

ЭКСПРЕССИЯ ТОПОИЗОМЕРАЗЫ IIА КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ МАРКЕР У БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНЫМ РАКОМ ГРУДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Канд. мед. наук Д. Э. Рыспаева, проф. И. И. Смоланка, проф. А. С. Дудниченко*,
проф. И. А. Крячок, канд. мед. наук А. А. Селезнев**, Т. В. Шапочка**

Национальный институт рака (г. Киев),

*Харьковская медицинская академия последипломного образования,

**Патоморфологическая лаборатория «CSD Health Care» (г. Киев)

На ретроспективном материале образцов опухоли 75 больных первичным инвазивным раком грудной железы проанализировано значение экспрессии белка топоизомеразы IIα (Торо IIα) как прогностического маркера и его взаимосвязь с клинико-патологическими данными. Отмечено, что в нашем исследовании Торо IIα присутствует в 40 % опухолевых клетках. Выявлена экспрессия Торо IIα преимущественно при трижды негативном раке грудной железы и отсутствие — при люминальных подтипах. Установлена связь между уровнем экспрессии маркера Торо IIα и индексом пролиферации Ki 67 ($p < 0,001$), определен критический порог Ki 67 = 25 %, выше которого прогнозируется высокая экспрессия Торо IIα. Акцентировано внимание на том, что комбинированная экспрессия Ki 67 и Торо IIα свидетельствует о прогностической значимости для выживаемости и выбора терапии.

Ключевые слова: рак грудной железы, топоизомераза IIα, индекс пролиферации Ki 67.

ЕКСПРЕСІЯ ТОПОІЗОМЕРАЗИ IIА ЯК ПРОГНОСТИЧНИЙ МАРКЕР У ХВОРИХ НА ПЕРВИННИЙ РАК ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ

Канд. мед. наук Д. Е. Рыспаева, проф. І. І. Смоланка,
проф. О. С. Дудніченко*, проф. І. А. Крячок,
канд. мед. наук О. О. Селезньов**, Т. В. Шапочка **

На ретроспективному матеріалі зразків пухлини 75 хворих на первинний інвазивний рак грудної залози проаналізовано значення експресії білка топоізомеразы IIα (Торо IIα) як прогностичного маркера і його взаємозв'язок з клініко-патологічними даними. Зазначено, що у нашому дослідженні Торо IIα був присутній у 40 % пухлинних клітин. Виявлено експресію Торо IIα переважно у разі тричі негативного раку грудної залози та відсутність — у випадку люмінальних підтипів. Установлено зв'язок між рівнем експресії маркера Торо IIα та індексом проліферації Ki 67 ($p < 0,001$), визначено критичний поріг Ki 67 = 25 %, вище за який прогнозується висока експресія Торо IIα. Акцентовано увагу на тому, що комбінована експресія Ki 67 та Торо IIα свідчить про прогностичну значущість для виживаності та вибору терапії.

Ключові слова: рак грудної залози, топоізомераза IIα, індекс проліферації Ki 67.

THE EXPRESSION OF TOPOISOMERASE IIА AS A PROGNOSTIC MARKER IN PATIENTS WITH PRIMARY BREAST CANCER

D. E. Ryspayeva, I. I. Smolanka, O. S. Dudnichenko*,
I. A. Krachok, O. O. Seleznev**, T. V. Shapochka**

The value expression of the protein of topoisomerase IIα (Topo IIα) has been analyzed in the retrospective material of tumor samples of 75 patients with primary invasive breast cancer as a prognostic marker and its relationship according to clinic-pathological data. In our research Topo IIα is presented in 40 % of tumor cells. The presence of expression of Topo IIα is predominantly revealed in triple negative breast cancer and the lack — at the luminal subtypes. The relationship between the level of expression of Topo IIα marker and proliferation index Ki 67 ($p < 0.001$) is defined, and critical threshold Ki 67 = 25 %, above which high expression of Topo IIα is projected. The combined expression of Ki 67 and Topo IIα shows the prognostic significance for survival and the choice of therapy.

Key words: breast cancer, topoisomerase IIα, proliferation index Ki 67.

