

ПОКАЗАТЕЛЬ КОПИЙНОСТЬ ГЕНОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ МЕТАБОЛИЗМ И РЕЦЕПЦИЮ ЭСТРОГЕНОВ, ВО ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ МАРКЕР ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ СЕРОЗНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЯИЧНИКА ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ

Цандекова М.Р.

ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Министерства здравоохранения Краснодарского края, Краснодар, e-mail: m.tsandekova@yandex.ru

Серозная аденокарцинома является наиболее распространенным подтипом эпителиального рака яичников с самым высоким уровнем смертности среди гинекологических опухолей в мире. Серозная аденокарцинома яичника гетерогенна на гистологическом и молекулярном уровне, подразделяется на серозную аденокарциному низкой и высокой степени злокачественности, последняя характеризуется агрессивным клиническим течением. В настоящее время не существует одобренного высокоэффективного диагностического теста для серозной аденокарциномы высокой степени злокачественности, что препятствует обнаружению этой патологии на ранних стадиях. Для разработки эффективных и малоинвазивных методов ранней диагностики необходим скрининг молекулярных маркеров во внеклеточной ДНК плазмы крови. К таким маркерам можно отнести показатель копийности генов (Copy Number Variation (CNV)). Целью данного исследования стало определение во внеклеточной ДНК показателя копийности генов, регулирующих метаболизм и рецепцию эстрогенов, у больных серозной аденокарциномой яичников высокой степени злокачественности и у условно здоровых доноров. Определение относительной копийности 10 генетических локусов (*ESR1*, *ESR2*, *GPER*, *CYP11A1*, *CYP11A2*, *CYP11B1*, *CYP19A*, *STS*, *SULT1A*, *SULT1E1*) проводили методом количественной ПЦР в режиме реального времени. Обнаружено статистически значимое увеличение копийности генов *SULT1E1*, *CYP11B1* и *ESR1* в 2,8 раза, 3,0 раза и 5,0 раз соответственно во внеклеточной ДНК плазмы крови обследованных больных серозной аденокарциномой яичников высокой степени злокачественности относительно внеклеточной ДНК плазмы крови доноров без онкопатологии. Данные генетические локусы можно рассматривать как наиболее характерные малоинвазивные маркеры этого заболевания.

Ключевые слова: серозная аденокарцинома яичников, ПЦР, копийность генов, внеклеточная ДНК, малоинвазивная диагностика.

THE EXTRACELLULAR DNA COPY NUMBER VARIATION INDEX OF GENES, REGULATES METABOLISM AND RECEPTION OF ESTROGENS AS POTENTIAL MARKER FOR HIGH-GRADE SEROUS OVARIAN ADENOCARCINOMA

Tsandekova M.R.

Clinical oncology dispensary №1, Krasnodar, e-mail: m.tsandekova@yandex.ru

Serous adenocarcinoma is the most common ovarian cancer subtype with the highest mortality rate among gynecological tumors in the world. Serous ovarian adenocarcinoma is heterogeneous at the histological and molecular level, it is subdivided into serous adenocarcinoma of low and high grade, the latter has a more aggressive clinical course. There is currently no validated screening test for high-grade serous adenocarcinoma, which prevents early detection of the disease. For the development of effective and minimally invasive methods of early diagnosis, screening of molecular markers in the extracellular DNA (cfDNA) of blood plasma is required. These markers include the Copy Number Variation (CNV). The aim of this study was to determine in cfDNA the CNV of genes that regulate the metabolism and reception of estrogens in patients with high-grade serous ovarian adenocarcinoma and in conventionally healthy donors. Determination of 10 genetic loci CNV (*ESR1*, *ESR2*, *GPER*, *CYP11A1*, *CYP11A2*, *CYP11B1*, *CYP19A*, *STS*, *SULT1A*, *SULT1E1*) was performed by quantitative real-time PCR. A statistically significant increase in the number of copies of genes *SULT1E1*, *CYP11B1* and *ESR1* was found by 2.8 times, 3.0 times and 5.0 times, respectively, in the extracellular DNA of blood plasma of examined patients with high-grade serous ovarian adenocarcinoma relative to the extracellular DNA of blood plasma of conventionally healthy donors. These genetic loci can be considered as the low invasive markers of this disease.

Keywords: ovarian serous adenocarcinoma, PCR, gene copy number variation, extracellular DNA, low invasive diagnosis.

