

Сычугов Г.В.¹, Казачков Е.Л.¹, Азизова Т.В.², Ревина В.С.²

Состояние экстрацеллюлярного матрикса и системы клеточного обновления в легких при патологии органов дыхания у работников плутониевого производства

¹ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск; ²ФГУП «Южно-Уральский институт биофизики» Федерального медико-биологического агентства, г. Озерск

Sychugov G.V., Kazachkov E.L., Azizova T.V., Revina V.S.

Pulmonary extracellular matrix and cell turnover in nuclear workers with respiratory conditions

Резюме

Цель работы – определение состава стромы и паренхимы ткани легкого и оценка роли стромально-паренхиматозных взаимоотношений в развитии плутоний-обусловленного пневмофиброза, поствоспалительного пневмофиброза и рака легкого у работников, подвергшихся профессиональному облучению. Изучены морфологические особенности пневмофиброза на аутопсийном материале 109 работников ядерного предприятия ПО «Маяк», с учетом суммарной поглощенной в легких дозы внутреннего альфа-излучения и продолжительности облучения. Обнаружены существенные различия в структуре экстрацеллюлярного матрикса и состоянии компонентов системы клеточного обновления при плутониевом пневмофиброзе, поствоспалительном пневмофиброзе и в параканкрозной зоне аденокарциномы легкого. Полученные данные могут свидетельствовать о различных механизмах развития легочного фиброза в зависимости от характера повреждающего фактора

Ключевые слова: плутониевый пневмофиброз, аденокарцинома легкого, структура коллагена

Summary

The study was aimed to define the composition of lung stroma and parenchyma and to assess a role of parenchyma-stromal interaction for plutonium-associated lung fibrosis, post-inflammatory fibrosis and lung cancer in workers occupationally exposed to ionizing radiation. Using lung tissues collected from 109 Mayak nuclear workers during autopsy examinations, we studied distinguishing morphological features of fibrosis taking into account cumulative lung absorbed doses from internal exposure to alpha radiation and duration of the exposure. Considerable difference in the compositional structure of the extracellular matrix and characteristics of cell turnover were observed among plutonium-associated lung fibrosis, post-inflammatory lung fibrosis and paracancerous regions of lung adenocarcinomas. These observations may demonstrate that mechanisms of lung fibrosis development are associated with a type of an affecting factor

Key words: plutonium pneumofibrosis, adenocarcinoma of lung, pattern of collagen

Введение

Фиброз – характерная особенность отложенного радиационного поражения в паренхиматозных органах. Образование очагов фиброза при воздействии ионизирующего излучения происходит практически во всех тканях и органах, но степень и серьезность варьируются от места к месту. Типичный радиационно-обусловленный фиброз неоднороден: в некоторых органах и тканях это очень плотный, бесклеточный коллаген, в то время как в других областях регистрируется только несколько волокнистых очагов. Фиброз в значительной степени зависит от сум-

марной дозы облучения [1].

Одним из источников ионизирующего излучения является производство плутония – сложный производственный физико-химический процесс с большим разнообразием техногенных факторов радиационной природы. Главным из повреждающих факторов в этом производственном цикле являются аэрозоли трансураниевых радионуклидов и, в первую очередь, плутония-239 [2].

Ранее было показано, что состояние экстрацеллюлярного матрикса и системы клеточного обновления в очагах плутониевого пневмофиброза значительно отли-

чается от соответствующих параметров легочной ткани у работников плутониевого производства, у которых имелись поствоспалительные фиброзные поражения легких или не было обнаружено признаков поражения легких любого генеза [3,4,5].

В связи с этим возникают вопросы, могут ли специфические повреждения ткани легкого при внутреннем альфа-облучении с развитием пневмофиброза являться факторами, влияющими на повышенный риск развития рака легкого, доказанный ранее в эпидемиологических исследованиях когорты работников ПО «Маяк» [6].

Цель исследования – определение состава стромы и паренхимы ткани легкого и оценка роли стромально-паренхиматозных взаимоотношений в развитии плутоний-обусловленного пневмофиброза, поствоспалительного пневмофиброза и рака легкого у работников, подвергшихся профессиональному облучению.