Рак грудной железы (РГЖ) является наиболее распространенным заболеванием и ведущей причиной смерти от рака у женщин Украины [3]. Несмотря на достигнутые успехи в ранней диагностике и лечении, рецидивы встречаются еще более чем у 20 %

пациенток [10]. Точная оценка риска рецидива заболевания и ответа на лечение является важной предпосылкой персонализированной терапии солидных опухолей, и поиск маркеров, отражающих биологическую агрессивность конкретной опухоли, остается актуальной

задачей. В настоящее время известно несколько десятков диагностических и прогностических показателей, используемых в клинической практике, некоторые из которых уже получили обязательный статус [1]. Молекулярные маркеры могут иметь как прогностическое значение (предсказывающее течение и исход заболевания), так и предиктивное (прогнозирующее чувствительность и резистентность опухоли к лекарственным препаратам) [2]. Одним из классических примеров предиктивных маркеров является амплификация или гиперэкспрессия топоизомеразы II, которая является важным геном, участвующим в репликации и поддержании стабильности генома ДНК. В клетках человека существуют две изоформы топоизомеразы II, названные α и β , каждая из которых расположена на отдельном генетическом локусе. Изоформа топоизомеразы II α (Торо II α) имеет молекулярную массу 170 кДа и расположена на хромосоме 17q21–22. Экспрессия Торо II α увеличивается в пролиферирующих клетках и коррелирует с клеточной фракцией S-фазы [17, 22].

За последние несколько лет наблюдается значительный интерес к ключевым ферментам в репликации ДНК–Торо II α , а также фармакологии таких известных ингибиторов топоизомеразы, как антрациклины или эпиподофиллотоксины [3].

Лечение РГЖ в настоящее время проводится в соответствии с экспрессией определенных белков. При экспрессии эстрогеновых/прогестероновых рецепторов (ER/PgR) РГЖ проводится гормонотерапия. Гиперэкспрессия рецептора человеческого эпидермального фактора роста (HER2) включает в лечение анти-HER2 препараты. Изменения экспрессии Торо II α , возможно, также требуют избирательного лечения антрациклинами.

Исследования [9, 19, 20] показали, что гиперэкспрессия Торо II α в опухолевых клетках сопровождается повышенной чувствительностью к доксорубину и этопозиду. Было отмечено, что первичные опухоли грудной железы с амплификацией c-erbB2 (HER2) показывали высокую корреляцию с экспрессией белка топоизомеразы II α [12].

В то же время в исследовании Petit и соавт. [6] гиперэкспрессия HER2 или Торо II α не являлись предиктором полной морфологической регрессии опухоли (pCR), и только высокая степень злокачественности опухоли была предиктором pCR. О содержании белка Торо II α в опухолевых клетках данные также противоречивы: в одном исследовании отмечено, что белок присутствует в менее чем 10 % всех опухолевых клеток [7], в другом — избыточная экспрессия Торо II α отмечается в 25 % HER2-неамплифицированных опухолях [4].

Данные об изменении экспрессии Торо II α как прогностических и предиктивных маркерах в образцах опухолей грудной железы являются спорными. Определение подгруппы опухолей, в которых находящийся под прицелом белок играет ключевую роль, позволит выбрать более эффективное и менее токсичное лечение.

Цель работы — анализ экспрессии белка Торо II α в прогнозировании ответа на антрациклинсодержащую химиотерапию (ХТ) при РГЖ и оценке его как прогностического маркера.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализированы образцы опухолевой ткани с целью выявления экспрессии белка Торо II α у 75 пациенток с первичным инвазивным РГЖ, перенесших операцию с 2008 по 2012 годы в отделении маммологии и реконструктивной хирургии Национального института рака (г. Киев).

Ткани были фиксированы формалином и заключены в парафин в соответствии со стандартными методиками. Для иммуногистохимического анализа срезы толщиной 3 мкм депарафинировали в ксилоле в течение 30 мин и промывали в 96 % этаноле. Затем для восстановления антигенов срезы погружали в цитратный буфер (pH 6,0 — для Ki и HER2; pH 9,0 — для остальных), предварительно нагретый до 98 °C в течение 40 мин. Эндогенную пероксидазу блокировали путем инкубации в 3 % H₂O₂ в течение 3 мин, с последующей промывкой в TRIS-буферном солевом растворе. Иммуногистохимическое окрашивание проводили с EnVision™ FLEX+ System (Dako,

Дания). Затем срезы инкубировали в камере с моноклональными первичными антителами против топоизомеразы II α (моноклональные мышинные антитела, клон Ki-S1 фирмы Thermo Scientific, США; разведение 1 : 200).

