

Вашенко Л. Н., Дашкова И. Р., Непомнящая Е.М., Аушева Т. В.,
Кечеджиева Э. Э., Андрейко Е.А., Алиев Т. А., Ситковская А. О.

Сравнительная ДНК-цитометрия первичных и рецидивных сарком мягких тканей

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону

Vashchenko L. N., Dashkova I. R., Nepomnyashya E.M., Ausheva T. V., Kechedzhieva E.E.,
Andreyko E. A., Aliev T. A., Sitkovskya A. O.

Comparative DNA Cytometry of Primary and Recurrent Soft Tissue Sarcomas

Резюме

Целью исследования было выявить в сравнительном аспекте отличительные особенности содержания ДНК и распределения клеток по фазам клеточного цикла рецидивных СМТ. Методом проточной цитофлуориметрии проводили ДНК-цитометрию в опухолевой ткани 30 первичных сарком мягких тканей (T2a-2bN0M0) и 30 – рецидивов СМТ (T2-3N0M1). Анализировали плоидность опухоли и распределение клеток по фазам клеточного цикла. Результаты. Выявлен ряд различий ДНК-цитометрических показателей первичных и рецидивных СМТ, которые заключаются: в увеличении доли анеуплоидных опухолей при рецидивах, числа опухолей с ИДНК в пределах митотического цикла, увеличение доли клеток в G2+M- фазе диплоидных и анеуплоидных опухолей и снижение в S-фазе анеуплоидных. Показано, что при степени дифференцировки G2 доля клеток в фазах G2+M, S- и ИП рецидивных СМТ значительно ниже параметров первичных. Увеличение доли клеток в G2+M-фазе и снижение темпов пролиферации рецидивных СМТ в зависимости от стадии показаны только при III стадии. Выводы. Выявленные особенности содержания ДНК и параметров клеточного цикла опухолевых клеток сарком мягких тканей позволят приблизиться к пониманию биологических основ рецидивирования этого злокачественного заболевания.

Ключевые слова: ДНК-цитометрия, рецидивы сарком мягких тканей, проточная цитофлуориметрия

Summary

The goal of comparative investigation was to reveal the distinctive features of the DNA content and cell distribution in the phases of the cell cycle of recurrent STS. DNA cytometry in the tumor tissue of 30 primary soft tissue sarcomas (T2a-2bN0M0) and 30 STS recurrences (T2-3N0M1) was carried out using the method of flow cytometry. The tumor ploidy and cell distribution in the cell cycle phases were analyzed. Results. A number of differences in the DNA cytometric parameters of primary and recurrent STS have been revealed, they include: an increase in the proportion of aneuploid tumors in case of recurrence, the number of tumors with DNA index within the mitotic cycle, an increase in the proportion of cells in G2+M- phase of diploid and aneuploid tumors and a decrease in S- phase of aneuploid ones. It has been shown that with a G2 differentiation degree, the proportion of cells in G2+M, S- and IP of recurrent STS is significantly lower than the primary parameters. An increase in the proportion of cells in G2+M- phase and a decrease in the rate of proliferation of recurrent STS, depending on the stage, are shown only in case of stage III. Conclusion. The revealed features of DNA content and cell cycle of tumor cells of soft tissue sarcomas will allow to approach to understanding of biological bases of recurrence of this malignant disease.

Key words: DNA cytometry, recurrent of soft tissue sarcomas, flow cytometry

Введение

Саркомы мягких тканей (СМТ) – агрессивные опухоли с высокой степенью рецидивирования. Радикальная резекция в пределах здоровых тканей позволяет снизить процент рецидивов до 25-30% без последующей терапии.

После ампутаций и экзартикуляций рецидивы возникают в 10-15% случаев [1]. В связи с высокой частотой рецидивирования СМТ актуален поиск ее причин.

