

АЛЛЕЛЬ *PROGINS* ГЕНА РЕЦЕПТОРА ПРОГЕСТЕРОНА *PGR* АССОЦИИРОВАН С РИСКОМ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ЗАПАДНО-СИБИРСКОМ РЕГИОНЕ РОССИИ

Печковский Е. В.1; Вайнер А. С.1,2; Боярских У. А.1; Билтуева Ю. А.1, Селезнёва И. А.3, Синкина Т. В.3, Лазарев А. Ф.3, Петрова В. Д.3, Филипенко М. Л.1,*

1 Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, 630090

2 Новосибирский государственный университет, г. Новосибирск, 630090
3 Алтайский филиал Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН, Барнаул, 656049

*для корреспонденции: ИХБФМ СО РАН, 630090, г. Новосибирск, пр-кт Лаврентьева, 8.
тел.: 8(383)3635171, e-mail: mlfilipenko@gmail.com*

Резюме.

Рак молочной железы (РМЖ) занимает лидирующие позиции в структуре онкологической заболеваемости женщин во всем мире. Полиморфизм гена рецептора прогестерона (*PGR*) может вносить вклад в генетическую предрасположенность к РМЖ. Целью настоящего исследования являлся анализ ассоциации полиморфного локуса rs1042838 (аллель *PROGINS*) гена *PGR* с риском развития РМЖ в выборке жителей Западно-Сибирского региона России. Были проанализированы экспериментальная группа из 664 женщин, больных РМЖ, и контрольная группа из 466 женщин. В результате исследования была выявлена ассоциация аллеля Т ($OR = 1.30$; $p = 0.02$) и генотипа Т/Т ($OR = 2.19$; $p = 0.03$) с увеличением риска РМЖ. При анализе подгрупп с низким и высоким уровнем экспрессии *PGR* была обнаружена ассоциация только для подгруппы с низким уровнем экспрессии (для аллеля Т: $OR = 1.52$; $p = 0.006$; для генотипа Т/Т: $OR = 2.67$; $p = 0.03$).

Ключевые слова: рак молочной железы, рецептор прогестерона, аллель *PROGINS*, ассоциация, русская этническая группа

THE *PROGINS* ALLELE OF THE PROGESTERONE RECEPTOR (*PGR*) GENE IS ASSOCIATED WITH THE INCREASED RISK OF BREAST CANCER IN WESTERN SIBERIAN REGION OF RUSSIA

Pechkovskiy E. V.1; Weiner A. S.1,2; Boyarskikh U. A.1; Biltueva Ju. A.1; Selezneva I. A.3; Sinkina T. V.3; Lazarev A. F.3; Petrova V. D.3; Filipenko M. L.1

¹ *Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, 630090*

² *Novosibirsk State University, Novosibirsk, 630090*

³ *Altai Branch of Russian N.N. Blokhin Cancer Research Centre, Barnaul, 656049*

Abstract.

Breast cancer (BC) is the most incident cancer among women. Genetic polymorphism of progesterone receptor may be involved in the etiology of BC. In the present study we aimed to investigate the association of polymorphism rs1042838 (*PROGINS* allele) of *PGR* gene with the risk of BC in the West Siberian Region of Russia. We analyzed the case (644 BC women) and the control (466 women) groups. Allele T (OR = 1.30; $p = 0.02$) and genotype T/T (OR = 2.19; $p = 0.03$) were associated with the increased risk of BC. After stratification of the case group according to PGR expression status, we revealed an association only in the subgroup of patients with low level of PGR expression (for allele T: OR = 1.52; $p = 0.006$; for genotype T/T: OR = 2.67; $p = 0.03$).

Key words: breast cancer, progesterone receptor, *PROGINS* allele, association, Russian population

Введение.

Рак молочной железы (РМЖ) является самым распространённым онкологическим заболеванием среди женщин. Вероятность развития РМЖ на протяжении жизни составляет в среднем 9-10 %, а в случае наличия этого заболевания в семейном анамнезе – как минимум 20% [1, 2]. Одной из причин злокачественного перерождения клеток молочных желез может быть нарушение гормонального гомеостаза в тканях этого органа. Изменение баланса в количестве или активности ферментов метаболизма половых стероидных гормонов может приводить к увеличению концентрации биологических веществ, индуцирующих клеточную пролиферацию и ингибирующих процессы апоптоза, а также обладающих генотоксическим эффектом. Изменение структуры или количества рецепторов стероидных гормонов может вызывать аномальный клеточный ответ на действие этих гормонов.