Материалы и методы

Исследование выполнено на аутопсийных материалах 109 работников предприятия по производству оружейного плутония ПО «Маяк». Материал исследования составили 3 группы тканевых образцов легкого (фиксированные в формалине и залитые в парафиновые блоки). В 1 группу были включены 56 случаев с диагнозом плутониевого пневмофиброза (ППФ), во 2 группу 34 случая с пневмофиброзом другого генеза, в том числе в исходе хронических воспалительных заболеваний легких (ПФДГ); в 3 группу – 22 случая с диагнозом аденокарциномы легкого (АКЛ), идентифицированные на основе медико-дозиметрической базы данных «Клиника» [7].

С целью проведения обзорной микроскопии образцы ткани легкого окрашивали гематоксилином и эозином. Для определения соединительнотканного каркаса легочной стромы и очагов пневмофиброза парафиновые срезы окрашивали по методу ван Гизона (выявление общего объема фиброза); по Гомори (на ретикулиновый каркас легочной стромы), по Вейгерту (на эластические волокна).

Во всех случаях проводилось иммуногистохимическое (ИГХ) исследование аутопсийного материала. Для иммунного окрашивания использовали пероксидазный метод с полимерной системой детекции (Histofine® Simple Stain MAX PO MULTI, Япония). Срезы инкубировали с моно- и поликлональными антителами к коллагену I типа (polyclone, Abbiotec, USA), коллагену IV типа (polyclone, Abbiotec, USA), коллагену V типа (polyclone, Abbiotec, USA), каспазе 3 (3SCP01, GeneTex, USA), антигену ядер пролиферирующих клеток Ki-67 (MIB-1, DakoCytomation, Denmark), рецепторам онкопротейна bcl-2 (100/D5, CellMarque, USA), во влажной камере 60 мин при температуре 37°C.

Для количественной оценки результатов ИГХ-реакции получали микрофотографии образцов ткани с помощью системы фиксации микроскопических изображений, состоящей из микроскопа «Carl Zeiss Axioskop 40», цифровой камеры «Jenoptik ProgRes CT3», персонального компьютера на базе Intel® Core™ i7, программного обеспечения «ProgRes CapturePro 2.5». Для фото-

графирования случайным образом отбирались участки легочной паренхимы с очагами пневмофиброза в 1 и 2 группе и параканкротные зоны в 3 группе наблюдений. Из фотосъемки исключали поля зрения, содержащие дефекты ткани, дефекты окрашивания и артефакты.

Фотосъемку проводили при увеличении 400 (окуляр 10, объектив 40) с полным закрытием апертурной диафрагмы, при поднятом конденсоре, время экспозиции 4,11 мс, размер изображения 1024x768 пикселей, графический формат изображения JPEG. Дальнейшее количественное исследование проводили с помощью программы компьютерного анализа изображений «Морфология 5.1» (ВидеоТест, Россия). Окрашенные изучаемые структуры (коллагеновые, ретикулярные и эластические волокна) автоматически классифицировались программой на 10 цветовых каналов в зависимости от цвета и интенсивности окрашивания. После классификации на интересные структуры накладывались псевдоцветные маски. При этом рассчитывали относительную плотность (%) изучаемых структур по отношению к общей площади исследуемого кадра аналогично описанному в [8].

Статистическую обработку полученных данных производили с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows 6.0» с расчетом медианы и верхнего и нижнего квартилей (Me (Q1;Q3)). Равенство выборочных медиан проверяли с помощью дисперсионного анализа по Краскелу-Уоллису для трех групп наблюдений. Тесноту связи между изучаемыми признаками оценивали с помощью непараметрического коэффициента корреляции Спирмена. Статистически значимыми принимали критерии при уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Фиброз различных органов развивается в межклеточном веществе. Состав межклеточного вещества представлен аморфным основным веществом (несульфатированные и сульфатированные мукополисахариды) и волокнами (коллагеновые, ретикулярные и эластичные). В целях определения выраженности повреждения легочной паренхимы использовались критерии стадирования легочного фиброза – шкала Ашкрофта [9] в модификации Hubner et al. [10]. Регистр ППФ, который включает в общей сложности 188 случаев, был подробно описан Азизовой Т.В и др. [11]. Критерием включения материала в исследование была принята стадия фиброза 3 и более по Ashcroft - умеренное утолщение альвеолярных или бронхиолярных стенок без очевидного повреждения архитектуры легкого.

