

Оригинальные работы

А.И. ЯЦЫНА¹, Э.А. СТАХОВСКИЙ¹, Я.А. ШЕРЕМЕТ²,
С.И. СПИВАК², А.Э. СТАХОВСКИЙ¹, О.Н. ГАВРИЛЮК¹,
Ю.В. ВИТРУК¹, А.И. ЕМЕЦ², Я.Б. БЛЮМ²

¹Национальный институт рака, Киев

²Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, Киев
E-mail: yatsyna@gmail.com

ОСОБЕННОСТИ АПОПТОЗНОГО ОТВЕТА КЛЕТОК РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ НА НЕОАДЬЮВАНТНУЮ ХИМИОТЕРАПИЮ



Проведено исследование индуцированного апоптоза в опухолевых клетках пациентов, больных раком мочевого пузыря, с помощью TUNEL-реакции. Продемонстрировано, что увеличение значений индуцированного апоптоза хорошо коррелирует с показателями соответствующей реакции опухоли в ответ на применение лечения путем неоадьювантной химиотерапии по схеме гемцитабин/цисплатин. Сделан вывод о том, что оценка уровня индуцированного апоптоза в клетках рака мочевого пузыря с помощью метода TUNEL позволяет прогнозировать эффективность химиотерапии на клеточном уровне у больных этим видом рака.

© А.И. ЯЦЫНА, Э.А. СТАХОВСКИЙ, Я.А. ШЕРЕМЕТ,
С.И. СПИВАК, А.Э. СТАХОВСКИЙ, О.Н. ГАВРИЛЮК,
Ю.В. ВИТРУК, А.И. ЕМЕЦ, Я.Б. БЛЮМ, 2011

Введение. По данным ВОЗ рак мочевого пузыря составляет 3 % от общего количества всех выявляемых злокачественных заболеваний и 70 % от количества всех новообразований мочеполовой системы. Из всех органов мочеполовой системы у мужчин мочевой пузырь является наиболее часто поражаемым органом [3]. По данным Национального канцер-реестра в 2008 г. в Украине выявлено 44 991 первичных больных раком мочевого пузыря (заболеваемость 10,8 на 100 тыс. населения). Вместе с тем доля больных, у которых впервые обнаружены неинвазивные формы опухоли, достаточно низка и не превышает 50 %. Таким образом, у большинства пациентов диагностируются запущенные стадии заболевания, чем объясняется высокий уровень смертности в течение первого года – 26,2 % [6].

В настоящее время выбор методов лечения и прогнозирование дальнейшего течения рака мочевого пузыря базируются на его принадлежности к определенной классификационной категории по системе TNM и G. Эти признаки являются наиболее важными, так как позволяют определить распространение злокачественного процесса, а на основании светооптических характеристик косвенно судить о его вероятной агрессивности. В то же время установлено, что отдаленные результаты лечения больных, принадлежащих к одним и тем же классификационным подгруппам и получавших одинаковое лечение, существенно различаются. Для полноценного прогнозирования при раке мочевого пузыря требуется дополнительная информация: клиническая – характеризующая состояние больного и особенности протекания у него злокачественного процесса, и морфологическая – основанная на разностороннем анализе морфологических, гистохимических, иммуногистохимических и других свойств опухоли [2].

Однако следует отметить, что до сих пор отсутствуют надежные критерии прогнозирования рака мочевого пузыря до начала лечения и непосредственно после его проведения. Известно, что рост опухоли является результатом дисбаланса между пролиферацией клеток и их апоптозом [9]. Поэтому на современном этапе актуальной с точки зрения клинических наблюдений является возможность использования маркерных признаков определения апоптоза в процессах диагностики, оценки эффективности лечения рака мочевого пузыря и прогнозирования

ния этого заболевания [1, 10, 15, 16]. Одним из наиболее специфических методов детекции апоптозных клеток является метод *in situ* меченая фрагментированной ДНК (TUNEL-метод), который позволяет отличить клетки, переключившиеся на апоптозный путь развития, от клеток, подвергшихся некрозу [4].

