистохимического исследования были использованы антитела к рецепторам эстрогена, прогестерона, цитокератинам 5/6, Ki-67, циклину D1, β-катенину, белкам HER2/neu и EGFR.

Результаты. Установлено, что в тройном негативном раке молочной железы с признаками базального эпителия достоверно более высокий уровень экспрессии Ki-67 по сравнению с небазальноподобными. В части образцов при тройном негативном раке молочной железы выявлена гиперэкспрессия циклина D1. Высокий уровень циклина D1 в базальноподобном подтипе встречался реже, чем в подтипах без признаков базального эпителия, однако его среднее значение было достоверно выше. При тройном негативном раке с гиперэкспрессией циклина D1 достоверно чаще происходила потеря β-катенина на мембране клеток, а также аномальное его накопление в цитоплазме. Транслокация β-катенина в ядра клеток отмечена только при базальноподобном тройном негативном раке, причём в 2 раза чаще в случае наличия гиперэкспрессии циклина D1.

Вывод. При тройном негативном раке молочной железы в части случаев присутствуют опухоли с гиперэкспрессией циклина D1 и аномальной экспрессией β-катенина; данные биомаркёры можно рассматривать в качестве потенциальных мишеней для терапии этой группы опухолей.

Ключевые слова: тройной негативный рак молочной железы, базальноподобный тройной негативный рак молочной железы, Ki-67, циклин D1, β-катенин.

Для цитирования: Ващенко Л.Н., Гудцкова Т.Н., Непомнящая Е.М. и др. Иммуногистохимическая оценка экспрессии Ki-67, циклина D1 и β-катенина в подтипах тройного негативного рака молочной железы. *Казанский мед. ж.* 2019; 100 (2): 239–244. DOI: 10.17816/KMJ2019-239.

Immunohistochemical evaluation of Ki-67, cyclin D1 and β-catenin expression in the subtypes of triple negative breast cancer

L.N. Vashchenko, T.N. Gudtskova, E.M. Nepomnyashchaya, N.S. Karnaukhov, M.V. Kvarchiya
Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

Aim. To evaluate the expression levels of Ki-67 and cyclin D1 and β-catenin in the subtypes of triple negative breast cancer.

Methods. The study was conducted on the surgical material from 60 patients of clinical stage 2A (T1N1M0 or T2N0M0) who were treated at the Rostov Research Institute of Oncology from 2012 to 2015. For

immunohistochemistry, antibodies to estrogen and progesterone receptors, cytokeratins 5/6, Ki-67, cyclin D1, β -catenin, HER2/neu and EGFR proteins were used.

Results. Triple negative breast cancer with the signs of basal epithelium was found to have a significantly higher expression level of Ki-67 compared to non-basal-like one. In some part of triple negative breast cancer samples overexpression of cyclin D1 was observed. The high level of cyclin D1 in the basal-like subtype was less common than in the subtypes without the signs of basal epithelium, but its average value was significantly higher. In triple negative cancer with cyclin D1 overexpression, the loss of β -catenin on the cell membrane and its abnormal accumulation in the cytoplasm was significantly more frequent. β -catenin translocation into the cell nucleus was observed only in basal-like triple negative cancer, and 2 times more often in case of cyclin D1 overexpression.

Conclusion. In triple negative breast cancer tumors with overexpression of cyclin D1 and abnormal expression of β -catenin are observed in some cases; these biomarkers can be considered as potential therapeutic targets for this group of tumors.

Keywords: triple negative breast cancer, basal-like triple negative breast cancer, Ki-67, cyclin D1, β -catenin.

For citation: L.N. Vashchenko, T.N. Gudtskova, E.M. Nepomnyashchaya et al. Immunohistochemical evaluation of Ki-67, cyclin D1 and β -catenin expression in the subtypes of triple negative breast cancer. *Kazan medical journal*. 2019; 100 (2): 239–244. DOI: 10.17816/KMJ2019-239.

Тройной негативный (ТН) рак молочной железы (РМЖ) выделен в особую подгруппу относительно недавно, и его лечение остаётся одной из самых актуальных проблем современной онкологии. Преимущественно молодой возраст пациенток с ТН РМЖ и биологическая агрессивность данного подтипа РМЖ сочетаются с ограниченностью лечебных подходов в связи с отсутствием таргетных мишеней для противоопухолевой терапии. Из большого набора современных методов системной терапии при данном варианте РМЖ применяют только цитостатическую терапию, а результаты лечения остаются неутешительными. В российской популяции больных РМЖ ТН-фенотип составляет 18,5%, 5-летняя общая и безрецидивная выживаемость статистически значимо ниже, чем выживаемость сопоставимых по клиническим характеристикам больных других подтипов РМЖ [1].