В образцах ткани 1 группы очаги ППФ выявлялись в основном в периферических и срединных зонах легочной ткани. В прикорневых и парацентральных зонах, как правило, выраженность фиброза снижалась. ППФ был представлен обширными полями разрастания фиброзной ткани (рисунок 1А) (Примечание редактора: этот и последующие рисунки находятся на цветной вставке). Среди соединительнотканых очагов выявлялись сохраненные альвеолярные участки. В толще очагов фиброза выявлялась воспалительная инфильтрация, представленная по-

лимфоцитами, макрофагами, плазматическими клетками.

Фиброз в образцах группы ПФДГ выявлялся преимущественно по ходу сосудистого и бронхиального дерева. Участки сохранившейся альвеолярной ткани занимали, более значительную площадь по сравнению с группой ППФ; при этом выраженность трансформации легочной архитектоники была значительно меньше. В результате, пневмофиброз при ПФДГ имел сетчатое строение, в отличие от неравномерных крупных очагов ППФ (рисунок 1В). Воспалительная инфильтрация в очагах фиброза 2 группы наблюдений не отличалась по составу и выраженности от группы ППФ.

В тканевых фрагментах 3 группы (АКЛ) очаги склерозирования легочной ткани, распределялись неравномерно. Фиброз обнаруживался преимущественно в параканкротических зонах. При этом, в участках непосредственно опухолевой ткани фиброзные очаги практически не определялись. Очаги пневмофиброза были представлены разнокалиберными очагами склероза, местами формирующими «мозаичную» структуру (рисунок 1С). Среди полей фиброзной ткани местами определялись незначительные прослойки сохраненной легочной альвеолярной ткани. В участках параканкротических зон, непосредственно прилежащих к опухолевой ткани определялось высокое содержание новообразованных сосудов, местами формирующих поля неполноценной грануляционной ткани. Во всех случаях в препаратах образцов определялся полиморфноклеточный воспалительный инфильтрат разной степени выраженности. В составе инфильтрата преобладали лимфоциты и плазматические клетки. Полиморфноядерные нейтрофилы и макрофаги были представлены в значительно меньшей степени.

Считается [12], что параканкротическая зона, как территория непосредственного контакта стромально-сосудистых и клеточных компонентов тканей организма с опухолью, реагирует на развитие карциномы, что приводит к морфологической трансформации волокнисто-сосудистого компонента околоопухолевой ткани.

При анализе состава соединительной ткани в фиброзных очагах третьей группы выявлено наименьшее представительство коллагеновых, эластических и ретикулярных волокон (рисунки 1С, 2С, 3С). Аналогичная картина прослеживалась при анализе состава коллагеновых волокон – наименее представлен объем коллагеновых волокон I, IV и V типов был в параканкротических очагах фиброза. Однако при анализе состава коллагеновых волокон внутри групп отмечались значительные различия. В очагах ПФДГ коллаген IV типа был наиболее представлен. В то же время при ППФ повышалось относительное содержание коллагена V типа. Различия в содержании коллагена I типа были менее выражены, тем не менее, отмечалось меньшее относительное содержание коллагена I типа в очагах ПФДГ по сравнению с ППФ (рисунки 4-6).

Патогенез фиброза - это многоэтапный процесс, инициируемый повреждением органов, приводящий к интегрированному ответу, включающему привлечение

различных воспалительных клеток, активацию каскадов цитокинов, факторов роста и, в конечном счете, ремоделирование экстрацеллюлярного матрикса [1].

Коллаген I является основным фибриллярным компонентом многих тканей. Резорбция и образование коллагена I типа одинаково ускоряются у пациентов с карциномой легких, а индуцированный опухолевыми клетками лизис коллагена I типа связан с сопутствующим увеличением образования этого коллагена в легочной ткани [13]. Отмечается также роль коллагена IV типа в процессе инвазии легочных карцином [14].

Коллаген V типа является «второстепенным» компонентом внеклеточного матрикса нормального легкого, роль данного типа коллагена в развитии тканевого фиброза и канцерогенезе в различных исследованиях трактуется неоднозначно. Так, дерегуляцией коллагена V типа во время ремоделирования внеклеточного матрикса объясняют измененную архитектуру фибриллярных коллагенов в легочном интерстиции, выступающей в качестве критического промотора фиброза легких. Повышенное содержание коллагена V типа наблюдали при карциномах кожи, раке молочной железы и колоректальном раке [15].

