

УДК: 618.19–006.6:575.113

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА VEGF-A В ПОЗИЦИЯХ -2578A/C И +936C/T С РАЗНЫМ РЕЦЕПТОРНЫМ СТАТУСОМ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

**А.В. Шевченко¹, В.И. Коненков¹, Н.Н. Бабышкина²,
О.В. Савенкова², Е.М. Слонимская^{2,3}**

*ФГБУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии»
СО РАМН, г. Новосибирск¹*

ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН, г. Томск²

*ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск³
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2, e-mail: shalla64@mail.ru¹;
634050, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, e-mail: nbabyshkina@mail.ru²*

Проведено исследование функционального полиморфизма гена VEGF-A в позициях -2578 промоторного региона и +936 3' нетранслируемого региона у пациенток с раком молочной железы (РМЖ) с разным рецепторным статусом опухоли с целью выявления информативных маркеров, ассоциированных с риском развития заболевания. В анализ включены образцы ДНК 292 женщин с РМЖ. Генотипирование полиморфизмов С-2578А и С+936Т VEGF-A осуществляли методом рестрикционного анализа продуктов амплификации (ПДРФ-анализ). Выявлены особенности распределения генотипов VEGF-A у пациенток с наличием эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в опухолевых тканях и генотипы, ассоциированные с риском развития рецидивов РМЖ.

Ключевые слова: рак молочной железы, рецепторный статус опухоли, полиморфизм VEGF-A гена.

ANALYSIS OF ASSOCIATIONS OF VEGF-A GENE POLYMORPHISM AT POSITIONS 2578A/C
AND +936C/T WITH DIFFERENT RECEPTOR STATUS IN BREAST CANCER PATIENTS

A.V. Shevchenko¹, V.I. Konenkov¹, N.N. Babyshkina², O.V. Savenkova², E.M. Slonimskaya^{2,3}

Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Novosibirsk¹

Cancer Research Institute, SB RAMS, Tomsk²

Siberian State Medical University, Tomsk³

2, Timakova Street, 630117-Novosibirsk, Russia, e-mail: shalla64@mail.ru¹;

5, Kooperativny Street 634050-Tomsk, Russia, e-mail: nbabyshkina@mail.ru²

The study of functional polymorphism of the VEGF-A gene at positions -2578 in the promoter region and +936 in the 3' untranslated region in breast cancer patients with different receptor status of the tumor was undertaken to identify markers associated with risk of breast cancer. DNA samples from 292 women with breast cancer were analyzed. The genotyping of C-2578A and C+936T VEGF-A polymorphisms was performed using the method of restriction analysis of amplification products. The distributions of VEGF-A genotypes in patients having estrogen and progesterone receptors in tumor tissues were investigated and genotypes associated with risk of breast cancer recurrences were detected.

Key words: breast cancer, receptor status of the tumor, VEGF-A gene polymorphism.

Индукцированный опухолью ангиогенез играет важную роль в прогрессии опухолевого роста и диссеминации. Вновь сформированные кровеносные сосуды снабжают опухоль питательными веществами и кислородом, выводят продукты метаболизма клеток опухоли, генерируют паракринные стимулы, способствующие процессу

метастазирования. Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) – основной сигнальный белок в инициации ангиогенеза, активно продуцируемый гипоксически-ми опухолевыми клетками, макрофагами и другими клетками иммунной системы [5]. В предыдущие десятилетия были выделены и идентифицированы различные виды VEGF-семейства, структурно

близкие между собой и являющиеся лигандами для рецепторов VEGF: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E и плацентарные факторы роста 1 и 2. VEGF-A, являясь многофункциональным цитокином и центральным регулятором физиологического и патологического ангиогенеза, участвует в процессах пролиферации, миграции и предотвращает апоптоз циркулирующих предшественников эндотелиальных клеток [19].