Одним из половых стероидных гормонов, необходимых для правильного развития и функционирования репродуктивной системы женщины, является прогестерон. В тканях молочной железы этот гормон ответствен за контроль пролиферации и дифференцировки альвеолярных элементов и разветвление протоков во время беременности и в пубертатный период, а также препятствует преждевременному синтезу белков молока до наступления родов [3-5]. Прогестерон осуществляет свое действие благодаря связыванию с рецептором прогестерона, который является фактором транскрипции и регулирует экспрессию

PRB. Оба рецептора кодируются одним и тем же геном *PGR*, но транскрибируются с разных промоторов. Вследствие этого, PRB имеет N-концевую последовательность длиной в 164 аминокислоты, отсутствующую у PRA [6]. В ряде исследовательских работ было показано, что PRA и PRB опосредуют разный эффект прогестерона, зависящий от типа ткани: PRB требуется для нормального развития молочных желез, а PRA – для правильного развития матки и поддержания репродуктивной функции [5-7]. Тем не менее, в PR-положительных клетках нормальных тканей человека оба рецептора экспрессируются примерно на одном уровне, и клетки с одним типом рецептора, встречаются редко [6].

Значение прогестерона в индукции неопластических процессов в молочных железах ещё до конца не выяснено. С одной стороны, в ряде исследований показан антиэстрогеновый (антипролиферативный) [8-12] эффект прогестерона на нормальной и раковой ткани. Вероятно, этот эффект связан со снижением экспрессии рецепторов эстрогена и стимуляцией фермента HSD17B1, превращающего эстрадиол в менее активную форму эстрогена – эстрон [12]. С другой стороны, в работе группы авторов van

Bogaert et al. было обнаружено увеличение эффективности синтеза ДНК в ответ на действие прогестерона на культуре нормальных клеток протоков молочной железы [13], а в исследовании Cappelletti et al. выявлен пролиферативный эффект прогестерона на раковых клетках в отсутствии эстрадиола [14]. О том, что прогестагены могут стимулировать злокачественную трансформацию, свидетельствуют результаты проведения гормон-заместительной терапии (ГЗТ) [15-18]. Женщины, применявшие эстроген в комбинации с прогестагенами, чаще заболевали раком молочной железы, чем женщины, применявшие только эстроген. Тем не менее, вероятно, что «виновником» увеличения риска является не сам прогестерон. Например, в работе Fournier et al. [19] было продемонстрировано, что комбинация эстроген-прогестерон не приводит к увеличению риска РМЖ, в отличие от комбинации эстрогена с другими прогестагенами, применяемыми в ходе ГЗТ.

Принимая во внимание влияние прогестерона на функционирование клеток молочных желез, можно предположить, что полиморфизм гена прогестеронового рецептора при наличии его функциональной реализации может оказывать влияние на риск развития злокачественной трансформации ткани этого органа.

Цель исследования: анализ ассоциации генотипов полиморфного локуса rs1042838 (аллеля *PROGINS*) гена рецептора прогестерона с риском РМЖ среди жительниц Западно-Сибирского региона России.

Материалы и методы.

Исследуемые группы. Выборка женщин со sporadической формой рака молочной железы и контрольная группа были сформированы в рамках эпидемиологического исследования, проводимого Алтайским филиалом Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН. Все женщины принадлежали к европеоидной расе русской этнической группы и проживали на территории Алтайского края РФ. В экспериментальную выборку было включено 664 женщины (средний возраст – 56.3 ± 7.8 лет) с гистологически верифицированным диагнозом РМЖ. Для 394 пациенток имелись результаты иммуногистохимического определения уровня экспрессии рецептора прогестерона в опухолевой ткани. Выраженность экспрессии оценивали в баллах от 0 до 300 по шкале Н-счёта, используя следующую формулу: $H = 3 \times A + 2 \times B + 1 \times C$, где А – процент сильноокрашенных ядер опухолевых клеток, В – процент умеренно окрашенных ядер, С – процент слабоокрашенных ядер. 200 пациенток имели выраженность экспрессии PGR в диапазоне от 0 до 50 баллов, 43 пациентки – от 50 до 100 баллов и 151 пациентка – от 100 и выше баллов.