В то же время имеются сообщения, о том, что коллаген V типа подвергается пониженному и аномальному синтезу при инфильтрирующей аденокарциноме легкого человека [16]. Исследование содержания коллагена III и V типа, в фиброзных рубцах полностью изменили первоначальную концепцию легочного «рака-в-рубце». Наличие коллагена III типа предполагает продолжающийся процесс фиброобразования, вторичный по отношению к реакции организма на новообразование. Высокая концентрация коллагена III типа в «раке-в-рубце» указывает на то, что волокнистая соединительная ткань находится в активном состоянии незрелой по сравнению с неопластической фиброзной тканью, которая является зрелой и содержит коллагены I и V типов [17]. В нашем исследовании отмечалось повышенное содержание коллагена V типа в очагах ППФ. В составе фиброзных прослоек ПФДГ преобладал коллаген IV типа. При анализе состава соединительной ткани параканкротической зоны АКЛ отмечено преимущественное представительство ретикулиновых волокон, основу которых составляет коллаген III типа.

Изучение маркера пролиферативной активности в клетках в очагах пневмофиброза различного генеза выявило превышение экспрессии белка Ki-67 в ядрах клеток в образцах 1 группы по сравнению со 2 группой на 60%. В то же время, уровень пролиферативной активности в очагах фиброза в параканкротической зоне АКЛ (3 группа) снижался по сравнению с 1 группой в 7,5 раз.

Активация или супрессия различных путей апоптоза играет одну из важнейших ролей в формировании очагов пневмофиброза, наряду с изменениями клеточной пролиферации. Были исследованы уровни экспрессии bcl-2 и каспазы 3 в тканевых образцах изучаемых групп. Активация каспазы является ключевым моментом в промежуточных и терминальных стадиях апоптоза [18]. Ме-

ханизм действия каспаз реализуется через инактивацию белков, которые защищают клетку от апоптоза, в частности белка bcl-2. Соответственно редукция содержания этого белка стимулирует развитие апоптоза. В группе ПФДГ отмечено наибольшее значение экспрессии онкопротеина bcl-2, в отличие от остальных групп наблюдений, в которых экспрессия данного маркера различалась незначительно. Состав соединительнотканного каркаса легочной стромы и очагов пневмофиброза, а также результаты экспрессии биомолекулярных маркеров клеточ-

ного обновления в легочной ткани образцов исследуемых групп представлены в таблице 1.

Результаты анализа корреляционных взаимосвязей изучаемых параметров с величиной доз и продолжительностью внутреннего альфа-облучения представлены в таблице 2. При ПФДГ обнаруживается положительная корреляционная связь умеренной степени между суммарной поглощенной дозой внутреннего альфа-излучения в легких и огрубением тонкого ретикулярного легочного каркаса ($r=0,34$; $p=0,016$). Статистически значимых вза-

Таблица 1. Состав компонентов экстрацеллюлярного матрикса и системы клеточного обновления легочной ткани в очагах пневмофиброза и параканкротической зоне (в объемных процентах от общего объема образца, об%)

Состав	Статистические показатели						
	Группа	N	Me	Q1	Q3	Kp-Y	p
Общий фиброз	1	56	12.234	8.446	17.106	8.8237	0.0121
	2	34	10.837	8.798	12.999		
	3	22	7.898	5.868	10.013		
Ретикулиновые волокна	1	56	7.960	5.142	10.957	5.5711	0.0617
	2	34	7.525	2.266	9.992		
	3	22	5.699	2.648	7.697		
Эластичные волокна	1	56	7.677	5.529	10.519	13.487	0.0012
	2	34	7.305	5.387	8.194		
	3	22	4.569	3.721	2.297		
Коллаген I типа	1	56	2.058	0.927	3.026	10.1129	0.006
	2	34	1.777	1.106	2.529		
	3	22	0.807	0.246	1.734		
Коллаген IV типа	1	56	7.309	4.691	9.789	19.5177	0.00006
	2	34	8.121	5.297	11.244		
	3	22	3.977	2.579	5.225		
Коллаген V типа	1	56	2.600	1.780	4.319	29.4473	<0.00001
	2	34	1.415	1.013	2.618		
	3	22	0.977	0.282	1.795		
сpp32	1	56	0.944	0.431	1.868	0.0354	0.9825
	2	34	1.014	0.541	1.509		
	3	22	1.033	0.537	1.893		
bcl-2	1	56	0.765	0.322	1.434	8.1812	0.0167
	2	34	1.246	0.468	2.136		
	3	22	0.459	0.113	1.103		
Ki-67	1	56	3.922	1.190	4.456	19.3562	0.00006
	2	34	2.441	0.937	3.256		
	3	22	0.513	0.166	1.281		