При раке молочной железы (РМЖ) экспрессия mRNA VEGF-A увеличена в опухолевых тканях по сравнению с нормальной тканью [6]. Причем уровень высокой экспрессии mRNA VEGF-A ассоциирован с негативным рецепторным статусом, низкой степенью дифференцировки опухоли, отсутствием клинического эффекта при антиэстрогенной терапии у больных РМЖ [17]. Показано, что уровень избыточной экспрессии VEGF-A связан со снижением общей и безрецидивной выживаемости больных раком молочной железы, в том числе при ранних стадиях [7, 16, 22].

Производство VEGF-A стимулируется множеством проангиогенных факторов, включая эпидермальный фактор роста, фактор роста фибробластов, цитокины, а также стероидные гормоны. Функциональные полиморфные сайты, определяющие уровень продукции VEGF-A, выявлены как в области промотора 5'-нетранслируемого региона, так и в 3'-нетранслируемом регионе гена [28]. С повышенным уровнем экспрессии гена VEGF-A связывают аллель -2578C, а аллель +936T – со сниженным уровнем продукции VEGF-A и его низким содержанием в плазме крови [14, 25].

В настоящее время выявлены ассоциации между полиморфизмом гена +936C/T VEGF-A и риском развития рака молочной железы [8, 10, 13, 23]. Кроме того, имеются данные, что -634CC VEGF-A может рассматриваться в качестве неблагоприятного прогностического фактора, связанного с показателями безрецидивной выживаемости у больных РМЖ с гиперэкспрессией рецептора к эпидермальному фактору роста (HER-2/neu) [18]. В единичных исследованиях изучен вклад полиморфизма гена -578A/C VEGF-A в риск формирования рецидивов у эстроген/прогестерон (ER/PR) позитивных больных РМЖ [11].

Вышеизложенное свидетельствует о важной роли уровня VEGF-A в состоянии системы регуляции ангиогенеза и его связи с аллельными

вариантами полиморфных участков регуляторных областей гена VEGF-A, их прогностической значимости. Целью настоящего исследования явилось изучение ассоциации функционального полиморфизма гена VEGF-A в позициях -2578 промоторного региона и +936 3' нетранслируемого региона с разным рецепторным статусом опухоли у пациенток с РМЖ.

Материалы и методы

В исследование включены 292 больных первичным операбельным РМЖ стадии T₁₋₄N₀₋₃M₀, которые получали комбинированное лечение в ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН в 1996–2006 гг. У всех пациентов диагноз был верифицирован морфологически. Средний возраст женщин на момент заболевания составил 51,6 года (20–79 лет). Сроки наблюдения за больными составили более 5 лет. За этот период у 14 (4,8 %) пациенток были диагностированы местные рецидивы РМЖ.

Изучение экспрессии ER, PR и HER-2/neu в ткани молочной железы проводили на парафиновых срезах иммуногистохимически с применением стрептавидин-биотинового метода. При исследовании применяли антитела фирмы «Dako» к рецепторам эстрогена (клон 1D5, RTU, мышинные), к рецепторам прогестерона (клон PgR636, RTU, мышинные), к онкопротеину c-erbB-2 (поликлональное, рабочее разведение 1:500, кроличьи). Экспрессию рецепторов к половым гормонам оценивали по 3-балльной шкале (слабая, средняя и выраженная степени).

Выделение ДНК проводили из лейкоцитов периферической крови с помощью протеиназы К и фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфизмов C-2578A и C+936T гена VEGF-A осуществляли методом полимеразной цепной реакции и анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ анализ), с использованием специфичных праймеров [3, 12] и эндонуклеаз рестрикции Bgl II и Fae I (СибЭнзим, Новосибирск). Работа проводилась с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с «Основами законодательства РФ об охране здоровья граждан» (Указ Президента РФ от 24.12.93 № 2288). На данное исследование было получено разрешение комитета по биомедицинской этике ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью пакета прикладных про-

грамм «Statistica 6.0». Для проверки гипотезы о значимости различий между исследуемыми группами использовали метод двусторонней точной оценки Фишера [4]. Риск развития РМЖ у носителей различных генотипов гена VEGF-A оценивали с помощью критерия отношения шансов (OR).