Выяснение биологических особенностей рецидивных сарком мягких тканей представлено немногочислен-

ными исследованиями. Так, Златник Е.Ю. и соавторы [2] изучали иммунологическое микроокружение первичных и рецидивных сарком мягких тканей методом проточной цитофлуориметрии. Авторы считают, что различия состояния локального иммунитета объясняют развитие рецидивов сарком мягких тканей. В ткани рецидивных опухолей по сравнению с первичными при III стадии заболевания исследованием обнаружено высокое содержание Tregs и низкое - CD3+CD8+. Наиболее высокие уровни DN T- лимфоцитов отмечены в рецидивных недифференцированных саркомах. Другие авторы обнаружили, что в процессах потенциального рецидивирования онкотрансформированных клеток сарком мягких тканей могут играть значимую роль показатели копийности апоптоз-регулирующих генов [3]. Проведенное исследование продемонстрировало статистически достоверное уменьшение копийности генов BAX, BCL2, CASP3 и CASP8 в рецидивирующих СМТ по сравнению с первичными опухолями, а также статистически значимые различия этих нозологических групп по частоте проявления копийности генов BAX, CASP9, CASP8 и P53.

Другим биологическим свойством, определяющим интенсивность роста опухоли является соотношение доли клеток в состоянии митоза и фактором клеточных потерь (ФКП) [4]. Базанов К.В. [5], исследуя кинетические параметры рецидивов различных локализаций, показал что интенсивный рост рецидивных очагов СМТ обусловлен низкими показателями ФКП при слабой митотической активности этого вида опухолей. Также рост опухоли усиливается при меньшей длительности клеточного цикла в паренхиме опухоли [6].

На основании современных литературных данных показано, что исследований биологических параметров первичных и рецидивных опухолей мягких тканей недостаточно для понимания причин рецидивирования СМТ. Исследование различных свойств опухолевых клеток рецидивных СМТ позволит определить потенциальные прогностические факторы течения данного заболевания.

В связи с вышесказанным, цель - выявление отличительных особенностей содержания ДНК и распределения клеток по фазам клеточного цикла рецидивных СМТ, определение их связи с морфологическими параметрами опухолей.

Материалы и методы

В исследование были включены 60 пациентов, среди которых 30 составили больные первичными саркомами мягких тканей и 30 – рецидивами СМТ. Исследуемые группы сопоставимы по возрасту, полу. Верификация опухолей осуществлена с помощью стандартного морфологического исследования. В исследование включены СМТ, распределенные следующим образом:

- по гистологическому строению. Первичные опухоли - недифференцированная плеоморфная саркома – 23 (76,6 %), лейомиосаркома – 5 (16,7%), синовиальная саркома - 2 (6,7 %) пациентов. Рецидивные опухоли - недифференцированная плеоморфная саркома – 25 (83,3%), лейомиосаркома – 3 (10,0%), синовиальная саркома - 2 (6,7 %) пациентов.

- по стадиям. Первичные опухоли – Пв - 11 (36,7%), III - 16 (53,3%), Па - 3 (10%) пациентов. Рецидивные опухоли - Пв - 10 (33,4 %), III - 19 (63,3%), Па стадия - 1 (3,3%) пациентов.

- по степени дифференцировки опухоли. Первичные опухоли - низкодифференцированная опухоль (G3) - 17 (56,6 %), умереннодифференцированная опухоль (G2), - 8 (26,7%), высокодифференцированная опухоль (G1), - 5 (16,7 %) пациентов. Рецидивные опухоли - низкодифференцированная опухоль (G3) - 23 (76,6%), умереннодифференцированная опухоль (G2) – 5 (16,7 %), высокодифференцированная опухоль (G1) – 2 (6,7 %) пациентов.

Следовательно, исследуемые группы сопоставимы по морфологическим параметрам и большинство представлено недифференцированной плеоморфной саркомой, чаще выявляется III стадия процесса и степень дифференцировки опухоли G3. От каждого пациента получено добровольное информированное согласие на проведение исследования.

Методом проточной цитофлуориметрии определено содержание ДНК в опухолевой ткани (FACS Canto II, Becton Dickinson, USA) с помощью Cycle TESTTMPLUS DNA ReagentKit. Для обработки полученных данных использована компьютерная программа ModFit LT, позволяющая анализировать плоидность опухоли и распределение клеток по фазам клеточного цикла. Степень анеуплоидии определена по индексу ДНК (ИДНК) (соотношение значения канала пика G0/G1 опухолевого и нормального (диплоидного) образца. Индекс пролиферации (ИП) вычисляли как суммарное число клеток опухоли, находящихся в S- и G2+M-фазах клеточного цикла. Статистическая обработка полученных данных осуществлена с помощью критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