В связи с этим целью настоящего исследования явилась попытка оценить эффективность лечения рака мочевого пузыря путем определения с помощью TUNEL-метода уровня апоптоза опухолевых клеток, индуцированного химиопрепаратами, а также выявить возможную корреляцию между показателями спонтанного и индуцированного апоптоза у больных раком мочевого пузыря на основе изучения морфологических изменений в клетках рака мочевого пузыря до и после проведения неoadьювантной полихимиотерапии пациентов в комбинации гемцитабин/цисплатин.

Материалы и методы. Для исследований использовали материал 25 пациентов, больных раком мочевого пузыря (стадии T2–T4), у которых определяли наличие опухолевых клеток тканей мочевого пузыря, полученных путем проведения трансуретральной биопсии до лечения и после проведения трех курсов полихимиотерапии (гемцитабин – 1000 мг на 1 м² массы тела и цисплатин – 70 мг на 1 м²). В зависимости от степени гистопатологической дифференцировки (G) переходно-клеточной карциномы материал этих пациентов был распределен на три группы: G1 – высокодифференцированный переходно-клеточный рак –

6 случаев, G2 – умеренно дифференцированный – 13 человек, G3 – низкодифференцированный – 6 (таблица). Для детекции внутриклеточных изменений ядерную ДНК клеток окрашивали с помощью DAPI (4,6-диамино-2-фенилиндол) («Sigma», США) в концентрации 10 мг/л.

Определение нуклеосомной фрагментации ДНК *in situ* осуществляли с помощью метода TUNEL (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Nick End Labeling), используя набор In Situ Cell Death Detection Kit («Pierce», Германия). На первом этапе проводили депарафинизацию подготовленных срезов с помощью ксилола на протяжении 5 мин. Далее к образцам добавляли чистый раствор ксилола и инкубировали их в течение 7 мин на шейкере при комнатной температуре. Дегидратацию образцов осуществляли путем их инкубирования в серии этиловых спиртов, после чего образцы трижды промывали в фосфатно-солевом буфере (0,14 М NaCl, 2,7 мМ KCl, 6,5 мМ Na₂HPO₄ · 2H₂O, 1,5 мМ KH₂PO₄ pH 7,2). Пермеабиллизацию плазматической мембраны проводили в 1%-ном растворе Triton X-100 и 0,1%-ном цитрате натрия в течение 5 мин на ледяной бане. После этого к образцам добавляли реакционную смесь, содержащую флюоресцентно меченый дезоксирибонуклеотид и терминальную дезоксирибонуклеотидилтрансферазу, затем инкубировали в течение 1 ч в темноте при 37 °С.

Подготовленные образцы исследовали с помощью конфокального лазерного сканирующе-

Эффективность действия препарата по схеме гемцитабин/цисплатин на индукцию апоптоза в клетках больных раком мочевого пузыря

Гистопатологическая градация	Стадия заболевания	Количество пациентов	Апоптозный индекс, %		RECIST, %
			до лечения	после проведения трех курсов полихимиотерапии	
G1	pT2N0M0	2	4,6 ± 0,8	60 ± 0,80	74,9 ± 1,4
	pT3N0M0	4	5,2 ± 0,2	80 ± 0,8	71,9 ± 0,9
G2	pTa3N0M0	6	6,8 ± 0,8	70 ± 0,8	68,5 ± 1,2
	pT2aN0M0	5	7,2 ± 0,6	45 ± 0,4	72,3 ± 0,8
	pT2bN0M0	2	3 ± 0,6	55 ± 0,6	69,8 ± 1,2
G3	pT2bNxMx	4	8 ± 0,4	30 ± 0,8	49,8 ± 1,1
	pT4N2M1	2	4 ± 0,4	10 ± 0,6	47,5 ± 0,9

го микроскопа LSM 510 META («Carl Zeiss», Германия) со следующей мультисканальной конфигурацией:

1) канал для детекции DAPI – диодный лазер 405 нм (интенсивность работы лазера 10–15 %), разделяющий фильтр HFT 405/488, зеркало, фильтр эмиссии BP 420–480 нм;

2) канал для визуализации тетраэтилодамина: гелий-неоновый лазер 543 нм (интенсивность работы лазера 65 %), разделяющий фильтр HFT 488/543, зеркало, фильтр эмиссии LP 560.

Использовали объектив Plan-Apochromat 63*/1,4 Oil DIC. На основании серийных оптических срезов, сделанных с интервалом 0,3–0,5 мкм, строили трехмерные модели с помощью программного обеспечения Version 4.0 SP2 («Carl Zeiss», Германия). Показатель индекса апоптоза определяли как процентное соотношение клеток, имеющих положительную TUNEL-реакцию, к общему количеству исследованных клеток (500 клеток на один опыт).