Предпринимают попытки выделить несколько подтипов этого вида рака, данные исследований противоречивы, но наиболее часто выделяют базальноподобный ТН РМЖ, как особый подтип. Проблема индивидуализации терапии РМЖ в отношении ТН-подтипа на сегодня не решена, а поиск мишеней для применения соответствующих ингибиторов идёт постоянно [2–5].

Большой интерес представляют биомаркеры клеточного цикла, в частности циклины, ассоциированные с ними циклин-зависимые киназы и циклин-зависимые ингибиторы киназ, играющие важнейшую роль в развитии клеточного цикла. Наиболее актуальный биомаркер — циклин D1. Во многих работах, посвящённых опухолям различного генеза, показано, что повышенный синтез циклина D1 способ-

ствует инициации клеточного деления, коррелирует с большей частотой метастазирования опухолей и худшей выживаемостью больных [6–8]. Недавно выявлена роль циклина D1 в индукции клеточной миграции и инвазии, усилении ангиогенеза [9]. Данные об уровне экспрессии циклина D1 и его прогностическом значении в РМЖ немногочисленны и противоречивы [6–8, 10].

В последнее время в области молекулярной онкологии активно изучают путь передачи сигналов Wnt и β -катенин в качестве потенциальных мишеней противоопухолевой терапии [11]. Сигнальный путь Wnt регулирует судьбу клеток, выживание, пролиферацию и дифференцировку на разных стадиях развития и патологии млекопитающих. β -Катенин — многофункциональный цитоплазматический белок, образующий динамический комплекс с E-кадгеринном и действующий как ключевой регулятор в сигнальном пути Wnt.

В нескольких исследованиях показано, что аномальная экспрессия и мутации β -катенина присутствуют при широком спектре заболеваний человека и связаны с опухолевой трансформацией [5, 11, 12]. В норме экспрессия β -катенина происходит исключительно на мембране эпителиальных клеток, появление β -катенина в цитоплазме и ядре клеток опухоли свидетельствует об активации ряда таргетных генов, запускающих aberrантные сигнальные пути, что приводит к увеличению миграции, подвижности, инвазии, повышению резистентности и выживаемости клеток опухоли [13].

Таким образом, изучение биомаркеров, способных стать мишенями для таргетной терапии ТН РМЖ, а также имеющих предикторное значение, весьма актуально.

Цель работы — изучить экспрессию β -катенина в подтипах ТН РМЖ с наличием и отсутствием гиперэкспрессии циклина D1.

Материалом для настоящего исследования служил операционный материал 60 пациенток с ТН РМЖ, находившихся на лечении в ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» МЗ РФ с 2012 по 2015 гг. Пациентки относились к клинической стадии 2А (T1N1M0 либо T2N0M0). Возраст колебался от 29 лет до 71 года, средний возраст составил $51,3 \pm 3,5$ года, возраст большинства женщин (66,7%) приходился на промежуток от 41 до 60 лет.

Для суррогатного определения молекулярного подтипа опухолей была использована стандартная панель антител для иммуногистохимического (ИГХ) окрашивания: к рецепторам эстрогена (РЭ), рецепторам прогестерона (ПП), онкобелку Her2/neu и маркеру пролиферативной активности Ki-67. У всех пациенток, вошедших в наше исследование, на основании ИГХ-исследования был выявлен ТН РМЖ (РЭ-/ПП-/Her2-негативный) и определён уровень Ki-67.

Для выделения группы базальноподобного (БП) рака использовали ИГХ-маркеры к цитокератинам 5/6 (CK5/6) и рецептору эпидермального фактора роста 1-го типа (EGFR — от англ. epidermal growth factor receptor). БП ТН РМЖ считали опухоли, в клетках которых выявлена экспрессия CK5/6 и/или EGFR, остальные отнесли к неклассифицированным ТН РМЖ. CK5/6+ считали опухоли, в которых было позитивно более 10% клеток. Экспрессию EGFR оценивали в баллах (0, 1+, 2+, 3+), считая результат позитивным, если присутствовало любое окрашивание. В опухолях также определяли экспрессию циклина D1 и β -катенина.