При изучении ДНК-цитометрических параметров в группе первичных СМТ выявлено незначительное преобладание анеуплоидных опухолей в 53,3% (16 из 30 опухолей), против 46,7% диплоидных (14 из 30). Количество анеуплоидных опухолей в группе с рецидивами СМТ составило 70% (21 из 30 опухолей) против 30% диплоидных (9 из 30). Среднее содержание анеуплоидных клеток составило $43,2 \pm 4,6$ % против $39,9 \pm 5,3$ % при первичных и рецидивных СМТ соответственно. Индекс ДНК равен в среднем $2,04 \pm 0,2$ в группе первичных СМТ, а в случае рецидивов - $2,3 \pm 0,2$. Анеуплоидия в пределах митотического цикла (ИДНК= 1,1-1,84) выявлена для первичных СМТ: в 31,25% (5 из 16), в 25% случаев отмечены тетраплоидные (ИДНК=1,85-2,15) опухоли (4 из 16), в 43,8% - многоклоновые опухоли (7 из 16); для рецидивных - в 52,4% (11 из 21), в 19% (4 из 21) и в 28,6% (6 из 21) соответственно.

При анализе распределения клеток по фазам клеточного цикла в среднем по группам показано: первичные - доля клеток в G0/1-фазе составила $75,5 \pm 4,9$ %, в G2+M-фазе клеточного цикла составила $2,2 \pm 0,5$ %, а в S-фазе - $22,7 \pm 3,5$ %, ИП - $25,1 \pm 3,2$ %; рецидивные - $82,2 \pm 3,6$ %, $5,2 \pm 1,1$ %, $12,6 \pm 2,4$ % и $17,9 \pm 3,7$ %, соответственно.

Таблица 1. Распределение клеток по фазам клеточного цикла диплоидных и анеуплоидных опухолей мягких тканей (%)

Фазы клеточного цикла	Первичные		Рецидивные	
	Диплоидные	Анеуплоидные	Диплоидные	Анеуплоидные
G0/G1	86±9,5	68,4±6,3	88,9±4,5	81,1±4,1 ²
G2+M	0,9±0,1	2,6±0,7 ¹	1,8±0,5 ²	5,4±2,2 ²
S	12,9±2,4	28,6±6,1 ¹	10,1±4,3	13,5±2,7 ²
ИП	13,7±3,8	31,1±5,4 ¹	11,9±4,1	19,1±3,4 ²

Примечания: 1 - отличия показателей достоверны по отношению к диплоидным опухолям соответствующей группы ($p \leq 0,05$); 2 - отличия показателей достоверны по отношению к первичным опухолям ($p \leq 0,05$).

Таблица 2. Распределение клеток по фазам клеточного цикла опухолей мягких тканей различной степени дифференцировки (%)

Фазы клеточного цикла	Первичные			Рецидивные		
	G1	G2	G3	G1	G2	G3
G0/G1	95,5±7,8	80,9±9,6	78,8±6,1	95,6±6,4	95,7±4,2	81,9±3,9 ²
G2+M	1,2±0,5	2,2±0,5 ¹	1,5±0,7	2,03±0,9	0,31±0,2 ^{1,3}	2,1±0,8 ²
S	3,3±1,1	16,5±4,9 ¹	19,3±3,8 ¹	2,39±1,2	4,1±3,9 ¹	16,2±3,8 ^{1,2}
ИП	4,5±1,8	18,6±5,4 ¹	21,1±4,2 ¹	4,42±1,6	4,3±2,2 ¹	18,4±3,7 ^{1,2}

Примечания: 1 - отличия показателей достоверны по отношению к G1 ($p \leq 0,05$); 2 - отличия показателей достоверны по отношению к G2 ($p \leq 0,05$); 3 - отличия достоверны по отношению к соответствующей степени дифференцировки первичных опухолей ($p \leq 0,05$).

Анализ кинетики клеточного цикла диплоидных и анеуплоидных опухолей показывает увеличение в 2 раза для диплоидных и в 2,1 раза для анеуплоидных рецидивных опухолей доли клеток в G2+M-фазе клеточного цикла в сравнении с первичными опухолями (таблица 1).

Темпы пролиферации первичных анеуплоидных опухолей в 2,1 раза превосходят аналогичный показатель рецидивных, при практически одинаковых значениях у диплоидных опухолей, что сопровождается возрастанием в 1,6 раза ИП первичных анеуплоидных опухолей.