Результаты и обсуждение

Результаты генотипирования исследуемых полиморфных вариантов гена VEGF-A у больных РМЖ в зависимости от экспрессии ER, PR, HER-2/neu представлены в табл. 1. Показано, что мажорный генотип гена VEGF-A –2578AA ассоциирован с прогестерон-позитивными опухолями по отношению к прогестерон-негативным (OR=1,89; p=0,041). Кроме того, при PR+ рецепторном статусе частота встречаемости комбинации гомозиготных генотипов –2578AA/+936CC была значимо выше относительно PR-негативных (OR=2,20; p=0,026).

Отмечена высокая частота встречаемости ER-негативных опухолей по сравнению с ER-положительными среди носителей комбинации гетерозиготных генотипов –2578AC/+936CT данных полиморфизмов (OR=0,46; p=0,037). Частота

встречаемости данной комбинации генотипов была выше и в группе PR-негативных пациенток по сравнению с PR+ группой, но различия не достигали статистической значимости (OR=0,49; p=0,063) (табл. 1).

Схожая направленность была определена и при изучении ассоциаций в группах больных, характеризующихся наличием или отсутствием экспрессии в опухоли рецепторов и к эстрогену и к прогестерону. Так, у больных с ER+/PR+ статусом значимо преобладала комбинация гомозиготных генотипов –2578AA/+936CC (OR=2,46; p=0,045), тогда как комбинация гетерозиготных генотипов –2578AC/+936CT чаще выявлялась в выборке больных, негативных по экспрессии как ER, так и PR (OR=0,38; p=0,026) (табл. 2). Статистически значимых различий в распределении частот генотипов VEGF-A -2578A/C и +936C/T между пациентами с наличием и отсутствием экспрессии рецепторов к HER-2/neu установлено не было.

Для поиска взаимосвязи изучаемых полиморфизмов с клиническим течением и исходом заболевания был проведен сравнительный анализ характера распределения генотипов VEGF-A в группах пациенток с наличием и отсутствием мест-

Таблица 1

Распределение частот генотипов VEGF-A у больных РМЖ в зависимости от рецепторного статуса опухоли

VEGFA	ER+	ER-	OR (95 % CI)	PR+	PR-	OR (95 % CI)	Her2/neu +	Her2/neu -	OR (95 % CI)
C-2578A	n=191	n=101		n=173	n=116		n=48	n=186	
AA	26,7 %	21,8 %	1,31 (0,71–2,41)	29,5 %	18,1 %	1,89 (1,03–3,50)*	16,7 %	27,4 %	0,53 (0,21–1,28)
AC	49,2 %	57,4 %	0,72 (0,43–1,20)	48,5 %	56,9 %	0,72 (0,43–1,18)	56,2 %	50,0 %	1,29 (0,65–2,56)
CC	24,1 %	20,8 %	1,21 (0,65–2,26)	22,0 %	25,0 %	0,84 (0,47–1,52)	27,1 %	22,6 %	1,27 (0,58–2,77)
C+936T	n=193	n=100		n=174	n=116		n=48	n=187	
CC	74,1 %	65,0 %	1,54 (0,88–2,68)	73,6 %	68,1 %	1,30 (0,75–2,25)	62,5 %	72,2 %	0,64 (0,31–1,32)
CT	22,3 %	33,0 %	0,82 (0,33–1,03)	23,0 %	29,3 %	0,72 (0,41–1,27)	35,4 %	24,6 %	1,68 (0,81–3,49)
TT	3,6 %	2,0 %	1,84 (0,34–13,1)	3,4 %	2,6 %	1,35 (0,29–6,94)	2,1 %	3,2 %	0,64 (0,03–4,88)
C-2578A/ C+936T	n=190	n=99		n=171	n=115		n=47	n=185	
AA/CC	21,1 %	15,1 %	1,49 (0,75–3,02)	23,4 %	12,1 %	2,20 (1,09–4,51)**	10,7 %	21,1 %	0,45 (0,14–1,28)
AA/CT	4,7 %	7,1 %	0,65 (0,21–2,02)	5,8 %	5,2 %	1,13 (0,36–3,61)	6,4 %	5,4 %	1,19 (0,25–4,99)
AA/TT	1,1 %	0 %	NS	0,6 %	0,9 %	0,67 (0,02–24,8)	0 %	1,1 %	NS
AC/CC	36,8 %	37,4 %	0,98 (0,57–1,67)	36,8 %	38,3 %	0,94 (0,56–1,58)	34,0 %	36,2 %	0,91 (0,44–1,87)
AC/CT	10,5 %	20,2 %	0,46 (0,22–0,96)***	9,9 %	18,3 %	0,49 (0,23–1,04)****	23,4 %	12,4 %	2,15 (0,89–5,14)
AC/TT	2,1 %	0 %	NS	2,3 %	0 %	NS	0 %	1,1 %	NS
CC/CC	15,8 %	12,1 %	1,36 (0,63–2,97)	12,9 %	17,4 %	0,70 (0,35–1,42)	17,0 %	14,6 %	1,20 (0,46–3,04)
CC/CT	7,4 %	6,1 %	1,23 (0,42–3,73)	7,7 %	6,1 %	1,32 (0,47–3,78)	6,4 %	7,0 %	0,90 (0,19–3,60)
CC/TT	0,5 %	2,0 %	0,26 (0,01–3,66)	0,6 %	1,7 %	0,33 (0,01–4,74)	2,1 %	1,1 %	2,01 (0,18–21,5)