Для ИГХ-исследования с парафиновых блоков операционного материала готовили срезы толщиной 3–4 мкм и проводили окрашивание в иммуногистостейнере BenchMark ULTRA Ventana. Использовали антитела: РЭ (клон SP1) Thermo Scientific, 1:300; ПП (клон SP2) Cell Marque, 1:200; Ki-67 (клон SP6) Spring Bioscience, 1:200; HER2/neu (клон 4B5) Ventana Medical Systems, RTU; циклин D1 (клон EP12) Dako, 1:200; β -катенин (клон 14) Ventana Medical Systems, RTU; CK5/6 (клон D5/6BH) Dako, 1:200; EGFR (клон E30) Dako, 1:50.

Для характеристики экспрессии Ki-67 и циклина D1 вычисляли долю клеток с окрашенными ядрами (процент общего количества опухолевых клеток). Подсчёт проводили полуколичественным методом не менее чем в 10 случайных полях зрения при увеличении $\times 200$.

Таблица 1. Соотношение подтипов тройного негативного рака молочной железы в изучаемой группе и экспрессия в них Ki-67

Подтип, абс. (%)	Уровень экспрессии Ki-67		
	M \pm m, %	Me	C.V.
Всего, n=60 (100)	76,4 \pm 2,2	80	20,4
Базальноподобный, n=37 (61,7)	81,9 \pm 3,1●	85	18,1
Неклассифицированный, n=23 (38,3)	70,8 \pm 3,1●	75	21,1

Примечание: M \pm m — среднее арифметическое и ошибка среднего; C.V. — коэффициент вариации; Me — медиана; разница показателей, помеченных символом ●, статистически значима ($p < 0,05$).

Экспрессию β -катенина оценивали отдельно по её локализации (мембрана, цитоплазма, ядро) при увеличении $\times 200$ (не менее 10 полей зрения). Полное мембранное окрашивание считали нормой. Подсчитывали клетки с отсутствием окрашивания на мембране, выражая долю клеток в процентах общего числа опухолевых клеток. Также в процентах общего количества опухолевых клеток регистрировали цитоплазматическое окрашивание. Ядерную экспрессию β -катенина считали положительной при окрашивании хотя бы одной опухолевой клетки в поле зрения при увеличении $\times 200$ [2].

Для статистической обработки результатов использовали параметрические методы статистики для показателей вариационного ряда: среднее арифметическое (M), ошибка среднего (m), медиана (Me), коэффициент вариации (C.V.). Достоверность разницы между двумя средними определяли по значению t-критерия Стьюдента для несвязанных совокупностей.

На основании результатов ИГХ-исследования с антителами к CK5/6 и EGFR все ТН РМЖ распределились следующим образом: базальные характеристики были выявлены в 37 (61,7%) опухолях и отсутствовали в 23 (38,3%), последние мы отнесли к неклассифицированным (табл. 1).

Известно, что для ТН РМЖ характерен высокий уровень пролиферативной активности, что мы наблюдали и по результатам наших исследований (см. табл. 1).

Средний уровень экспрессии Ki-67 в целом в исследованных ТН РМЖ составил $76,4 \pm 2,2\%$ (Me=80, C.V.=20,4). Причём средний уровень Ki-67 в БП ТН РМЖ был достоверно выше ($p < 0,05$), чем в неклассифицированном ТН РМЖ — $81,9 \pm 3,1\%$ (Me=85, C.V.=18,1) и $70,8 \pm 3,1\%$ (Me=75, C.V.=21,1) соответственно. В обоих подтипах ТН РМЖ разброс данных по

Таблица 2. Экспрессия циклина D1 в подтипах тройного негативного рака молочной железы

Подтип, абс. (%)		Уровень экспрессии циклина D1	
		Абс. (%)	M±m, %
Всего 60 (100)	Базальноподобный, 37 (61,7)	Высокий, 12 (32,4)	89,9±4,7▲, Me=92, C.V.=13,8
		Низкий, 25 (67,6)	12,2±2,8, Me=10, C.V.=89,3
	Всего 37 (100)		
Всего 60 (100)	Неклассифицированный, 23 (38,3)	Высокий, 10 (43,5)	66,5±6,6▲, Me=70, C.V.=29,9
		Низкий, 13 (56,5)	8,6±2,7, Me=5, C.V.=110,5
	Всего 23 (100)		

Примечание: M±m — среднее арифметическое и ошибка среднего; C.V. — коэффициент вариации; Me — медиана; разница показателей, помеченных символом ▲, статистически значима (p < 0,05).