Результаты исследований и их обсуждение. Окрашивание образцов с помощью DAPI дало возможность установить морфологические особенности ядер клеток тканей пациентов, больных раком мочевого пузыря. Так, до проведения химиотерапии часть популяции опухолевых клеток была гетерогенна по размеру и содержала морфологически аномальные ядра, многие из которых были гантелеобразными, сильно вытянутыми либо характеризовались аномально большими размерами. Встречались также многоядерные клетки, содержащие от двух до четырех ядер одинакового размера либо одно большое ядро наряду с одним или несколькими маленькими ядрами (рис. 1, см. вклейку). Перечисленные морфологические ядерные аномалии свидетельствуют об определенных митотических нарушениях, происходящих в клетках рака мочевого пузыря, что является характерным для бесконтрольно делящихся опухолевых клеток.

Результаты осуществленного впоследствии анализа исследуемых образцов после проведения трех курсов полихимиотерапии больных раком мочевого пузыря продемонстрировали, что большинству клеток присущи апоптотические изменения. В частности было обнаружено, что цитоплазма исследуемых клеток, в отличие

от контроля, была сильно плотной и гранулированной, наблюдалось также ее отставание от клеточной мембраны, что является одной из отличительных черт апоптоза.

Для более точного подтверждения наличия индуцированной клеточной гибели исследуемые образцы были проанализированы с помощью TUNEL-метода, который на сегодняшний день является одним из наиболее точных методов детекции *in situ* апоптоза, основанный на использовании меченая фрагментированной ДНК. Специфичность метода заключается в том, что TUNEL-реакция позволяет определить и идентифицировать апоптотические клетки и отличить их от тех, которые погибли путем некроза. В качестве позитивного контроля использовали образцы, дополнительно обработанные ДНКазой (рис. 2, а–в, см. вклейку), тогда как для негативного контроля использовали образцы, обработанные только флюоресцентно меченым дезоксирибонуклеотидом без добавления фермента (рис. 2, г–е). Поскольку было подтверждено, что отработанный TUNEL-метод позволяет получить воспроизводимые результаты в соответствии с протоколом производителя, на последующих этапах был проведен анализ образцов биопсии раковых клеток мочевого пузыря разной степени дифференцировки как до лечения пациентов, так и после проведения трех курсов полихимиотерапии.

В проанализированных образцах клеток рака мочевого пузыря пациентов первой группы с высокой степенью гистопатологической дифференцировки (G1) стадии II клинической группы 2 (pT2N0M0) было обнаружено, что до проведения лечения в контрольных образцах TUNEL-реакция была на очень низком уровне (рис. 3, а, см. вклейку). Однако после прохождения пациентом трех курсов полихимиотерапии в срезах раковой опухоли мочевого пузыря было обнаружено порядка 60 % клеток, имеющих позитивную TUNEL-реакцию (рис. 3, г–е). Полученные данные совпадают с общей клинической картиной обследований, проведенных с помощью компьютерной томографии. В этом случае согласно данным критерия оценки опухолевого ответа RECIST (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors) получен частичный ответ $74,9 \pm 1,4$ %.

У пациентов второй группы с раком мочевого пузыря G2 стадии III клинической группы 2 (pT3aN0M0) после двух курсов химиотерапии по схеме гемцитабин/цисплатин в образцах рака мочевого пузыря было обнаружено незначительное количество клеток с позитивными результатами TUNEL-реакции — $6,8 \pm 0,8$ % (рис. 4, а, см. вклейку). Однако после проведения третьего курса химиотерапии в образцах биопсии опухоли рака мочевого пузыря было обнаружено порядка $70 \pm 0,8$ % клеток, дающих позитивную TUNEL-реакцию (рис. 4, з), что свидетельствует об увеличении уровня индуцированного апоптоза в опухоли больного. По данным критерия оценки опухолевого ответа RECIST получен частичный ответ $68,5 \pm 1,2$ %.