Контрольная группа состояла из 466 женщин (средний возраст – 53.9 ± 12.6), не имеющих онкологических заболеваний. Все пациенты подписывали информированное соглашение в соответствии с требованиями этического комитета.

Определение генотипов. ДНК выделяли из венозной крови с использованием стандартной процедуры, включающей выделение и лизис клеток крови, гидролиз белков протеиназой К, очистку ДНК экстракцией примесей фенол-хлороформом и осаждение ДНК этанолом. Определение генотипов полиморфного локуса rs1042838 гена *PGR* проводилось методом ПЦР в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, комплиментарных полиморфной последовательности ДНК. ПЦР проводилась в конечном объеме 25 мкл, содержащем 65 мМ Tris-HCl (pH 8.9), 23 мМ сульфат аммония; 3.0 мМ $MgCl_2$; 0.01%-ный Tween 20; 0.2 мМ раствор дезоксинуклеозидтрифосфатов (dNTP); 0.3 мкМ растворы олигонуклеотидных праймеров (AAAGTTCAATAAAGTCAGAGTTGTG; TCAATGCTCATTAACAGGTTG), 0.1 мкМ растворы TaqMan-зондов (R6G-CACAGCCATTTGGGCGTTC-BHQ; FAM-CACAGCCAGTGGGCGTTC-BHQ), 20-100 нг ДНК и 1 ед. акт. Taq-ДНК-полимеразы. TaqMan-зонды, олигонуклеотидные праймеры, dNTP и Taq-ДНК-полимераза были синтезированы в ИХБФМ СО РАН. ПЦР проводили на ДНК-амплификаторе iCycler iQ5 («Bio-Rad», США). Протокол ПЦР: начальная денатурация при 96°C - 3 мин, далее в течение 47 циклов: 96°C - 8 с, 58°C - 40 с.

Статистическая обработка данных. Сравнение частот встречаемости аллелей и генотипов локуса rs1042838 в исследуемых группах проводили с использованием критерия χ^2 , тест на соответствие распределения генотипов равновесию Харди-Вайнберга - с использованием точного критерия. Различия в частотах считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0.05$. Для оценки величины относительного риска использовали отношение шансов (OR) с его 95% доверительным интервалом (C.I.). Вычисления производили с помощью он-лайн программы DeFinetti (<http://ihg2.helmholtz-muenchen.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>).

Результаты.

В настоящем исследовании определены частоты аллелей и генотипов полиморфного локуса rs1042838 гена рецептора прогестерона *PGR* в группе контроля и выборке больных РМЖ, включая подгруппы с низким (от 0 до 50 баллов) и высоким (100 и выше баллов) уровнем экспрессии *PGR* в опухолевых клетках (табл. 1). Распределение генотипов в

контрольной и экспериментальной выборке, а также в анализируемых подгруппах, соответствовало равновесию Харди-Вайнберга.

Частоты аллеля Т (18%) и генотипа Т/Т (4%) в группе больных РМЖ статистически значимо отличались от таковых в группе контроля (15% и 2%, соответственно). Значимые различия были выявлены и при сравнении частот аллеля Т и генотипа Т/Т в подгруппе больных с низким уровнем экспрессии PGR (21% и 5%, соответственно) и аналогичными частотами в контрольной группе. При сравнении частот аллелей и генотипов между подгруппой больных РМЖ с высоким уровнем экспрессии PGR и группой контроля значимых различий выявлено не было. Значения OR, 95% C.I. и *p*, рассчитанные для каждого из сравнений, представлены в таблице 2.

Таблица 1. Частоты аллелей и генотипов полиморфного локуса rs1042838 гена *PGR* в выборке больных РМЖ и контрольной группе. Отдельно представлены частоты для подгрупп больных РМЖ с разным уровнем экспрессии рецептора прогестерона.