Ранее нами установлены различия кинетических параметров клеточного цикла первичных сарком в зависимости от степени дифференцировки опухоли и стадии опухолевого процесса [7]. В связи с этим, проанализирована подобная связь в случае рецидивных форм СМТ.

При анализе кинетики клеточного цикла в тканях рецидивов СМТ выявлено снижение доли клеток в G0/G1-фазе клеточного цикла от G1 к G3, что сопровождается значимым повышением доли клеток в S-фазе в 5 раз при G2 и 5,8 раз при G3, и, как следствие, увеличением индекса пролиферации в 4,1 и 4,7 раза, соответственно ($p \leq 0,05$). При этом статистически значимой разницы проанализированных значений между G2 и G3 не выявлено.

Распределение клеток по фазам клеточного цикла не обнаруживает достоверных различий в параметрах клеточного цикла между первичными и рецидивными опухолями при G1 и G3, для которых характерны однонаправленные изменения, такие как, невысокие темпы пролиферации и индекс пролиферации при G1 и значительные при G3 (таблица 2).

Достоверно значимые различия по трем из четырех исследованных показателей выявлены при G2. Так, доля клеток в фазах G2+M-, S- и ИП рецидивных опухолей в 7,1; 4 и 4,3 раза ниже аналогичных показателей первичных опухолей ($p \leq 0,05$).

Анализ параметров клеточного цикла первичных и рецидивных СМТ в зависимости от стадии заболевания указывает на увеличение доли анеуплоидных опухолей при IIb и III стадии рецидивных опухолей в сравнении с первичными опухолями аналогичных стадий (для IIb - с 37,5% при первичных до 71,4% при рецидивных; для III стадии - с 65% при первичных до 72,7% при рецидивных). Значения среднего содержания анеуплоидных клеток в рецидивных опухолях IIb стадии превышают в 2,2 раза показатель первичных. Для сравнения параметров клеточного цикла нами объединены IIa и IIb стадии рецидивных опухолей (таблица 3). Проведенный сравнительный анализ распределения клеток по фазам клеточного цикла первичных и рецидивных опухолей II стадии не выявил достоверных различий параметров, в связи с чем не различался и индекс пролиферации.

Параметры клеточного цикла рецидивных опухолей III стадии, наоборот, достоверно значимо отличаются от первичных. Так, доля клеток в G2+M-фазе была выше в 4,9 раза при рецидивных опухолях. При этом первичные опухоли III стадии характеризуются повышением темпов пролиферации в 1,9 раза.

Проведенный сравнительный ДНК-цитометрический анализ параметров клеточного цикла выявил ряд различий первичных и рецидивных СМТ. При рецидивах СМТ показано увеличение доли анеуплоидных опухолей, чаще наблюдаются опухоли с ИДНК в пределах митотического цикла, тогда как при первичных СМТ чаще отмечены тетраплоидные и многоклоновые опухоли. Анеуплоидия опухолевых клеток традиционно рассматривается как показатель способности к инвазивному росту и метастазированию различных злокачественных новообразований [8] Нами обнаружен более высокий злокачественный потенциал

Таблица 3. Распределение клеток по фазам клеточного цикла рецидивных опухолей различных стадий (%)

Фазы клеточного цикла	Первичные		Рецидивные	
	II	III	II	III
G0/G1	89,7±6,6	77,1±6,4	88,9±6,8	81,7±5,9 ¹
G2+M	1,6±0,4	1,6±0,8	1,0±0,09	7,8±2,8 ^{1,2}
S	8,9±2,7	21,3±4,3 ¹	10,2±6,7	11,4±4,3 ²
III	10,5±2,5	22,9±3,7 ¹	11,3±6,6	19,2±3,7 ¹

Примечания: 1 - отличия показателей достоверны по отношению к стадии II соответствующей группы ($p \leq 0,05$);

2 - отличия достоверны по отношению к соответствующей стадии первичных опухолей ($p \leq 0,05$).

рецидивных опухолей, что позволяет говорить о различиях биологического поведения первичных и рецидивных СМТ в сторону агрессивности последних. Об этом же свидетельствуют увеличение доли клеток в G2+M- фазе и снижение в S-фазе рецидивных СМТ в сравнении с первичными опухолями. Принято считать, что высокое содержание клеток в S и G2+M фазах свидетельствует о неблагоприятном прогнозе при многих злокачественных опухолях [9-11].