этому показателю был незначительный, на что указывали коэффициенты вариации менее 30.

При высоком уровне и относительной однородности показателей Ki-67 в обоих подтипах ТН РМЖ обращал на себя внимание разброс данных экспрессии циклина D1 — от 1% клеток до практически всей популяции опухолевых клеток. За пороговое значение, определяющее гиперэкспрессию циклина D1, мы приняли показатель 30%, так как, с одной стороны, встречали подобное ранжирование в работах других авторов, а с другой — оказалось, что доля окрашенных клеток находится в интервале либо от 1 до 30%, либо от 50 до 100% [6].

В БП ТН РМЖ гиперэкспрессия циклина D1 присутствовала в 32,4% опухолей и составила в среднем 89,9±4,7%. В ТН РМЖ без признаков базального эпителия гиперэкспрессия циклина D1 встречалась несколько чаще — 43,5%, однако его среднее значение было достоверно ниже — 66,5±6,6% (p < 0,05). Следует отметить, что при обоих подтипах коэффициент вариации был низким, что указывало на небольшой разброс показателей (табл. 2).

В опухолях с низким уровнем экспрессии циклина D1 средние показатели составили: в БП ТН РМЖ — 12,2±2,8%, в неклассифицированном ТН РМЖ — 8,6±2,7%. Разница показателей не имела статистической значимости, данные очень варьировали даже в столь небольшом интервале значений — от 1 до 30%. Медиана была при обоих подтипах гораздо ниже порогового значения: 10 — при БП ТН РМЖ, 5 — при неклассифицированном ТН РМЖ (см. табл. 2).

Экспрессию β-катенина мы оценивали с учётом подтипа ТН РМЖ и наличия или отсутствия гиперэкспрессии циклина D1, данные представлены в табл. 3.

При обоих подтипах ТН РМЖ отмечена достоверная разница для всех показателей, характеризующих экспрессию β-катенина, между

опухолями с гиперэкспрессией циклина D1 и его низким уровнем. Из табл. 3 видно, что при обоих подтипах доля клеток, утративших мембранную локализацию, была практически вдвое больше в тех опухолях, где обнаружена гиперэкспрессия циклина D1 (разница показателей статистически значима, p < 0,05).

Также стоит отметить, что доля клеток утративших мембранную локализацию β-катенина, была достоверно выше в опухолях БП ТН РМЖ с гиперэкспрессией циклина D1 — по сравнению с таковыми, не имеющими признаков базального эпителия: 58±7,4 и 33,3±4,3% соответственно (p < 0,05).

Та же закономерность зафиксирована при анализе цитоплазматической локализации β-катенина. В обоих подтипах высокий уровень экспрессии циклина D1 сочетался с достоверно большей долей опухолевых клеток с наличием экспрессии β-катенина в цитоплазме (см. табл. 3).

В БП ТН РМЖ отмечена также транслокация β-катенина в ядро: в 33,3% опухолей с гиперэкспрессией и 12% опухолей с низкой экспрессией циклина D1. В поле зрения присутствовало от 2 до 20 окрашенных клеток. При подтипе ТН РМЖ без признаков базального эпителия ядерная экспрессия β-катенина не выявлена.

В результате проведённого исследования выявлено следующее. Среди ТН РМЖ около двух третей опухолей имели признаки базального эпителия. Экспрессия общего маркера пролиферации Ki-67 находится на стабильно высоком уровне, и в БП ТН РМЖ этот показатель достоверно выше. В части ТН РМЖ отмечена гиперэкспрессия циклина D1, причём в БП-варианте опухолей этот показатель был достоверно выше. При низком же уровне экспрессии циклина D1 значимых различий между группами не было по причине значительного разброса данных. В ТН РМЖ с гиперэкспрессией

Таблица 3. Экспрессия β -катенина в подтипах тройного негативного рака молочной железы с различным уровнем циклина D1