	Контрольная группа	РМЖ	РМЖ (экспрессия PGR в диапазоне от 0 до 50 баллов)	РМЖ (экспрессия PGR в диапазоне от 100 баллов и выше)
G/G	0.73 (339)	0.68 (450)	0.64 (127)	0.70 (105)
G/T	0.25 (117)	0.28 (185)	0.32 (63)	0.27 (41)
T/T	0.02 (10)	0.04 (29)	0.05 (10)	0.03 (5)
G	0.85	0.82	0.79	0.83
T*	0.15	0.18	0.21	0.17
<i>p</i> **	1.00	0.09	0.52	0.77

* - аллель *PROGINS*

** - тест на соответствие выборок равновесию Харди-Вайнберга

Таблица 2. Ассоциация аллеля Т и генотипов G/T и Т/Т полиморфного локуса rs1042838 гена *PGR* с РМЖ в выборке жителей Западно-Сибирского региона России. Жирным шрифтом отмечены значения *p*<0.05 (статистически значимые различия).

	OR (отношение шансов); 95% C.I.(95% доверительный интервал); <i>p</i>
РМЖ	OR (T vs G) = 1.30; 1.03-1.63; <i>p</i> = 0.02 OR (G/T vs G/G) = 1.19; 0.91-1.60; <i>p</i> = 0.21 OR (T/T vs G/G) = 2.19; 1.05-4.54; <i>p</i> = 0.03
РМЖ (экспрессия PGR в диапазоне от 0 до 50 баллов)	OR (T vs G) = 1.52; 1.12-2.06; <i>p</i> = 0.006 OR (G/T vs G/G) = 1.44; 1.00-2.08; <i>p</i> = 0.05 OR (T/T vs G/G) = 2.67; 1.09-6.57; <i>p</i> = 0.03
РМЖ (экспрессия PGR в диапазоне от 100 баллов и выше)	OR (T vs G) = 1.18; 0.83-1.68; <i>p</i> = 0.36 OR (G/T vs G/G) = 1.13; 0.75-1.72; <i>p</i> = 0.56 OR (T/T vs G/G) = 1.61; 0.54-4.83; <i>p</i> = 0.39

Обсуждение.

Полиморфный локус rs1042838 (замена G/T) в 4 экзоне гена *PGR* приводит к аминокислотной замене *Val660Leu*, располагающейся в шарнирном участке между ДНК- и лиганд-связывающими доменами рецептора прогестерона. Данный участок является эволюционно консервативным [20], это говорит о том, что, вероятно, сохранение его структуры важно для правильного функционирования белка. Локус rs1042838 находится в полном неравновесии по сцеплению с двумя другими генетическими локусами - rs1042839 (замена C/T, *His770His*) в 5 экзоне и инсерцией *Alu*-повтора (320 п.н.) в интроне 7 того же гена. Поскольку последовательность *Alu* локализуется в интронном регионе, она не может оказывать влияние на функциональные характеристики PGR. Тем не менее, её присутствие в гене и РНК-транскрипте может отражаться на эффективности транскрипции и стабильности пре-мРНК.

Аллель, несущий замены rs1042838 T, rs1042839 T и *Alu*-повтор, обозначается в литературе как аллель *PROGINS* [21]. К настоящему времени было проведено два исследования влияния этого аллеля на уровень экспрессии, стабильность мРНК и белкового продукта, а также функциональные особенности прогестеронового рецептора. В работе авторов AgoulNIK et al. [22] было показано, что мутантная форма рецептора (как PRB, так и PRA) при связывании с агонистом прогестерона обладает большей способностью активировать транскрипцию репортерного гена в клетках линий COS-1 (клетки африканской зеленой мартышки, трансформированные вирусом SV40), HeLa (раковые клетки шейки матки человека) и MDAH:2774 (раковые клетки яичника человека). Кроме того, была выявлена ассоциация аллеля *PROGINS* с более высоким уровнем экспрессии и большей стабильностью обеих форм PGR в клетках COS-1.