Примечание: * – p=0,041, ** – p=0,026, *** – p=0,037, **** – p=0,063, NS – различия не значимы.

Распределение частот генотипов VEGF-A у больных раком молочной железы с ER+/PR+ и ER-/PR- статусом опухоли

VEGFA	ER+/PR+	ER-/PR-	OR (95 % CI)
C-2578A	n=149	n=75	
AA	29,5 %	18,7 %	1,83 (0,88–3,82)
AC	49,0 %	61,3 %	0,61 (0,33–1,11)
CC	21,5 %	20,0 %	1,09 (0,52–2,31)
C+936T	n=151	n=75	
CC	74,8 %	65,3 %	1,58 (0,83–3,00)
CT	21,2 %	32,0 %	0,57 (0,29–1,12)
TT	4,0 %	2,7 %	1,51 (0,26–15,6)
C-2578A/ C+936T	n=148	n=74	
AA/CC	23,0 %	10,8 %	2,46 (1,02–6,15)*
AA/CT	6,1 %	8,0 %	0,73 (0,22–2,62)
AA/TT	0,7 %	0 %	NS
AC/CC	37,8 %	40,5 %	0,89 (0,49–1,64)
AC/CT	8,8 %	20,4 %	0,38 (0,16–0,91)**
AC/TT	2,7 %	0 %	NS
CC/CC	13,5 %	13,5 %	1,00 (0,41–2,45)
CC/CT	6,7 %	4,1 %	1,71 (0,42–9,98)
CC/TT	0,7 %	2,7 %	0,24 (0,01–4,81)

Примечание: * – $p=0,045$, ** – $p=0,026$, NS – различия не значимы.

ных рецидивов РМЖ за 5-летний период наблюдения. Из двух исследуемых полиморфизмов гена VEGF-A и их комбинаций наиболее существенные результаты были получены для полиморфного локуса +936C/T. Так, риск развития рецидива РМЖ у носительниц мажорного генотипа +936CC оказался значительно выше, чем у носителей других генотипов (OR=1,42; $p=0,021$). Следует отметить, что гетерозиготный вариант +936CT гена VEGF-A был связан с менее агрессивным течением рака молочной железы, поскольку был выявлен в 27,7 % наблюдений только у пациенток без признаков местного прогрессирования и не регистрировался ни в одном случае у больных с наличием рецидивов (табл. 3).