Примечание: N – количество наблюдений; Me – медиана; Q1 – нижний квартиль; Q3 – верхний квартиль; Kp-Y – значение критерия Краскела-Уоллиса

имосвязей между продолжительностью альфа-облучения и изучаемыми параметрами в 1 группе не обнаружено. В противоположность 1 группе, в 3 группе не выявлялись значимые взаимосвязи структурных параметров с суммарной дозой облучения, но обнаруживались связи с продолжительностью внутреннего альфа-облучения. Так, в 3 группе зафиксирована сильная отрицательная корреляционная взаимосвязь между продолжительностью облучения и экспрессией каспазы 3 ($r=-0,73$; $p=0,0003$) и умеренная положительная – с общей площадью фиброзной ткани ($r=0,66$; $p=0,004$). Во 2 группе значимых взаимосвязей исследованных параметров с дозой и продолжительностью облучения не фиксировалось.

При анализе корреляционных связей между параметрами экстрацеллюлярного матрикса отмечались умерен-

ная отрицательная связь между содержанием коллагена V типа и экспрессией белка bcl-2 ($r=-0,35$; $p=0,0086$) в 1 группе, а также содержанием коллагена V типа и эластических волокон ($r=-0,53$; $p=0,0196$) в 3 группе. Во всех группах была отмечена положительная связь умеренной силы между компонентами системы клеточного обновления каспазой 3 и bcl-2 (1 группа $r=0,49$; $p=0,00012$; 2 группа - $r=0,43$; $p=0,011$; 3 группа $r=0,48$; $p=0,0237$). Полученные результаты согласуются с литературными данными, в которых сообщается, что коллаген V типа способен определять увеличение процента апоптоз-позитивных клеток, при этом bcl-2 снижает уровень данного коллагена. [19].

Заключение

Таблица 2. Коэффициенты ранговой корреляции Спирмена, выражающие степень связи между исследуемыми параметрами

1 группа	РетикВол	ЭластВол	ОбщФибр	Collag 4	Collag 1	Collag 5	сpp32	bcl-2	Ki-67	sumPu	periodPu
РетикВол	1,00										
ЭластВол	-0,15	1,00									
ОбщФибр	0,31	0,12	1,00								
Collag 4	-0,04	0,06	0,05	1,00							
Collag 1	-0,15	-0,18	-0,10	0,03	1,00						
Collag 5	-0,11	0,11	0,14	0,21	0,08	1,00					
сpp32	0,01	0,16	0,08	-0,13	-0,19	-0,23	1,00				
bcl-2	0,03	-0,05	0,18	-0,16	-0,17	-0,35	0,49	1,00			
Ki-67	-0,02	0,10	0,08	0,17	-0,21	-0,07	0,10	0,09	1,00		
sumPu	0,34	0,00	0,05	-0,02	0,03	0,00	-0,26	-0,03	0,00	1,00	
periodPu	-0,25	-0,16	-0,17	0,00	0,00	-0,04	0,05	0,07	-0,01	0,04	1,00
2 группа											
РетикВол	1,00										
ЭластВол	-0,08	1,00									
ОбщФибр	0,27	0,03	1,00								
Collag 4	0,02	-0,04	-0,15	1,00							
Collag 1	0,23	0,14	0,33	-0,05	1,00						
Collag 5	0,27	-0,09	0,15	0,33	0,30	1,00					
сpp32	-0,02	-0,16	-0,03	-0,08	-0,25	-0,05	1,00				
bcl-2	0,22	-0,18	0,08	-0,35	-0,10	-0,22	0,43	1,00			
Ki-67	0,06	-0,09	0,13	-0,06	0,08	0,10	-0,20	-0,10	1,00		
sumPu	0,03	0,11	0,05	0,07	-0,08	-0,04	0,13	0,16	-0,09	1,00	
periodPu	0,12	0,09	0,24	-0,10	0,06	0,11	0,06	-0,16	0,12	-0,39	1,00
3 группа											
РетикВол	1,00										
ЭластВол	0,08	1,00									
ОбщФибр	-0,26	0,06	1,00								
Collag 4	-0,24	0,04	-0,06	1,00							
Collag 1	-0,17	-0,16	0,07	0,08	1,00						
Collag 5	0,20	-0,53	0,15	-0,26	0,29	1,00					
сpp32	-0,07	0,12	-0,67	0,32	-0,08	-0,23	1,00				
bcl-2	-0,13	0,35	-0,11	0,56	0,04	-0,12	0,48	1,00			
Ki-67	-0,02	-0,40	0,28	0,22	0,00	0,35	-0,16	0,28	1,00		
sumPu	0,31	-0,35	-0,34	0,29	0,06	0,03	0,16	-0,04	0,02	1,00	
periodPu	-0,23	-0,07	0,66	-0,10	0,29	0,02	-0,73	-0,38	0,12	-0,08	1,00