Также использовали следующие первичные антитела: к белку эстроген-рецепторов (моноклональные кроличьи антитела, клон ER1 фирмы Dako), к белку прогестерон-рецепторов (моноклональные мышинные антитела, клон PgR 636 фирмы Dako, Дания), к белку Ki 67 (моноклональные мышинные антитела, клон MIB1 фирмы Dako), к белку HER2 (c-erbB2) (поликлональные кроличьи антитела фирмы Dako, Дания).

Оценка статуса эстрогеновых и прогестероновых рецепторов проводилась по шкале Allred, HER2 онкогена — в соответствии с рекомендациями CAP [15]. Индекс Ki 67 оценивался по процентному содержанию пролиферирующих клеток согласно консенсусу St. Gallen [13]. Для оценки Торо II α рассматривалось только ядерное окрашивание. Частоту иммуноокрашивания опухолевых клеток оценивали субъективно по шкале от 1 до 4 (1 — от 0 до 5 % окрашенных опухолевых клеток; 2 — от 6 до 25 %; 3 — от 26 до 75 %; 4 — более чем 75 %), предложенный Sandri и соавт. [8]. Согласно данной шкале, значения 1 и 2 оценивали как отсутствие экспрессии, а 3 и 4 — как наличие экспрессии белка Торо II α .

Статистический анализ проведен на выборке пациенток РГЖ с использованием качественных (стадия заболевания, иммуногистохимические подтипы, экспрессия маркера Торо II α) и количественных (возраст, индекс Ki-67) переменных. Анализ проводился в пакете EZR (R-statistics v. 3.2.2)

Приведены средние значения и стандартная ошибка средних количественных показателей. Для качественных показателей рассчитывался 95 % доверительный интервал (95 % ДИ) частоты встречаемости. При сравнении частоты встречаемости качественных показателей использован критерий хи-квадрат. При сравнении количественных показателей применялся непараметрический критерий. Для оценки степени связи индекса Ki-67 и маркера Торо II α

использовался метод построения и анализа кривых операционных характеристик (ROC — receiver operating characteristic). Для выявления степени выраженности связи оценивалось значение площади под кривой (AUC — Area Under the Curve), чувствительность и специфичность теста. Критический уровень значимости $\alpha = 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучена клинико-патологическая характеристика пациенток (табл. 1). Всем пациенткам были проведены соответствующее хирургическое лечение, нео — и/или адъювантная ХТ.

Средний возраст пациенток составил $49 \pm 1,2$ лет (от 29 до 71). Почти половина пациенток — старше 50 лет. Люминальный А подтип РГЖ представлен у 26,7 % (20), люминальный В — у 40 % (30), трижды негативный фенотип опухоли — у 24 % (18), гиперэкспрессия HER2 онкогена — у 5,3 % (4) пациенток (табл. 1). Отдельную группу пациенток с позитивным статусом стероидных гормонов и HER2 (3 пациентки) во время анализа маркера Торо II α объединили в группу люминальных подтипов, учитывая, что в прогностическом значении клинически значимым является наличие стероидных рецепторов. Большинство составили больные с люминальными подтипами (70,7 %) и второй стадией заболевания (64 %).

Неoadъювантная ХТ была проведена 43 (57,3 %); адъювантная ХТ — 71 пациентке (94,7 %). В режимах лечения использовались стандартные антрациклинсодержащие схемы у 59 из 71 пациенток (83 %).

Первичные образцы опухоли были получены на ретроспективном материале у 75 больных с гистологически подтвержденным РГЖ, у которых была изучена экспрессия белка Торо II α , клиническая эффективность с целью определения прогностической/предиктивной роли данного маркера.

В исследованных опухолевых образцах экспрессия маркера Торо II α была выявлена у 40 % (30) пациенток. Анализ маркера выявил в большинстве случаев отсутствие экспрессии Торо II α при люминальном А и В (Ki 67 > 14), а его наличие — при трижды негативных

Клинико-патологическая характеристика пациенток с РГЖ

Характеристика пациенток	Кол-во пациенток	%
Возраст (годы)		
≤ 40	17	22,7
41–50	22	29,3
>50	36	48
Стадии (AJCC)		
I	5	6,7
IIA	17	22,7
IIB	31	41,3
IIIA	22	29,3
Подтипы РГЖ		
ER/PgR позитивный	20	26,7
ER/PgR позитивный с Ki 67 > 14	30	40
ER/PgR и HER2 позитивный	3	4
Трижды негативный (ТН)	18	24
HER2 позитивный	4	5,3
Режимы лечения		
Неoadъювантная ПХТ	43	57,3
Адъювантная ПХТ	71	94,7

Примечание: AJCC — American Joint Committee on Cancer; ПХТ — полихимиотерапия.