В исследовании Romano et al. [20] были получены иные результаты. Анализ стабильности транскрипта выявил меньшую стабильность пре-мРНК PRA и PRB для аллеля *PROGINS* при экспрессии в клетках T47D (раковые клетки молочной железы человека) и MDAH:2774. Дальнейший анализ показал, что аллель *PROGINS* хуже транскрибируется в клетках T47D, но в эндометрии здоровых женщин уровень его экспрессии не отличается от такового для нормального аллеля. При изучении способности PGR активировать транскрипцию репортерного гена в клетках разных линий было выявлено, что мутантная и нормальная форма рецептора при связывании с прогестероном с одинаковой эффективностью активируют транскрипцию в клетках линий MCF7 (раковые клетки молочной железы человека), HeLa и MDAH:2774. В клетках же яичников человека (Skov-3) и яичников китайского хомячка (CHO-K1) белковые продукты аллеля

PROGINS активировали транскрипцию с меньшей эффективностью. Для последней линии клеток было также показано, что мутантный PRA менее эффективно ингибирует клеточную пролиферацию, чем нормальная форма этого рецептора.

Таким образом, влияние аллеля *PROGINS* на функциональные характеристики прогестеронового рецептора, по всей видимости, зависят от типа клеток, экспрессирующих PGR, и для выяснения его функциональной роли в клетках молочной железы требуются дополнительные исследования.

В настоящей работе было проанализировано влияние аллеля *PROGINS* на риск развития РМЖ в Западно-Сибирском регионе России. С этой целью были определены частоты аллелей и генотипов в выборке женщин, больных РМЖ, и в группе контроля. Разница в частотах была оценена статистическими методами. Частота аллеля *PROGINS* в группе контроля составила 15%, что соответствует данным по другим популяциям европеоидного происхождения [23-26].

Аллель *PROGINS* и генотип, содержащий две копии аллеля *PROGINS* (rs1042838 T/T), показали статистически значимую ассоциацию с увеличением риска РМЖ (OR = 1.30; $p = 0.02$ и OR = 2.19; $p = 0.03$, соответственно). Поскольку и роль прогестерона в развитии злокачественных опухолей молочных желез, и функциональное значение аллеля *PROGINS* при экспрессии гена *PGR* в ткани молочной железы ещё до конца не установлены, интерпретировать выявленную ассоциацию в настоящий момент затруднительно. Если предположить, что аллель *PROGINS* уменьшает ответ клеток молочных желез на действие прогестерона, то полученный результат свидетельствует об антиканцерогенном воздействии этого гормона.

Исследование ассоциации аллеля *PROGINS* с риском РМЖ в разных популяционных группах, проведенное в предыдущих работах, показало противоречивые результаты [21, 23-32]. В 2008 году был опубликован мета-анализ авторов Johnatty et al. (больные/контроль:10205/11320), выявивший слабую ассоциацию аллеля *Leu* с увеличением риска РМЖ (OR = 1.07, $p = 0.01$) [24]. Тем не менее, ассоциации не было показано ни для одного из генотипов. В 2009 году были опубликованы результаты более крупного исследования, выполненного «Breast Cancer Association Consortium» [26]. В ходе этого исследования было проанализировано 30 выборок (более 30000 женщин в группе больных и группе контроля), 28 из которых состояли из представительниц европеоидной расы и 2 – монголоидной. Мета-анализ, выполненный на основании полученных данных, не выявил ассоциации rs1042838 с раком молочной железы, но показал значимую гетерогенность результатов включенных в него работ, что говорит о том, что эффект

аллеля *Leu* варьирует от популяции к популяции. Ни в одном из вышеприведенных исследований не было проанализировано влияние аллеля *PROGINS* на риск РМЖ в русской этнической группе, поэтому настоящая работа является первым исследованием, выполнившим этот анализ. Для репликации ассоциации данного аллеля с риском РМЖ в России требуется проведение дополнительных исследований на выборках большего размера.

В настоящей работе было дополнительно проведено изучение ассоциации локуса rs1042838 с риском РМЖ отдельно для подгруппы с низким (от 0 до 50 баллов) и высоким (от 100 и выше баллов) уровнем экспрессии PGR в опухолевой ткани. Ассоциация была выявлена только для РМЖ с низким уровнем экспрессии PGR ($OR (T \text{ vs } G) = 1.52; p = 0.006$; $OR (T/T \text{ vs } G/G) = 2.67; p = 0.03$). Если принять гипотезу, постулирующую, что аллель Т (*PROGINS*) снижает количество рецептора прогестерона в клетке молочной железы, а воздействие прогестерона является антипролиферативным, то это позволяет объяснить, почему замена rs1042838 приводит к увеличению риска РМЖ именно такого подтипа.