Наличие в опухоли рецепторов эстрогенов и прогестерона определяет не только показания к назначению эндокринной терапии у больных раком молочной железы, но и свидетельствует об относительно благоприятном прогнозе заболевания. Однако исследование дополнительных клеточных факторов, характеризующих чувствительность опухолевых клеток к терапии и определяющих адекватную тактику лечения, является весьма актуальным научным направлением. Среди возможных

молекулярно-генетических маркеров особое место занимает фактор роста эндотелия сосудов. Данные исследований последних лет свидетельствуют о возможной взаимосвязи уровня VEGF-A как с содержанием рецепторов стероидных гормонов в опухоли [2], так и с эффективностью адъювантной химио/гормонотерапии и прогнозом течения заболевания больных РМЖ [1, 15]. Экспериментальные исследования подтверждают сведения о возможном участии в поддержании роста опухолевых клеток сигнальных путей, инициируемых VEGF-A, а коэкспрессия VEGF-A и его рецепторов в опухолевых клетках указывает на возможное участие этих белков в аутокринной регуляции роста опухоли [21]. Поскольку аллельные варианты гена VEGF-A влияют на уровень экспрессии соответствующих белков, они могут являться одним из факторов, определяющих индивидуальные особенности течения болезней, и их выявление может быть использовано для определения прогноза заболевания.

Проведенный нами анализ взаимосвязи двух полиморфизмов гена VEGF-A с рецепторным статусом больных РМЖ показал, что комбинация гетерозиготных вариантов -2578AC/+936CT ассоциирована с ER-, PR- а также ER/PR-негативными

Распределение частот генотипов VEGF-A у больных раком молочной железы с наличием/отсутствием рецидива заболевания

VEGFA	Рецидив	Без рецидива	OR (95 % CI)
C-2578A	n=14	n=47	
AA	35,7 %	34,0 %	1,08 (0,24–4,33)
AC	50,0 %	51,1 %	0,96 (0,25–3,69)
CC	14,3 %	14,9 %	0,95 (0,09–5,99)
C+936T	n=14	n=47	
CC	100 %	70,2 %	1,42 (1,18–1,72)*
CT	0 %	27,6 %	0,00 (0,00–0,95)**
TT	0 %	2,1 %	NS
C-2578A/ C+936T	n=14	n=47	
AA/CC	35,7 %	23,4 %	1,82 (0,39–7,64)
AA/CT	0 %	10,6 %	0,00 (0,00–3,71)
AA/TT	0 %	0 %	NS
AC/CC	50,0 %	38,3 %	1,61 (0,42–6,28)
AC/CT	0 %	10,6 %	0,00 (0,00–3,71)
AC/TT	0 %	2,1 %	NS
CC/CC	14,3 %	8,5 %	1,79 (0,14–14,2)
CC/CT	0 %	6,4 %	NS
CC/TT	0 %	0 %	NS

Примечание: * – $p=0,021$, ** – $p=0,027$, NS – различия не значимы.

опухолями. Однако в исследованиях Wehrschuetz et al. (2009) не выявлено ассоциаций между полиморфизмом в позиции C+936T 3'-нетранслируемого региона VEGF-A и рецепторным статусом [29]. По данным Rodrigues et al. (2012), наличие +936CT + TT VEGF-A генотипов ассоциируется со снижением риска развития РМЖ [23]. Низкий уровень экспрессии VEGF-A при наличии аллеля А, по видимому, обеспечивает протективное действие +936CT и +936TT генотипов в плане предрасположенности к возникновению РМЖ и сопряжен с более благоприятным клиническим течением заболевания.

Напротив, для PR-положительных пациентов нами выявлено повышение частоты встречаемости гомозиготного варианта -2578AA, а носительство комбинации гомозиготных генотипов 2578AA/+936CC ассоциировано с ER+/PR+ опухолями. В настоящее время в литературе не существует единого мнения о роли полиморфизма C-2578A гена VEGF-A в оценке риска развития РМЖ, также недостаточно изучен вопрос о его взаимосвязи с показателями гормонозависимости опухоли – PR и ER [9, 24, 27]. Тем не менее рядом

исследований показано, что носительство -2578CC аллельного варианта, сопряженного с высоким уровнем продукции VEGF-A, ассоциировано как с ER+/PR+ статусом, так и низкими показателями безрецидивной выживаемости у больных РМЖ [11, 26]. Это, видимо, позволяет, несмотря на достаточно благоприятные характеристики ER+/PR+ пациентов, выделить среди них подгруппу с неблагоприятным исходом. Для +936CC варианта обнаружена значимая взаимосвязь не только с ER/PR-позитивным статусом, но и со степенью дифференцировки опухоли [20]. Следует отметить, что противоречивость имеющихся данных может быть связана как с различным объемом исследуемых выборок, так и их популяционными особенностями.