суррогатных иммуногистохимических подтипах (рис. 1). В исследовании гиперэкспрессия HER2 не сопровождалась экспрессией маркера Торо IIα. Получены результаты, не согласующиеся с данными литературы о корреляции экспрессии Торо IIα с гиперэкспрессией HER2 онкогена, что, возможно, связано с малой группой данных пациенток (4 женщины).

Некоторые исследователи описывают, что большинство aberrаций гена Торо IIα встречаются при HER2 позитивных опухолях, однако уровень HER2 амплификации не предсказывает экспрессию Торо IIα [7]. Из-за своего расположения в близких ампликонах на 17 хромосоме гена, кодирующего Торо IIα, и HER2 онкогена возможны коррелятивные

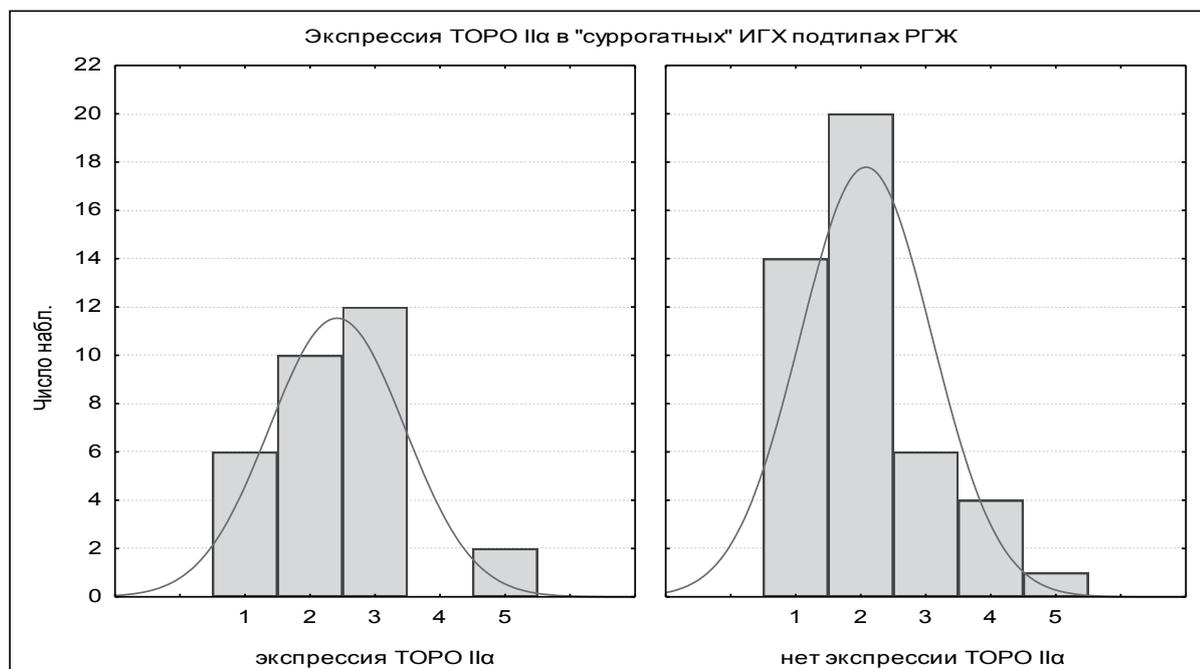


Рис. 1. Экспрессия маркера Торо IIα в зависимости от ИГХ подтипов РГЖ:

1 — люминальный А-подтип; 2 — люминальный В-подтип, 3 — трижды негативный подтип; 4 — гиперэкспрессия HER2 онкогена; 5 — люминальный В-подтип с HER2-позитивным статусом

связи между экспрессией Торо Па и HER2 гиперэкспрессией [4]. В мета-анализе [11] представлено, что комбинированные HER2 амплификация и экспрессия Торо Па могут иметь определенное значение в прогнозе чувствительности к антрациклинсодержащей ХТ. Другим авторам не удалось проследить положительную корреляцию между экспрессией Торо Па и HER2 гиперэкспрессией [9].