Однако, доля клеток в фазах G2+M, S- и ИП рецидивных опухолей значимо ниже параметров первичных СМТ при степени дифференцировки G2. В тканях рецидивов СМТ выявлено снижение доли клеток в G0/G1-фазе клеточного цикла от G1 к G3, что сопровождается повышением доли клеток в S-фазе и, как следствие, увеличением индекса пролиферации. При II и III стадии рецидивных СМТ обнаружено увеличение доли анеуплоидных опухолей в сравнении с аналогичными стадиями первичных опухолей. Увеличение доли клеток G2+M-фазе и снижение темпов пролиферации рецидивных СМТ в зависимости от стадии показаны только при III стадии. Принимая во внимание данные литературы о взаимосвязи кинетических параметров роста, структуры опухоли и фаз клеточного цикла, выявленные корреляции СМТ с морфологическими показателями нам еще предстоит объяснить в дальнейших исследованиях [5,6].

Заключение

Таким образом, обнаруженные особенности содержания ДНК и параметров клеточного цикла опухолевых клеток сарком мягких тканей позволят приблизиться к пониманию биологических основ рецидивирования этого злокачественного заболевания. Учитывая трудоемкость проточной цитофлуориметрии, в практическом смысле метод в дальнейшем может служить дополнительным для определения факторов прогноза рецидивирования СМТ. ■

Конфликт интересов. Потенциальные конфликты или существующие противоречия в интересах отсутствуют.

Ващенко Лариса Николаевна - д.м.н., профессор, заведующая отделением опухолей костей, кожи, мягких тканей и молочной железы №1, федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону.

Дашкова Ирина Рудольфовна - д.м.н., профессор РАН, ведущий научный сотрудник отделения опухолей костей, кожи, мягких тканей и молочной железы №1, федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону.

Непомнящая Евгения Марковна - д.м.н., профессор, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения, федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону.

Аушева Татьяна Валерьевна - к.м.н., старший научный сотрудник отделения опухолей костей, кожи, мягких тканей и молочной железы №1, федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону.

Кечеджиева Эмма Эдуардовна - врач-хирург отделения опухолей костей, кожи, мягких тканей и молочной железы №1, федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону.

Андрейко Елена Анатольевна - к.м.н., врач-онколог отделения опухолей костей, кожи, мягких тканей и молочной железы №1, федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону.

Алиев Тимур Арсенович - аспирант, федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону.

Ситковская Анастасия Олеговна - младший научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования опухолей, федеральное государственное бюджетное учреждение «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону.

Автор, ответственный за переписку - Дашкова Ирина Рудольфовна, 344037, г. Ростов-на-Дону, 14 линия 63, +7928777523, e-mail: daira_911@mail.ru

Литература:

1. Алиев М.Д. Введение в онкоортопедию. Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. 2009,1:14-17. [Aliiev M.D. Introduction to oncoorthopedics. Sarkomy kostej, t'jagkih tkanej i opuholi kozhi. 2009,1:14-17. (In Russ.)].
2. Златник Е.Ю., Непомнящая Е.М., Новикова И.А., Алиев Т.А., Загора Г.И., Селютина О.Н., Ващенко Л.Н., Андрейко Е.А., Аушева Т.В., Бондаренко Е.С. Характеристика факторов локального иммунитета у больных саркомами мягких тканей. Современные проблемы науки и образования. 2016, 3. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24621> [Zlatnik E.Ju., Nepomnjashhaja E.M., Novikova I.A., Aliiev T.A., Zakora G.I., Seljutina O.N., Vashhenko L.N., Andrejko E.A., Ausheva T.V., Bondarenko E.S. Characteristics of local immunity in patients with soft tissue. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2016,3 (In Russ.)]
3. Кит О.И., Водолажский Д.И., Непомнящая Е.М., Алиев Т.А., Аушева Т.В., Андрейко Е.А., Тимошкина Н.Н. Изменение копийности апоптоз-регулирующих генов и гена *ki67* в первичных и рецидивирующих саркомах мягких тканей. Современные проблемы науки и образования. 2016, 4: URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24895> [Kit O.I., Vodolazhskij D.I., Nepomnjashhaja E.M., Aliiev T.A., Ausheva T.V., Andrejko E.A., Timoshkina N.N. Copy number variations of apoptosis-regulating genes and *ki67* gene in primary and recurrent soft tissue sarcomas. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2016, 4. (In Russ.)]
4. Эмануэль Н.М. Кинетика экспериментальных опухолевых процессов. М.: Наука, 1977. – 419 с. [Jemanujel' N.M.. Kinetics of experimental tumor processes. M.: Nauka, 1977. – 419 s. (In Russ.)]
5. Базанов К.В. Исследование влияния структуры рецидивных и метастатических опухолей на кинетику их роста. Фундаментальные исследования. 2015. 1 (4): 684-688 [Bazanov K.V. Research of influence of strutura of recurrent and metastatic tumours on kinetics of their growth . Fundamental'nye issledovaniya. 2015. 1 (4): 684-688. (In Russ.)]
6. Базанов К.В. Исследование скорости роста рецидивных и метастатических сарком мягких тканей. Современные проблемы науки и образования. 2014. 6: 1227. [Bazanov K.V. Research of growth rate of recurrent and metastatic sarcomas of soft tissues. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2014; 6: 1227. (In Russ.)].
7. Новикова И.А., Непомнящая Е.М., Ульянова Е.П., Селютина О.Н., Алиев Т.А., Ващенко Л.Н., Аушева Т.В., Золотарёва Е.И. ДНК-цитометрические характеристики первичных сарком мягких тканей. Казанский медицинский журнал. 2017, 98 (47): 509-513 [Novikova I.A., Nepomnjashhaja E.M., Ul'janova E.P., Seljutina O.N., Aliiev T.A., Vashhenko L.N., Ausheva T.V., Zolotarjova E.I. DNA-cytometric characteristics of primary soft tissue sarcomas. Kazanskij medicinskij zhurnal. 2017, 98 (47): 509-513 (In Russ.)].
8. Николаева Т.Г., Добрынин Я.В. Пloidность опухолевых клеток — важный прогностический фактор при некоторых злокачественных эпителиальных новообразованиях человека (собственные и литературные данные). Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2006. 17(1): 29-36 [Nikolaeva T.G., Dobrynin Ja.V. Tumor cell ploidy is an important factor of prognosis in some human epithelial cancer types (the authors' own and literature findings). Vestnik RONC im. N.N. Blohina RAMN. 2006. 17(1): 29-36 (In Russ.)].
9. Якунина Е. Ю., Семенов Э. В., Мазаев А. В., Козина Ю. В., Модестов А. А. Распределение клеток по фазам клеточного цикла в неизменной и опухолевой ткани при уротелиальном раке. Сибирское медицинское обозрение. 2016. 5:114-115 [Jakunina E. Ju., Semenov Je. V., Mazaev A. V., Kozina Ju. V., Modestov A. A. Distribution of cells in various cell cycle phases in intact tissue and urothelial cell carcinoma Sibirskoe medicinskoe obozrenie. 2016. 5:114-115 (In Russ.)].
10. Неродо Г.А., Новикова И.А., Арджа А.Ю., Никитина В.П., Косенко И.А., Кравцова О.Е., Бондаренко Е.С. ДНК-цитометрические показатели у пациентов с раком яичников. Казанский медицинский журнал. 2017. 4(98): 503-508 Nerodo G.A., Novikova I.A., Ardzha A.Ju., Nikitina V.P., Kosenko I.A., Kravcova O.E., Bondarenko E.S. DNA-cytometric parameters in patients with ovarian cancer Kazanskij medicinskij zhurnal. 2017. 4(98): 503-508 DNA-cytometric parameters in patients with ovarian cancer (In Russ.)].
11. Кит О.И., Базаев А.Л., Новикова И.А., Гранкина А.О., Бондаренко Е.С., Селютина О.Н., Максимов А.Ю. Клинические и морфологические факторы прогноза и параметры клеточного цикла при раке пищевода. Научный журнал КубГАУ. 2016. 124 (10): 1-9. Kit O.I., Bazaev A.L., Novikova I.A., Grankina A.O., Bondarenko E.S., Seljutina O.N., Maksimov A.Ju. Clinical and morphological factors and prediction parameters of cell cycle in esophageal cancer Nauchnyj zhurnal KubGAU. 2016. 124 (10): 1-9. (In Russ.)].