Подтип, абс. (%)		Уровень циклина D1, абс. (%)	Экспрессия β -катенина		
			Утрата мембранной экспрессии, M \pm m, %	Локализация в цитоплазме, M \pm m, %	Локализация в ядре, абс. (%)
Всего 60 (100)	Базальноподобный, 37 (61,7)	Низкий, 25 (67,6)	29,6 \pm 6,1●, Me=20, C.V.=71,5	33,4 \pm 5,4▲, Me=20, C.V.=78,9	3 (12)
		Высокий, 12 (32,4)	58 \pm 7,4●○, Me=70, C.V.=38,4	63,3 \pm 7,2▲, Me=60, C.V.=37,7	4 (33,3)
	Всего 37 (100)				
	Неклассифицированный, 23 (38,3)	Низкий, 13 (56,5)	17,6 \pm 3,8*, Me=10, C.V.=90,5	23,7 \pm 6,3◆, Me=20, C.V.=92,2	Отсутствует
		Высокий, 10 (43,5)	33,3 \pm 4,3*○, Me=30, C.V.=43,1	49,5 \pm 8,2◆, Me=50, C.V.=49,6	
	Всего 23 (100)				

Примечание: M \pm m — среднее арифметическое и ошибка среднего; C.V. — коэффициент вариации; Me — медиана; разница показателей, помеченных одинаковыми символами (*▲◆●○), статистически значима (p < 0,05).

циклина D1 достоверно чаще происходила потеря β -катенина на мембране клеток с аномальным его накоплением в цитоплазме. В некоторых БП ТН РМЖ зарегистрирована транслокация β -катенина в ядра клеток, причём более чем в 2 раза чаще в опухолях с гиперэкспрессией циклина D1.

Существуют исследования, в которых доказано, что при активации сигнального пути Wnt происходит снижение скорости деградации β -катенина и, как следствие, аномальное его накопление в цитоплазме и/или ядре клеток опухолей. Также некоторые исследования показали, что циклин D1 служит важной мишенью для сигнального пути Wnt, и его избыточная экспрессия связана с накоплением β -катенина во многих типах опухолей [12, 13]. Эти данные свидетельствуют о том, что β -катенин необходим для поддержания стволовых клеток рака и особенностей эпителиально-мезенхимальной трансформации, которые также часто связаны с рецидивом опухоли и метастазами [12, 13].

В настоящее время идёт поиск ингибиторов сигнального пути Wnt в качестве противоопухолевых препаратов, предклинические исследования некоторых из них показали наличие терапевтического эффекта в ряде Wnt-зависимых опухолей [11]. В то же время в эксперименте показано, что ингибирование циклин-зависимых киназ приводит к блокированию клеточного цикла. Определены субстанции, ингибирующие циклин-зависимые киназы, что делает эти киназы перспективной мишенью для противоопухолевой терапии. На сегодняшний день сразу несколько препаратов находится на этапах клинического изучения [14].

ВЫВОДЫ

1. При тройном негативном раке молочной железы в части случаев присутствуют опухоли с гиперэкспрессией циклина D1 (более 30% окрашенных клеток) и аномальной экспрессией β -катенина (потеря на мембране и накопление в цитоплазме и ядре).

2. Гиперэкспрессия циклина D1 при базальноподобном тройном негативном раке молочной железы встречалась реже, чем при небазальноподобном, однако среднее значение этого показателя в первом случае достоверно выше.

3. Аномальная экспрессия β -катенина достоверно чаще присутствовала в опухолях с гиперэкспрессией циклина D1, как при базальноподобном тройном негативном раке молочной железы, так и при опухолях без признаков базального эпителия. Ядерная транслокация β -катенина отмечена только при базальноподобном раке, чаще при гиперэкспрессии циклина D1.

4. Данные биомаркёры можно рассматривать в качестве потенциальных мишеней для таргетной терапии при тройном негативном раке молочной железы.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жукова Л.Г. Рак молочной железы с тройным негативным фенотипом у российской популяции больных. Клинико-морфологические особенности. *Вопр. онкол.* 2015; 61 (2): 189–194. [Zhukova L.G. Breast cancer with triple-negative phenotype in the Russian population of patients. *Clinicalmorphological features. Voprosy onkologii.* 2015; 61 (2): 189–194. (In Russ.)]