Полученное нами в исследовании отсутствие экспрессии Торо Па при люминальных подтипах РГЖ конкордантно данным других исследователей [11, 12].

Как известно, ТН РГЖ характеризуется высокой пролиферацией опухоли и более агрессивным течением. Согласно данным [21], при ТН РГЖ в большинстве случаев наблюдались экспрессия Торо Па и патоморфологический регресс при использовании антрациклинсодержащих схем ХТ. О связи избыточной экспрессии Торо Па и более короткой безрецидивной и общей выживаемости сообщалось в некоторых исследованиях [5, 16]. В опухолевых образцах ТН РГЖ выявленная нами экспрессия Торо Па может свидетельствовать о его прогностической роли у данной группы пациенток. Вполне возможно, что экспрессия Торо Па может быть важным независимым предиктором антрациклинсодержащих схем ХТ у женщин с ТН и HER2-позитивными опухолями.

Высокая скорость пролиферации является одной из основных характеристик злокачественной опухоли. Клеточную пролиферацию оценивали по индексу Кі 67, определение которого является необходимым рутинным исследованием при РГЖ. Мета-анализ рандомизированных клинических исследований показал, что высокий уровень индекса Кі 67 коррелировал со снижением выживаемости пациенток, ассоциировался с лучшим ответом на ХТ. Он давно используется в качестве дополнительного биомаркера для классификации люминальных подтипов, оценки необходимости назначения ХТ [14].

При исследовании обнаружено, что высокий индекс пролиферации Кі 67 сопровождался статистически значимой ($p = 0,00011$) экспрессией Торо Па у 30 больных ($Ki\ 67 = 42,4 \pm 5,1$),

тогда как у 45 пациенток не выявлена экспрессия Торо Па ($Ki\ 67 = 21,4 \pm 2,5$).

Для выявления связи между уровнем экспрессии Торо и индексом пролиферации Кі 67 был использован метод анализа кривых операционных характеристик теста (ROC). ROC — кривая, площадь, под которой равнялась $AUC = 0,73$ (95 % ДИ 0,61–0,82), статистически значима больше 0,5 ($p < 0,001$), что свидетельствует о прогностической релевантности маркера Торо Па (рис. 2).

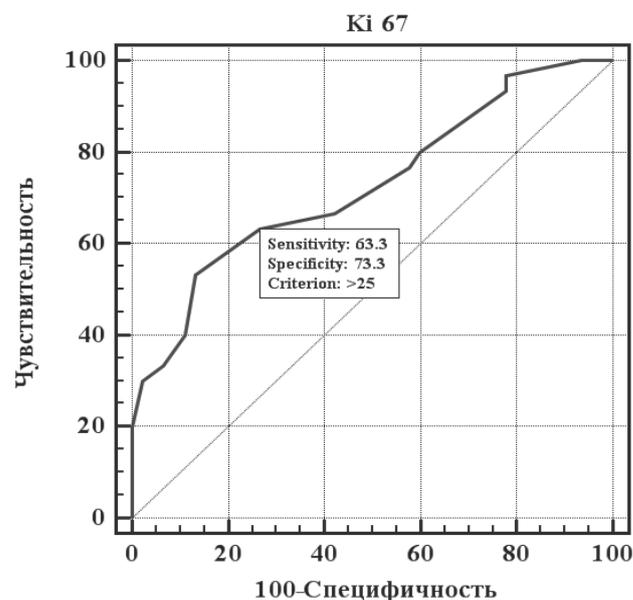


Рис. 2. ROC — кривая прогнозирования экспрессии маркера Торо Па в зависимости от индекса пролиферации Кі 67

При выборе критического порога теста установлено, что $Ki\ 67_{крит.} = 25\%$, и в случае увеличения индекса пролиферации $Ki\ 67 > Ki\ 67_{крит.}$ прогнозируется высокая экспрессия маркера Торо Па. При выбранном пороге $Ki\ 67_{крит.}$ чувствительность теста составила 63,3 % (95 % ДИ 43,9 % — 80,1 %), специфичность — 73,3 % (95 % ДИ 58,1 % — 85,4 %). Иными словами, высокая пролиферация сопровождается экспрессией Торо Па, что может использоваться как дополнительный маркер агрессивного поведения опухоли.