Нами определена четкая связь +936CC генотипа с риском развития рецидивов РМЖ. Кроме того, показано, что носительство гетерозиготного +936CT генотипа в большей мере ассоциировано с безрецидивным течением заболевания. Учитывая, что высокий уровень экспрессии VEGF-A связывают с высоким риском рецидива РМЖ и снижением выживаемости [26], можно предположить вклад в развитие этого вида прогрессии именно генотипа

+936CC, определяющего высокий уровень экспрессии белкового продукта.

Таким образом, проведенное исследование указывает на то, что полиморфизм гена VEGF-A в позициях -2578A/C и +936C/T является одним из факторов, определяющих индивидуальные особенности течения РМЖ, и исследование полиморфных вариантов гена VEGF-A может быть использовано для определения прогноза заболевания. Одновременный учет уровня экспрессии стероидных рецепторов в опухолевых тканях, генотипа пациентки по полиморфным участкам генов факторов регуляции ангиогенеза при дальнейшем клиническом анализе позволит определить в пределах отдельных молекулярных подтипов РМЖ подгруппы с наиболее агрессивным течением заболевания и неблагоприятным исходом.

Работа выполнена в рамках интеграционного научного проекта СО РАМН «Молекулярно-генетические механизмы формирования и прогрессии рака молочной железы: разработка критериев риска, прогноза клинического течения и чувствительности к химиотерапии на основании выявления информативных маркеров опухоли и организма» 2006–2008 гг.