Примечание: sumPu - суммарная доза внутреннего альфа-облучения поглощенная в легких на год смерти; periodPu - продолжительность альфа-облучения (до года смерти). Полужирным шрифтом выделены значения с $p < 0,05$

В развитии плутониевого пневмофиброза прослеживается четкая связь между внутренним альфа-облучением от инкорпорированного плутония и особым типом пневмофиброза, отличающегося от пневмофиброза, возникающего в исходе хронической обструктивной болезни легких и застойной сердечной недостаточности.

Содержание компонентов системы клеточного обновления в очагах плутониевого пневмофиброза значительно

отличается от очагов поствоспалительного фиброза и фиброза в параканкротических зонах аденокарциномы легких.

Выявлена зависимость нарушений процессов клеточного обновления и пролиферации от внутреннего альфа-облучения в очагах легочного пневмофиброза, что, вероятно, играет роль в развитии и прогрессировании плутониевого пневмофиброза. При АКЛ установлена взаимосвязь между продолжительностью альфа-облуче-

ния и экспрессией маркера апоптотической активности каспазы 3 и онкобелка bcl-2 как в опухолевой ткани, так и в легочной ткани, окружающей опухоль.

Обнаружены существенные различия в структуре экстрацеллюлярного матрикса и состоянии компонентов системы клеточного обновления при плутониевом пневмофиброзе, поствоспалительном пневмофиброзе и в параканкрозной зоне аденокарциномы легкого. Полученные данные могут свидетельствовать о различных механизмах развития легочного фиброза в зависимости от характера повреждающего фактора. ■

Сычугов Г.В. – к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, г. Челябинск, главный врач ГБУЗ ЧОПАБ, г. Челябинск; **Казачков Е.Л.** – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии и судебной медицины ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, г. Челябинск; **Азизова Т.В.** – к.м.н., зав. клиническим отделом ЮУрИБФ, г. Озерск; **Ревина В.С.** – научный сотрудник ЮУрИБФ, г. Озерск. Автор, ответственный за переписку: Казачков Е.Л., 454 052, Челябинск, а/я 6132, тел. 8(351)232-01-45, e-mail: doktorkel@narod.ru

Литература:

1. Fajardo L.F. The pathology of ionizing radiation as defined by morphologic patterns. *Acta Oncologica*. 2005; 44:1, 13-22, doi: 10.1080/02841860510007440.
2. Плутоний. Радиационная безопасность. Под ред. Л.А. Ильина, М: Изд.АТ; 2005.
3. Сычугов Г.В., Казачков Е.Л., Азизова Т.В., Теплякова О.В., Ревина В.С. Иммуноморфологические особенности пневмофиброза у работников плутониевого производства // Уральский медицинский журнал. 2014; 8(122): 71-76.
4. Сычугов Г.В., Казачков Е.Л., Азизова Т.В., Теплякова О.В., Ревина В.С. Иммуноморфологическая характеристика аденокарциномы легкого у работников плутониевого производства // Уральский медицинский журнал. 2016; 3(136): 33-39.
5. Сычугов Г.В., Казачков Е.Л., Азизова Т.В. Иммуноморфологическая характеристика маркеров системы апоптоза в ткани аденокарциномы легкого у работников плутониевого производства // Уральский медицинский журнал. 2018; 2(157): 27-30.
6. Gilbert ES, Schonfeld SJ, Sokolnikov ME, Schadilov AE, Vasilenko EK, Koshurnikova NA, Preston DL. Lung cancer risks from plutonium: an updated analysis of data from the Mayak worker cohort. *Radiat Res*. 2013; 179(3):332–342.
7. Azizova T.V., Day R.D., Wald N., Muirhead C.R. et al. The “Clinic” medical-dosimetric database of Mayak Production Association workers: structure, characteristics and prospects of utilization. *Health Phys*. 2008; 94(5): 449–458.
8. Gilhodes J.C., Jule Y., Kreuz S., Stierstorfer B., Stiller B., Wollin L. Quantification of pulmonary fibrosis in a Bleomycin mouse model using automated histological image analysis. *PLoS One*. 2017; 12(1): e0170561. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170561>.
9. Ashcroft T., Simpson J.M., Timbrell V. Simple method of estimating severity of pulmonary fibrosis on a numerical scale. *J Clin Pathol*. 1988;41:467-470.
10. Hubner R.H., Gitter W., El Mokhtari N.E., Mathiak M., Both M., Bolte H., Freitag-Wolf S., Bewig B. Standardized quantification of pulmonary fibrosis in histological samples. *BioTechniques*. April 2008; 44:507-517.
11. Azizova T.V., Moseeva M.B., Grigoryeva E.S., Zhuntova G.V., Bannikova M.V., Sychugov G.V., Kazachkov E.L. Registry of plutonium-induced lung fibrosis in a Russian nuclear worker cohort. *Health Phys*. 2019; 118:185–192.
12. Шаманова А.Ю., Казачков Е.Л., Семенова А.Ю., Долгушин И.И. Особенности клеточного и стромально-сосудистого компонентов параканкрозной зоны карцином гортани различной степени дифференцировки // Уральский медицинский журнал. 2016; 3(136): 40-44.
13. Kobayashi T, Gabazza EC, Taguchi O, Risteli J, Risteli L, Kobayashi H, Yasui H, Yuda H, Sakai T, Kaneda M, et al. Type I collagen metabolites as tumor markers in patients with lung carcinoma. *Cancer*. 1999; 85(9):1951–1957.
14. Polette M, Thiblet J, Ploton D, Buisson AS, Monboisse JC, Tournier JM, Birembaut P. Distribution of a1(IV) and a3(IV) chains of type IV collagen in lung tumours. *J Pathol*. 1997; 182(2):185–191.
15. Mak KM, Png CY, Lee DJ. Type V collagen in health, disease, and fibrosis. *Anat Rec (Hoboken)*. 2016; 299(5):613–629.
16. Parra, E.R., Alveno, R.A., Faustino, C.B. et al. *Arch. Immunol. Ther. Exp*. 2016; 64: 321. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00005-016-0390-1>
17. Bobba RK, Holly JS, Loy T, Perry MC. Scar Carcinoma of the Lung: A Historical Perspective. *Clinical Lung Cancer*. May 2011; 12(3): 148–154
18. Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH. Mammalian caspases: structure, activation, substrates and function during apoptosis. *Annu Rev Biochem*. 1999; 68: 383-424.
19. Luparello, C. and Sirchia, R. Type V collagen regulates the expression of apoptotic and stress response genes by breast cancer cells. *J. Cell. Physiol.*, 2005; 202: 411-421. doi:10.1002/jcp.20131.
20. Гринберг Л.М., Бердников Р.Б., Сорокина Н.Д., Костерина Н.Е. Новая классификация опухолей легких ВОЗ, 2015: комментарии и рекомендации к внедрению. *Уральский медицинский журнал*. 2016. № 3 (136). С. 11-16.
21. Бяхова М.М., Завалишина Л.Э., Веселкова А.Ю., Андреева Ю.Ю., Кузнецова О.А., Франк Г.А. Мутационный статус гена *egfr* при мелкоклеточном раке легкого в зависимости от дифференцировки опухоли. *Уральский медицинский журнал*. 2019. № 10 (178). С. 34-38.