Кроме того, исследования показывают, что высокий Кі 67 связан с ответом на цитотоксическую химиотерапию. Экспрессия Торо Па использовалась как показатель чувствительности к антрациклинсодержащей неoadъювант-

Таблиця 2

Сравнение частоты встречаемости экспрессии маркера Торо Па в группе НАХТ

Группа	Объем выборки, абс. кол-во	Частота встречаемости экспрессии Торо Па, абс. кол-во	Частота встречаемости экспрессии Торо Па, % (95 % ДИ)
С НАХТ	43	13	30,2 (17,2–45,1)
Без НАХТ	32	17	53,1 (35,3–70,5)

ной терапии РГЖ [18]. Учитывая прямую связь между экспрессией Ki 67 и Торо Па, в нашем исследовании был проведен анализ предиктивного потенциала маркера Торо Па.

Примерно половине больных (57,3 %) проводилась неoadъювантная химиотерапия (НАХТ), и в материале после операции была изучена экспрессия маркера Торо Па (табл. 2).

После проведенной НАХТ у 43 пациенток экспрессия Торо Па отмечалась у 13 (30,2 %), отсутствие экспрессии — у 30 (69,8 %) пациенток. Анализ частотной зависимости не выявил статистически значимого различия экспрессии маркера в группах больных, получавших и не получавших НАХТ ($p = 0,0779$, критерий хи-квадрат). Принимая во внимание данные о связи индекса Ki 67 с маркером Торо Па, возможно, при большей выборке выявленная тенденция снижения частоты встречаемости экспрессии Торо Па на фоне проводимой НАХТ может обнаружить статистически значимые различия и предиктивную роль изучаемого маркера.

В группе пациенток (94,7 %), которым была проведена адъювантная ХТ, экспрессия маркера наблюдалась в 40,8 %, а отсутствие экспрессии Торо Па — в 25 % случаев. В этих группах не выявлено статистически значимого различия ($p > 0,05$) по экспрессии Торо Па.

ВЫВОДЫ

Выявлена связь между экспрессией маркера Торо Па и индексом пролиферации Ki 67 ($AUC=0,73$ (95 % ДИ 0,61–0,82), $p < 0,001$), что свидетельствует о прогностической значимости экспрессии маркера Торо Па для выбора терапии и выживаемости. Кроме того, выбран критический порог индекса пролиферации ($Ki\ 67_{крит.} = 25\%$), когда прогнозируется высокая экспрессия маркера Торо Па. Комбинированные экспрессии Ki 67 и Торо Па можно рассматривать как предиктор для назначения ХТ, несмотря на то, что не выявлено корреляции экспрессии маркера Торо Па с ответом на лечение. Учитывая, что был проведен анализ ретроспективных образцов, мы считаем необходимым проведение проспективного когортного исследования с целью определения предиктивной роли данного маркера. Обнаруженная экспрессия Торо Па при ТН РГЖ может явиться важным независимым предиктором неблагоприятного исхода.

В заключение отметим, что имеющиеся результаты пока не оправдывают рутинного применения иммуногистохимического окрашивания Торо Па в качестве предиктивного маркера для ответа на антрациклинсодержащие схемы лечения.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. *Имянитов Е. Н.* Применение молекулярно-генетического анализа для выбора противоопухолевой терапии / Е. Н. Имянитов, В. М. Моисеенко // *Вопр. онкол.* — 2008. — № 54 (2). — С. 121–132.
2. *Проценко С. А.* Принципы индивидуализации лекарственной терапии злокачественных опухолей : автореф. дис.... д-ра мед. наук, 14.01.2012 г., 03.01.2004 / НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова. — СПб, 2012. — 47 с.
3. *Рак в Україні 2014–2015* : Бюлетень національного канцер-реєстру України // ФДУЧ. — 2016. — № 17. — 144 с.
4. C-erbB2 and topoisomerase II α protein expression independently predict poor survival in primary human breast cancer : a retrospective study / P. Fritz, C. M. Cabrera, J. Dippon [et al.] // *Breast Cancer Research.* — 2005. — Vol. 7 (3). — P. 374–384.
5. Clinicopathological Significance of the Proliferation Markers Ki67, RacGAP1, and Topoisomerase 2 Alpha in Breast Cancer / S. Şahin, I. G. İpek, Ç. Aslı [et al.] // *Int. J. Surg. Pathol.* — 2016. — Vol. 24 (7). — P. 607–613.