У двух пациентов с умеренно дифференцированным переходно-клеточным раком мочевого пузыря (T2bN0M0) в образцах опухоли, полученных до проведения лечения, было обнаружено значительное количество многоядерных клеток, однако величина индекса апоптоза была на очень низком уровне и составляла около $3,0 \pm 0,6$ % (рис. 5, а–в, см. вклейку). После проведения соответствующего лечения, а именно трех курсов химиотерапии по схеме гемцитабин/цисплатин, в образцах опухоли рака мочевого пузыря с помощью TUNEL-реакции было обнаружено увеличение общего количества клеток, которые погибали путем апоптоза — в пределах $55 \pm 0,6$ % (рис. 5, з–е), что свидетельствует об улучшении общей клинической картины. Для сравнения, по данным критерия оценки опухолевого ответа RECIST был получен частичный ответ $69,8 \pm 1,2$ %.

Результаты анализа образцов рака мочевого пузыря пациентов третьей группы с низкой гистопатологической дифференцировкой (G3) II стадии клинической группы 2 (T2bNxMx) свидетельствуют о том, что уровень спонтанного апоптоза до начала лечения характеризовался достаточно высоким уровнем — около $8,0 \pm 0,4$ % (рис. 6, а–в, см. вклейку). В то же самое время после проведения лечения количество клеток с позитивной TUNEL-реакцией увеличилось в три раза, и значение индекса апоптоза соответственно составляло около $30 \pm 0,8$ % (рис. 6, з–е), что свидетельствует об усилении процессов апоптоза в клетках

данного типа опухоли. Тем не менее следует отметить, что в целом показатель индуцированного апоптоза остается на относительно низком уровне. По данным критерия оценки опухолевого ответа RECIST получен частичный ответ $49,8 \pm 1,1$ %.

В результате проведенных нами исследований было показано, что увеличение показателя индуцированного апоптоза имеет четкую корреляцию между проведенными терапевтическими мероприятиями и соответствующей реакцией опухоли на лечение, т.е. индукция апоптоза в клетках опухолевых тканей пациентов больных раком мочевого пузыря является фактором чувствительности данного типа опухоли к проведенному терапевтическому воздействию. Чем чувствительнее оказывается опухоль пациентов к полихимиотерапии по схеме гемцитабин/цисплатин, тем в большей степени повышается показатель апоптоза. Необходимо также принимать во внимание, что такая корреляция соответствует особенностям гистологической структуры новообразования и распространенности процесса.

Следует также учитывать тот факт, что по степени выраженности апоптоза можно только косвенно судить о степени автономности рака мочевого пузыря, поскольку после терапевтического воздействия на опухоль гибель раковых клеток происходит не только за счет апоптоза, но и некроза. Известно, что некроз является характерной чертой низкодифференцированных опухолей, которые имеют плохой прогноз течения заболевания [7, 9]. В то же время гемцитабин/цисплатин индуцируют интернуклеосомальную ДНК-фрагментацию, являющуюся одним из факторов, программирующих гибель клеток [4, 8, 11–14].

В зависимости от ответа на комплексную терапию группа больных раком мочевого пузыря была разделена на две подгруппы: пациенты с хорошим ответом на проводимую терапию (полная или частичная ремиссия) и пациенты, не отвечающие на лечение. Подгруппа пациентов с хорошим терапевтическим эффектом характеризовалась наличием более высокого уровня индуцированной гибели опухолевых клеток. Среднее значение индуцированного апоптоза для нее составило 70 %, для подгруппы с плохим терапевтическим эффектом — 32,5 %.

Разница в уровнях спонтанного и индуцированного полихимиотерапией апоптоза в группах больных раком мочевого пузыря, отличающихся по чувствительности к проводимой терапии, вероятнее всего объясняется индивидуальными особенностями системы распознавания повреждений и/или в системе генов, ответственных за процессы апоптоза [5]. Можно предположить, что пациенты с хорошим терапевтическим эффектом имеют дефекты в системе репарации ДНК, но у них не изменены апоптозные гены и система детекции повреждений. Следовательно, при лечении с помощью трех курсов полихимиотерапии по схеме гемцитабин/цисплатин в раковых клетках мочевого пузыря будут накапливаться повреждения, фиксируемые системой детекции, но так как система репарации дефектна, клетки будут элиминироваться путем апоптоза. Низкий уровень апоптоза в группе больных раком мочевого пузыря с плохим терапевтическим эффектом, возможно, объясняется изменениями в генах, контролирующих процесс апоптоза, или в системе детекции повреждений. Поэтому в подгруппе пациентов с плохим терапевтическим эффектом при повреждениях раковых клеток после трех курсов полихимиотерапии уровень апоптоза остается более низким, чем в группе с хорошим терапевтическим эффектом. Также вероятно, что повреждения частично не улавливаются системой распознавания повреждений в системе генов, ответственных за процессы апоптоза, либо клетки с неисправленными повреждениями не подвергаются апоптозу из-за дефектов в генах, контролирующих этот процесс.