В заключение: мы показали влияние полиморфизма рецептора прогестерона на риск развития рака молочной железы в русской этнической группе, проживающей в Западно-Сибирском регионе Российской Федерации. Это влияние было характерно для РМЖ с низким уровнем экспрессии PGR. Полученные нами данные могут быть полезны для дальнейшей функциональной валидации роли рецептора прогестерона, а также полиморфизма его гена в развитии рака молочной железы.

Благодарности. Работа поддержана Интеграционным проектом СО РАН №91, а также Федеральной целевой программой «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы, ГК № 16.740.11.0633 от 2.06.2011 г.

Литература.

1. *Willems P. J.* Susceptibility genes in breast cancer: more is less? // *Clinical Genetics* - 2007 - Vol.72 - №6 - P.493-496.
2. *Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer.* Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease // *Lancet* - 2001 - Vol.358 - №9291 - P.1389-1399.
3. *Ruan W., Monaco M. E., Kleinberg D. L.* Progesterone stimulates mammary gland ductal morphogenesis by synergizing with and enhancing insulin-like growth factor-I action // *Endocrinology* - 2005 - Vol.146 - №3 - P.1170-1178.

4. *Graham J. D., Clarke C. L.* Physiological action of progesterone in target tissues // *Endocr Rev* - 1997 - Vol.18 - №4 - P.502-519.
5. *Conneely O. M., Lydon J. P.* Progesterone receptors in reproduction: functional impact of the A and B isoforms // *Steroids* - 2000 - Vol.65 - №10-11 - P.571-577.
6. *Scarpin K. M., Graham J. D., Mote P. A. et al.* Progesterone action in human tissues: regulation by progesterone receptor (PR) isoform expression, nuclear positioning and coregulator expression // *Nucl Recept Signal* - 2009 - Vol.7 - P.e009.
7. *Mulac-Jericevic B., Lydon J. P., Demayo F. J. et al.* Defective mammary gland morphogenesis in mice lacking the progesterone receptor B isoform // *Proc Natl Acad Sci U S A* - 2003 - Vol.100 - №17 - P.9744-9749.
8. *Chang K. J., Lee T. T., Linares-Cruz G., et al.* Influences of percutaneous administration of estradiol and progesterone on human breast epithelial cell cycle in vivo // *Fertil Steril* - 1995 - Vol.63 - №4 - P.785-791.
9. *Foidart J. M., Colin C., Denoo X., et al.* Estradiol and progesterone regulate the proliferation of human breast epithelial cells // *Fertil Steril* - 1998 - Vol.69 - №5 - P.963-969.
10. *Gompel A., Malet C., Spritzer P., et al.* Progestin effect on cell proliferation and 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in normal human breast cells in culture // *J Clin Endocrinol Metab* - 1986 - Vol.63 - №5 - P.1174-1180.
11. *Franke H. R., Vermes I.* Differential effects of progestogens on breast cancer cell lines // *Maturitas* - 2003 - Vol.46 Suppl 1 - P.S55-58.
12. *Mauvais-Jarvis P., Kuttann F., Gompel A.* Antiestrogen action of progesterone in breast tissue // *Breast Cancer Res Treat* - 1986 - Vol.8 - №3 - P.179-188.
13. *Van Bogaert L. J.* Effect of hormone on human mammary duct in vitro // *Horm Metab Res* - 1978 - Vol.10 - №4 - C.337-340.
14. *Cappelletti V., Miodini P., Fioravanti L. et al.* Effect of progestin treatment on estradiol- and growth factor-stimulated breast cancer cell lines // *Anticancer Res* - 1995 - Vol.15 - №6B - P.2551-2555.
15. *Chen W. Y., Hankinson S. E., Schnitt S. J., et al.* Association of hormone replacement therapy to estrogen and progesterone receptor status in invasive breast carcinoma // *Cancer* - 2004 - Vol.101 - №7 - P.1490-1500.
16. *Colditz G. A., Rosner B.* Cumulative risk of breast cancer to age 70 years according to risk factor status: data from the Nurses' Health Study // *Am J Epidemiol* - 2000 - Vol.152 - №10 - P.950-964.
17. *Ross R. K., Paganini-Hill A., Wan P. C. et al.* Effect of hormone replacement therapy on breast cancer risk: estrogen versus estrogen plus progestin // *J Natl Cancer Inst* - 2000 - Vol.92 - №4 - P.328-332.
18. *Beral V.* Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study // *Lancet* - 2003 - Vol.362 - №9382 - P.419-427.
19. *Fournier A., Berrino F., Clavel-Chapelon F.* Unequal risks for breast cancer associated with different hormone replacement therapies: results from the E3N cohort study // *Breast Cancer Res Treat* - 2008 - Vol.107 - №1 - P.103-111.
20. *Romano A., Delvoux B., Fischer D. C. et al.* The PROGINS polymorphism of the human progesterone receptor diminishes the response to progesterone // *J Mol Endocrinol* - 2007 - Vol.38 - №1-2 - P.331-350.
21. *Romano A., Lindsey P. J., Fischer D. C., et al.* Two functionally relevant polymorphisms in the human progesterone receptor gene (+331 G/A and progins) and the predisposition for breast and/or ovarian cancer // *Gynecol Oncol* - 2006 - Vol.101 - №2 - P.287-295.
22. *Agoulnik I. U., Tong X. W., Fischer D. C., et al.* A germline variation in the progesterone receptor gene increases transcriptional activity and may modify ovarian cancer risk // *J Clin Endocrinol Metab* - 2004 - Vol.89 - №12 - P.6340-6347.