Рак яичников является ведущей причиной летальных исходов от гинекологических злокачественных опухолей в мире и обычно диагностируется уже на поздней стадии. Серозная аденокарцинома является одним из самых распространенных подтипов эпителиальных опухолей яичников [1]. Число летальных исходов от этой патологии является самым высоким среди гинекологических опухолей в мире и ежегодно увеличивается. В исследовании Blagden S.P. (2015) установлено, что серозная аденокарцинома яичника гетерогенна на гистологическом и молекулярном уровнях [2]. Традиционно выделяли два подтипа этого рака: серозную аденокарциному высокой степени злокачественности (high-grade serous cancer) и серозную аденокарциному низкой степени злокачественности (low-grade serous cancer) [3]. Для серозной аденокарциномы яичника низкой степени злокачественности свойственно относительно благоприятное клиническое течение, а также стабильный молекулярно-генетический и эпигенетический профиль. Серозная аденокарцинома яичника высокой степени злокачественности имеет агрессивное клиническое течение [1], при этом для неё в настоящее время не существует одобренного скринингового теста, что препятствует ранней диагностике данного заболевания [4].

Для разработки эффективных и малоинвазивных методов ранней диагностики необходим скрининг молекулярных маркеров во внеклеточной ДНК плазмы крови. В качестве таких маркеров большим потенциалом обладает показатель числа копий генов (Copy Number Variation (CNV)) - полиморфизм, приводящий к изменению копийности генетического локуса и, как следствие, изменению экспрессии этого локуса и его продукта - белка или не кодирующей РНК [5]. Показатель CNV может выступать в качестве высокоспецифичного биологического маркера, позволяющего осуществлять как раннюю диагностику [5], так и молекулярное типирование опухолей [6].

К внеклеточной ДНК (внДНК) относится ядерная и митохондриальная ДНК из соматических и опухолевых клеток, подвергшихся апоптозу или некрозу; ДНК из клеток крови, вирусная и бактериальная ДНК [7]. Проведенный анализ баз данных TCGA и DisGeNET позволил выделить ряд генов (регулирующих метаболизм эстрогена), показатель копийности которых имеет потенциал малоинвазивной диагностики серозной аденокарциномы яичников (табл. 1).

Таблица 1

Перечень потенциальных молекулярных маркеров серозной аденокарциномы яичников

№	Название гена	Варианты названия гена	Расшифровка
1	<i>CYP11A1</i>	CYP11, P450DX, CP11, P1-450, AHRR, АНН, CYP11A1, P450C	цитохром P450 семейство 1 подсемейство A1

2	<i>CYP1-A2</i>	CYP1A2, P450(PA), CP-12, P3-450	цитохром P450 семейство 1 подсемейство A2
3	<i>CYP1-B1</i>	CYP1B1, P4501B1, ASGD6, GLC3A, CP1B	цитохром P450 семейство 1 подсемейство B1
4	<i>CYP19A I</i>	ARO1, CPV1, CYP19, ARO, P-450AROM, CYAR	цитохром P450 семейство 19 подсемейство A1
5	<i>ESR1</i>	ESR, NR3A1, Era, ESTRR, ER, ESRA	рецептор эстрогена 1
6	<i>ESR2</i>	NR3A2, Erb, ER-BETA, ESRB, ESTRB,	рецептор эстрогена 1
7	<i>GPER</i>	LERGU, CEPR, FEG-1, LyGPR, LERGU2, GPCR-Br, CMKRL2, GPER, mER, DRY12, GPR30	рецептор эстрогена 1, связанный с G-белком
8	<i>STS</i>	ARSC1, ASC, ARSC, XLI, SSDD, ES	стероидная сульфатаза
9	<i>SULT1- A1</i>	P-PST, ST1-A1, PST, STP, TSPS-T1, HAST1/2, STP-1, ST1-A3	семейство сульфотрансфераз 1 подсемейство A1
10	<i>SULT1- E1</i>	EST-1, ST1-E1, EST, STE	семейство сульфотрансфераз 1 подсемейство E1

Целью данного исследования стало определение во вДНК показателя копийности генов, регулирующих метаболизм и рецепцию эстрогенов, у больных серозной аденокарциномой яичников высокой степени злокачественности и у условно здоровых доноров.

Материалы и методы исследования

В работе использовали кровь, взятую путем венопункции у 50 больных серозной аденокарциномой яичников высокой степени злокачественности, а также у 30 доноров без онкологической патологии (группа условно здоровых доноров).