6. Comparative value of tumour grade, hormonal receptors, Ki-67, HER-2 and topoisomerase II alpha status as predictive markers in breast cancer patients treated with neoadjuvant anthracycline-based chemotherapy / T. Petit, M. Wilt, M. Velten [et al.] // *Eur. J. Cancer*. — 2004. — Vol. 40 (2). — P. 205–211.
7. Correlation between topoisomerase-II α gene amplification and protein expression in HER-2 amplified breast cancer / V. Durbecq, C. Desmed, M. Paesmans [et al.] // *International Journal of Oncology*. — 2004. — Vol. 25. — P. 1473–1479.
8. Differential expression of the topoisomerase II alpha and beta genes in human breast cancers / M. I. Sandri, D. Hochhauser, P. Ayton [et al.] // *Br. J. Cancer*. — 1996. — Vol. 73 (12). — P. 1518–1524.
9. DNA topoisomerase II α expression and the response to primary chemotherapy in breast cancer / G. MacGrogan, P. Rudolph, I. de Mascarel [et al.] // *British Journal of Cancer*. — 2003. — Vol. 89 (4). — P. 666–671.
10. *Eisemann N.* Epidemiology of Breast Cancer—Current Figures and Trends / N. Eisemann, A. Waldmann, A. Katalinic // *Geburtshilfe Frauenheilkd.* — 2013. — Vol. 73 (2). — P. 130–135.
11. HER2 and TOP2A as predictive markers for anthracycline-containing chemotherapy regimens as adjuvant treatment of breast cancer : a meta-analysis of individual patient data / A. Di Leo, C. Desmedt, J. M. Bartlett [et al.] // *Lancet Oncol.* — 2011. — Vol. 12 (12). — P. 1134–1142.
12. *Järvinen T. A.* Expression of topoisomerase II alpha is associated with rapid cell proliferation, aneuploidy, and c-erbB2 overexpression in breast cancer / T. A. Järvinen, J. Kononen, M. Pelto-Huikko // *Am. J. Pathol.* — 1996. — Vol. 148 (6). — P. 2073–2082.
13. Personalizing the treatment of women with early breast cancer : highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer / A. Goldhirsch, E. P. Winer, A. S. Coates [et al.] // *Ann. Oncol.* — 2013. — Vol. 24. — P. 2206–2223.
14. Proliferation markers and survival in early breast cancer : A systematic review and meta-analysis of 85 studies in 32,825 patients / R. Stuart-Harris, C. Caldas, S. E. Pinder [et al.] // *The Breast*. — 2008. — Vol. 17 (4). — P. 323–334.
15. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer : American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update / A. C. Wolff, M. E. Hammond, D. G. Hicks [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 2013. — Vol. 1 (31). — P. 3997–4013.
16. The value of TOP2A gene copy number variation as a biomarker in breast cancer : Update of DBCG trial 89D / K. V. Nielsen, B. Ejlersen, S. Møller, [et al.] // *Acta Oncologica*. — 2008. — Vol. 47, № 4 — P. 725–734.
17. Topoisomerases: Resistance versus Sensitivity, How Far We Can Go? / S. Bansal, P. Bajaj, S. Pandey // *Med. Res. Rev.* — 2016.
18. Topoisomerase II alpha and responsiveness of breast cancer to adjuvant chemotherapy / F. P. O'Malley, S. Chia, D. Tu [et al.] // *J. Natl. Cancer Inst.* — 2009. — Vol. 10. — P. 644–650.
19. Topoisomerase 2 alpha: a real predictor of anthracycline efficacy? / A. Romero, T. Caldés, E. Díaz-Rubio [et al.] // *Clin. Transl. Oncol.* — 2012. — Vol. 14. — P. 163.
20. Topoisomerase II alpha and TLE3 as predictive markers of response to anthracycline and taxane-containing regimens for neoadjuvant chemotherapy in breast cancer / T. Susini, B. Berti, C. Carriero [et al.] // *OncoTargets and therapy*. — 2014. — Vol. 7. — P. 2111–2120.
21. Triple-negative breast cancer exhibits a favorable response to neoadjuvant chemotherapy independent of the expression of topoisomerase II α / H. Nogi, K. Uchida, M. Kamio [et al.] // *Mol. Clin. Oncol.* — 2016. — Vol. 4 (3). — P. 383–389.
22. *Wang J. C.* Cellular roles of DNA topoisomerases : a molecular perspective / J. C. Wang // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* — 2002. — Vol. 3 (6). — P. 430–440.