В целом на основании полученных результатов можно сделать вывод, что метод TUNEL позволяет идентифицировать индуцированный апоптоз в клетках рака мочевого пузыря и прогнозировать эффективность химиотерапии на клеточном уровне у больных. Показано, что подгруппа пациентов с хорошим терапевтическим эффектом характеризовалась более высоким показателем индуцированной гибели опухолевых клеток и более высокими уровнями гистопатологической дифференцировки (G₁, G₂). Среднее значение индуцированного апоптоза для исследованного материала из этой группы составило 62 %, а для подгруп-

пы с плохим терапевтическим эффектом на стадии T₄ независимо от степени гистопатологической дифференцировки — 32,5 %. Уровень индуцированного химиотерапией апоптоза раковых клеток мочевого пузыря характеризовался более высоким показателем у пациентов с G₁ после проведения трех курсов химиотерапии, что коррелировало с клиническими данными, критериями оценки опухолевого ответа RECIST (значение частичного ответа — $74,0 \pm 1,1$ %). Следовательно, определение уровня индуцированного апоптоза в опухолевых клетках больных раком мочевого пузыря с помощью TUNEL-реакции может служить дополнительным методом подтверждения эффективности выбранного курса лечения, что позволит достичь максимального лечебного эффекта.

Установлено также, что раннее выявление пациентов с раком мочевого пузыря на стадиях T₁–T₂ и своевременное назначение схемы лечения комбинацией гемцитабин/цисплатин повышает эффективность неoadъювантной химиотерапии. Позитивные результаты неoadъювантной химиотерапии при использовании схемы гемцитабин/цисплатин у больных подтверждают ее перспективность и необходимость дальнейшего изучения. Поскольку с появлением новых противоопухолевых препаратов расширяются возможности лечения больных раком мочевого пузыря, все более сложной становится проблема выбора оптимального терапевтического режима. Поэтому разработка новых терапевтических схем, уточнение показаний к использованию уже апробированных режимов с учетом прогностических факторов при выборе оптимального для каждого больного метода лечения позволяют ожидать дальнейшего улучшения эффективности использования комбинации гемцитабин/цисплатин.

*O.I. Iatsyna, E.A. Stakhovsky, Ya.A. Sheremet,
S.I. Spivak, A.E. Stakhovsky, O.M. Gavryluk,
Yu.V. Vytruk, A.I. Yemets, Ya.B. Blume*

PECULIARITIES OF URINARY BLADDER
CANCER TUMOR CELLS APOPTOSIS RESPONSE
ON NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY

Induced apoptosis in urinary bladder cancer (UBC) tumor cells of patients was studied using TUNEL reaction.

It was shown that increase in induced apoptosis value had a definite correlation between corresponding features of tumor reaction as a response on Gemcitabine-Cisplatin neoadjuvant chemotherapy application. It was found that evaluation of induced apoptosis in urinary bladder cancer (UBC) tumor cells using TUNEL method allows forecasting the effectiveness of chemotherapy on the cellular level in patients with this type of cancer.

О.І. Яцина, Е.О. Стаховський, Я.О. Шеремет,
С.І. Снівак, О.Е. Стаховський, О.М. Гаврилюк,
Ю.В. Вітрук, А.І. Ємець, Я.Б. Блюм