23. *Pooley K. A., Healey C. S., Smith P. L., et al.* Association of the progesterone receptor gene with breast cancer risk: a single-nucleotide polymorphism tagging approach // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* - 2006 - Vol.15 - №4 - P.675-682.
24. *Johnatty S. E., Spurdle A. B., Beesley J., et al.* Progesterone receptor polymorphisms and risk of breast cancer: results from two Australian breast cancer studies // *Breast Cancer Res Treat* - 2008 - Vol.109 - №1 - P.91-99.
25. *Ralph D. A., Zhao L. P., Aston C. E., et al. R.* Age-specific association of steroid hormone pathway gene polymorphisms with breast cancer risk // *Cancer* - 2007 - Vol.109 - №10 - P.1940-1948.
26. *Gaudet M. M., Milne R. L., Cox A., et al.* Five polymorphisms and breast cancer risk: results from the Breast Cancer Association Consortium // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* - 2009 - Vol.18 - №5 - P.1610-1616.
27. *Fernandez L. P., Milne R. L., Barroso E., et al.* Estrogen and progesterone receptor gene polymorphisms and sporadic breast cancer risk: a Spanish case-control study // *Int J Cancer* - 2006 - Vol.119 - №2 - P.467-471.
28. *Pearce C. L., Hirschhorn J. N., Wu A. H., et al.* Clarifying the PROGENS allele association in ovarian and breast cancer risk: a haplotype-based analysis // *J Natl Cancer Inst* - 2005 - Vol.97 - №1 - P.51-59.
29. *Wang-Gohrke S., Chang-Claude J., Becher H., et al.* Progesterone receptor gene polymorphism is associated with decreased risk for breast cancer by age 50 // *Cancer Res* - 2000 - Vol.60 - №9 - P.2348-2350.
30. *De Vivo I., Hankinson S. E., Colditz G. A. et al.* The progesterone receptor Val660-->Leu polymorphism and breast cancer risk // *Breast Cancer Res* - 2004 - Vol.6 - №6 - P.R636-639.
31. *Spurdle A. B., Hopper J. L., Chen X., et al.* The progesterone receptor exon 4 Val660Leu G/T polymorphism and risk of breast cancer in Australian women // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* - 2002 - Vol.11 - №5 - P.439-443.
32. *Fabjani G., Tong D., Czerwenka K., et al.* Human progesterone receptor gene polymorphism PROGENS and risk for breast cancer in Austrian women // *Breast Cancer Res Treat* - 2002 - Vol.72 - №2 - P.131-137.