ЛИТЕРАТУРА

- Arias-Pulido H., Chaher N., Gong Y. et al. Tumor stromal vascular endothelial growth factor A is predictive of poor outcome in inflammatory breast cancer // *BMC Cancer*. 2012. Vol. 12. P. 298.
- Bando H., Weich H., Brokelmann M. et al. Association between intratumoral free and total VEGF, soluble VEGFR-1, VEGFR-2 and prognosis in breast cancer // *Br. J. Cancer*. 2005. Vol. 92. P. 553–561.
- Banyasz I., Szabo S., Bokodi G. et al. Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor in severe preeclampsia // *Mol. Hum. Reprod*. 2006. Vol. 12. P. 233–236.
- Bland J., Altman D. Education and debate. The odds ratio // *BMJ*. 2000. Vol. 320. P. 1468.
- Carmeliet P., Jain R. Angiogenesis in cancer and other diseases // *Nature*. 2000. Vol. 407. P. 249–257.
- Dabrosin C. Positive correlation between estradiol and vascular endothelial growth factor but not fibroblast growth factor-2 in normal human breast tissue in vivo // *Clin. Cancer Res*. 2005. Vol. 11. P. 8036–8041.
- Gasparini G. Prognostic value of vascular endothelial growth factor in breast cancer // *Oncologist*. 2000. Vol. 5. P. 37–44.
- Jakubowska A., Gronwald J., Menkiszak J. et al. The VEGF 936 C>T 3'UTR polymorphism reduces BRCA1-associated breast cancer risk in Polish women // *Cancer Lett*. 2007. Vol. 262 (1). P. 71–76.
- Jin Q., Hemminki K., Enquist K. et al. Vascular endothelial growth factor polymorphisms in relation to breast cancer development and prognosis // *Clin. Cancer Res*. 2005. Vol. 11. P. 3647–3653.
- Kataoka N., Cai Q., Wen W. et al. Population-based case-control study of VEGF gene polymorphisms and breast cancer risk among Chinese women // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev*. 2006. Vol. 15. P. 1148–1152.
- Kidd L., Brock G., Vancleave T. et al. Angiogenesis-associated sequence variants relative to breast cancer recurrence and survival // *Cancer Caus. Contr*. 2010. Vol. 21. P. 1545–1557.
- Kim J., Oh D., Kwak S. et al. Genetic polymorphism of vascular endothelial growth factor (VEGF C936T) in the Korean population // *Korean J. Biol. Sci*. 2003. Vol. 7. P. 261–264.
- Krippel P., Langsenlehner U., Renner W. et al. A common 936 C/T gene polymorphism of vascular endothelial growth factor is associated with decreased breast cancer risk // *Int. J. Cancer*. 2003. Vol. 106. P. 468–471.
- Lambrechts D., Storkebaum E., Morimoto M. et al. VEGF is a modifier of amyotrophic lateral sclerosis in mice and humans and protects motoneurons against ischemic death // *Nat. Genet*. 2003. Vol. 34. P. 383–394.
- Linardou H., Kalogeras K.T., Kronenwett R. et al. The prognostic and predictive value of mRNA expression of vascular endothelial growth factor family members in breast cancer: a study in primary tumors of high-risk early breast cancer patients participating in a randomized Hellenic Cooperative Oncology Group trial // *Breast Cancer Res*. 2012. Vol. 14. P. 145.
- Linderholm B.K., Lindh B., Beckman L. et al. Prognostic correlation of basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor in 1307 primary breast cancers // *Clin. Breast Cancer*. 2003. Vol. 4. P. 340–347.
- 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. P. 51–62.
- Maee E., Andersen R., Steffensen K. et al. Prognostic impact of VEGFA germline polymorphisms in patients with HER2-positive primary breast cancer // *Anticancer Res*. 2012. Vol. 32. P. 3619–3627.
- Madeddy P. Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for tissue regeneration // *Exp. Physiol*. 2004. Vol. 90 (3). P. 315–326.
- Oliveira C., Lourenço G., Silva P. et al. Polymorphisms in the 5'- and 3'-untranslated region of the VEGF gene and sporadic breast cancer risk and clinicopathologic characteristics // *Tumour Biol*. 2011. Vol. 32. P. 295–300.
- Perrot-Applanat M., Di Benedetto M. Autocrine functions of VEGF in breast tumor cells: Adhesion, survival, migration and invasion // *Cell Adh. Migr*. 2012. Vol. 6. P. 547–553.
- Relf M., LeJeune S., Scott P. et al. Expression of the angiogenic factors vascular endothelial cell growth factor, acidic and basic fibroblast growth factor, tumor growth factor beta-1, platelet-derived endothelial cell growth factor, placenta growth factor, and pleiotrophin in human primary breast cancer and its relation to angiogenesis // *Cancer Res*. 1997. Vol. 57. P. 963–969.
- Rodrigues P., Furriol J., Tormo E. et al. The single-nucleotide polymorphisms +936 C/T VEGF and -710 C/T VEGFR1 are associated with breast cancer protection in a Spanish population // *Breast Cancer Res. Treat*. 2012. Vol. 133. P. 769–778.
- Schneider B., Radovich M., Sledge G. et al. Association of polymorphisms of angiogenesis genes with breast cancer // *Breast Cancer Res. Treat*. 2008. Vol. 111. P. 157–163.
- Shahbazi M., Fryer A., Pravica V. et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms are associated with acute renal allograft rejection // *J. Am. Soc. Nephrol*. 2002. Vol. 13. P. 260–264.
- Sheng Z., Guo-Ping W., Cong L., Muxiang Z. Eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E) and angiogenesis: prognostic markers for breast cancer // *BMC Cancer*. 2006. Vol. 6. P. 231–243.
- Smith K., Bateman A., Fussell H. et al. Cytokine gene polymorphisms and breast cancer susceptibility and prognosis // *Eur. J. Immunogenet*. 2004. Vol. 31. P. 167–173.
- Watson C., Webb N., Bottomley M., Brenchley P. Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene: correlation with variation in VEGF protein production // *Cytokine*. 2000. Vol. 12. P. 1232–1235.
- Wehrschuetz M., Schollnast H., Wehrschuetz E. et al. VEGF 936C/T polymorphism and Association of BI-RADS score in Women with suspected Breast cancer // *Breast Cancer: Bas. Clin. Res*. 2009. Vol. 3. P. 77–81.

Поступила 23.07.12