ОСОБЛИВОСТІ АПОПТОЗНОЇ ВІДПОВІДІ КЛІТИН РАКУ СЕЧОВОГО ПУХИРЯ НА НЕОАД'ЮВАНТНУ ХІМІОТЕРАПІЮ

Проведено дослідження індукованого апоптозу в пухлинних клітинах пацієнтів, хворих на рак сечового міхура, за допомогою TUNEL-реакції. Продемонстровано, що збільшення значення індукованого апоптозу добре корелює з показниками відповідної реакції пухлини у відповідь на лікування шляхом неoad'ювантної хіміотерапії за схемою гемцитабін/цисплатин. Зроблено висновок про те, що оцінка рівня індукованого апоптозу в клітинах раку сечового міхура за допомогою методу TUNEL дозволяє прогнозувати ефективність хіміотерапії на клітинному рівні у хворих цим видом раку.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Абраменко И.В., Фильченков А.А. Прогностическое значение апоптического и пролиферативного индексов при солидных новообразованиях // Онкология. — 2002. — 4, № 3. — С. 165–170.
2. Завьялова Е.С. Клинико-морфологические критерии прогнозирования клинического течения переходноклеточного рака мочевого пузыря : Автореф. дис... канд. мед. наук. — Санкт-Петербург, 2010. — 18 с.
3. Злокачественные новообразования в России и странах СНГ в 2002 году / Под ред. М.И. Давыдова, Е.М. Аксель. — М.: Мед. информ. агентство, 2004. — 279 с.
4. Каприн А.Д. Современные концепции лечения рака мочевого пузыря // Лечащий врач. — 1999. — № 4. — С. 54–58.
5. Фильченков А.А., Стойка Р.С. Апоптоз и рак. — К.: Морион, 1999. — 184 с.
6. Рак в Україні, 2007–2008: захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби /

Під ред. І.Б. Щепотіна // Бюл. нац. канцер-реєстру України. — 2009 (10). — 104 с.

7. Bachmann I.M., Ladstein R.G., Straume O., Naumov G.N., Akslen L.A. Tumor necrosis is associated with increased $\alpha_5\beta_1$ integrin expression and poor prognosis in nodular cutaneous melanomas // BMC Cancer. — 2008. — 5, № 8. — P. 362 (doi:10.1186/1471-2407-8-362).
8. Calabró F., Lorusso V., Rosati G., Manzione L., Frassinetti L., Sava T., Di Paula E.D., Alonso S., Sternberg C.N. Gemcitabine and paclitaxel every 2 weeks in patients with previously untreated urothelial carcinoma // Cancer. — 2009. — 115, № 12. — P. 2652–2659.
9. Cordon-Cardo C. Mutation of cell gene regulators. Biological and clinical implications for human neoplasia // Amer. J. Pathol. — 2005. — 47. — P. 545–560.
10. Dubska L., Matalova E., Misek I. Detection of apoptosis in paraffin embedded tissues: the influence of tissue type and fixation // Acta Vet. Brno. — 2002. — № 71. — P. 529–533.
11. Dumez H., Martens M., Selleslach J., Guetens G., De Boeck G., Aerts R., De Bruijn E.A., Maes R.A., van Oosterom A.T. Docetaxel and gemcitabine combination therapy in advanced transitional cell carcinoma of the urothelium: results of a phase II and pharmacologic study // Anticancer Drugs. — 2007. — 18, № 2. — P. 211–218.
12. Von der Maase H. Gemcitabine in transitional cell carcinoma of the urothelium // Exp. Rev. Anticancer Ther. — 2003. — 3, № 1. — P. 11–19.
13. Kamat A.M., Karashima T., Davis D.W., Lashinger L., Bar-Eli M., Millikan R., Shen Y., Dinney C.P., McConkey D.J. The proteasome inhibitor bortezomib synergizes with gemcitabine to block the growth of human 253JB-V bladder tumors in vivo // Mol. Cancer Ther. — 2004. — № 3. — P. 279–290.
14. Khaled H.M., Zaghoul M.S., Ghoneim M. et al. Gemcitabine and cisplatin as neoadjuvant chemotherapy for invasive bladder cancer: effect on bladder preservation and survival // Proc. Amer. Soc. Clin. Oncol. — 2003. — № 22. — P. 411.
15. Lawry J. Detection of apoptosis by the TUNEL assay // Cancer Cell Culture. — 2004. — 88. — P. 183–190.
16. Mizutani Y., Nakao M., Ogawa O., Yoshida O., Bonavida B., Miki T. Enhanced sensitivity of bladder cancer cells to tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand mediated apoptosis by cisplatin and carboplatin // J. Urol. — 2001. — 165, № 1. — P. 263–270.

Поступила 15.02.11