2. Бриллиант Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. Эпителиальные кадгерины и ассоциированные с ними молекулы при инвазивном дольковом раке молочной железы. *Арх. патол.* 2017; 79 (1): 12–18. [Brilliant Yu.M., Brilliant A.A., Sazonov S.V. Epithelial cadherins and associated molecules in invasive lobular breast cancer. *Arkhiv patologii.* 2017; 79 (1): 12–18. (In Russ.)] DOI: 10.17116/patol201779112-18.
3. Кит О.И., Шатова Ю.С., Франциянц Е.М. и др. Путь к персонализированной тактике лечения больных раком молочной железы. *Вопр. онкол.* 2017; 63 (5): 719–723. [Kit O.I., Shatova Yu.S., Frantsiyants E.M. et al. The path to personalized treatment of breast cancer patients. *Voprosy onkologii.* 2017; 63 (5): 719–723. (In Russ.)]
4. Шатова Ю.С., Франциянц Е.М., Новикова И.А. и др. Антиандрогенная терапия: новое направление таргетной терапии рака молочной железы. *Соврем. пробл. науки и образования.* 2017; 3. <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26392> (дата обращения: 07.03.2018). [Shatova Yu.S., Frantsiyants E.M., Novikova I.A. et al. Antiandrogen therapy: a new direction in targeted therapy for breast cancer. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya.* 2017; 3. <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=26392> (access date: 07.03.2018). (In Russ.)]
5. Yanjiao He, Zhaoxia Liu, Chao Qiao et al. Expression and significance of Wnt signaling components and their target genes in breast carcinoma. *Molecular Med. Reports.* Published online on: 2013: 137–143. DOI: 10.3892/mmr.2013.1774.
6. Скворцов В.А., Манихас Г.М. Циклин D1 и его прогностическая значимость в планировании эндокринной терапии у женщин постменопаузального возраста при раке молочной железы. *Врач-аспирант.* 2012; 50 (1.3): 401–407. [Skvortsov V.A., Manikhas G.M. Cyclin D1 and its prognostic value in planning of endocrine therapy of women of postmenopausal age with breast cancer. *Vrach-aspirant.* 2012; 50 (1.3): 401–407. (In Russ.)]
7. Zhuo W., Zhang L., Wang Y. et al. Cyclin D1 G870A polymorphism is a risk factor for esophageal cancer among Asians. *Cancer Invest.* 2012; 30 (9): 630–636. DOI: 10.3109/07357907.2012.726385.
8. Gayatri R., Anuradha A. Cyclin D1 expression in ductal carcinoma of the breast and its correlation with other prognostic parameters. *J. Can. Res. Therap.* 2014; 10 (3): 671–675. DOI: 10.4103/0973-1482.138135.
9. Pestell R.G. New roles of Cyclin D1. *Am. J. Pathol.* 2013; 183 (1): 3–9. DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.03.001.
10. Mohammadzadeh F., Hani M., Ranaee M., Bagheri M. Role of cyclin D1 in breast carcinoma. *J. Res. Med. Sci.* 2013; 18 (12): 1021–1025. PMID: 24523791.
11. Татарский В.В. Сигнальный путь WNT: перспективы фармакологического регулирования. *Успехи молекулярн. онкол.* 2016; 3 (1): 28–31. [Tatarskiy V.V. The Wnt signaling pathway: prospects for pharmacological regulation. *Uspehi molekularnoj onkologii.* 2016; 3 (1): 28–31. (In Russ.)] DOI: 10.17650/2313-805X-2016-3-1-28-31.
12. Prospero J.R., Goss K.H. A Wnt-ow of opportunity: targeting the Wnt/beta-catenin pathway in breast cancer. *J. Curr. Drug. Targets.* 2010; 11: 1074–1088. DOI: 10.2174/138945010792006780.
13. Xu J., Prospero J.R., Choudhury N. et al. β -Catenin is required for the tumorigenic behavior of triple-negative breast cancer cells. *PLoS One.* 2015; 10 (2): e0117097. DOI: 10.1371/journal.pone.0117097.
14. Артамонова Е.В. Палбоциклиб в комбинации с гормонотерапией при люминальном HER2-негативном метастатическом раке молочной железы: новая высокоэффективная стратегия лекарственного лечения. *Опухоли женской репродуктивной системы.* 2017; 13 (3): 28–40. [Artamonova E.V. Palbociclib in combination with hormone therapy for luminal HER2-negative metastatic breast cancer: new highly effective strategy of drug treatment. *Opukholi zhenskoy reproductivnoy sistemy.* 2017; 13 (3): 28–40. (In Russ.)] DOI: 10.17650/1994-4098-2017-13-3-28-41.