Плазму крови отделяли центрифугированием (30 минут, 2000 об/мин, $t=10^{\circ}\text{C}$). Из плазмы выделяли вДНК фенол-хлороформным методом в модификации Кутилина Д.С. и соавторов [7]: к 4 мл плазмы добавляли 4 мл лизирующего раствора, содержащего 2% SDS, 1% меркаптоэтанол и протеиназу К, инкубировали 30 мин. при 58°C , после чего добавляли 4 мл смеси щелочной фенола с хлороформом (1:1) и центрифугировали 20 мин. при 3000 об/мин ($t=10^{\circ}\text{C}$). Раствор разделялся на две фазы - фенол-хлороформную и водную фазу, содержащую ДНК. Водную фазу переносили в отдельную пробирку и добавляли равный объем изопропилового спирта (96%) и хлорида натрия (до концентрации в растворе 100 мМ). После 60-минутной инкубации при -20°C проводилось центрифугирование (12 000 об/мин, 15 минут, $t=10^{\circ}\text{C}$). Получившийся осадок промывали этиловым спиртом (80%). Этанол удаляли центрифугированием, высушивали осадок при 58°C и растворяли в буфере, содержащем ЭДТА [7].

Оценку показателя относительной копийности 10 генов (*ESR1*, *GPER*, *ESR2*, *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1*, *CYP19A*, *SULT1A*, *SULT1E1*, *STS*) проводили методом количественной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR). Разработка последовательности синтетических

олигонуклеотидов (праймеров) осуществлялась с помощью Primer-BLAST и базы данных GenBank (NCBI). В качестве референсного гена для нормализации полученных показателей RT-qPCR был выбран *B2M*.

Реакция амплификации проводилась на термоциклере CFX96 (Bio-Rad, США) в 20 мкл смеси, содержащей матрицу вДНК (не менее 0,5 нг), 0,2 мМ раствор dNTP, 0,4 мкМ прямого и обратного праймеров, 2,5 мМ раствор $MgCl_2$, 1X ПЦР-буфер с интеркалирующим красителем EvaGreen и 0,1 е.а./мкл SynTaq ДНК-полимеразы [7]. Амплификация осуществлялась по следующей программе: 95 °С 3 минуты, 40 циклов: 95 °С 10 секунд, 55 °С 30 секунд (чтение оптического сигнала по каналу FAM) и 72 °С 20 секунд.

Относительную копийность (rC) рассчитывали по формуле, описанной Кутилиным Д.С. [8]:

$$rC = rC_o / rC_n = E^{-\Delta Ct(\text{образцов от больных})} / E^{-\Delta Ct(\text{образцов от условно здоровых})},$$

где E – эффективность ПЦР-амплификации, рассчитанная по формуле $E = 10^{-1/k}$ (k – коэффициент уравнения прямой $C(T) = k \cdot \log P_0 + b$, полученной в ходе линейной аппроксимации данных экспериментальных постановок ПЦР) (усредненное значение $E = 1,914$), а ΔCt – разница между средним геометрическим $Ct_{(\text{гена-мишени})}$ и средним геометрическим $Ct_{(\text{референсного гена})}$ [8].

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием Microsoft Excel 2010, Statistica 10.0 и среды для программирования R i386 4.0.0. Статистическую значимость различий оценивали по критерию Манна-Уитни, для корректировки множественного сравнения применяли поправку Бонферрони. Для выявления общих сигнальных путей исследуемых генов использовали алгоритм «сетевой интеграции нескольких ассоциаций», который предсказывает функцию и положение гена в составе сложной сети из множества других генов, а также рассчитывает оценку (W -value) для каждой точки построенной сети, отражающую силу связи между соседними точками [9].

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе исследования обнаружено статистически значимое ($p < 0,005$) увеличение копийности генов *SULT1E1*, *CYP1B1* и *ESR1* в 2,8 раза, 3,0 раза и 5.0 раз соответственно во внеклеточной ДНК плазмы крови у 80%, 75% и 85% соответственно обследованных больных серозной аденокарциномой яичников высокой степени злокачественности относительно внеклеточной ДНК плазмы крови условно здоровых доноров (рис. 1).

У 40% больных во внеклеточной ДНК наблюдалось увеличение копийности генов *CYP1A1* и *CYP1A2* в 2,4 раза ($p < 0,05$) и 2,5 раза ($p < 0,05$) соответственно, ещё у 40% больных отсутствовали изменения в копийности этих генов относительно условно здоровых доноров,

а у 20% больных наблюдалось снижение копийности этих генов в 1,3 ($p<0,05$) и 1,4 раза ($p<0,05$) соответственно.

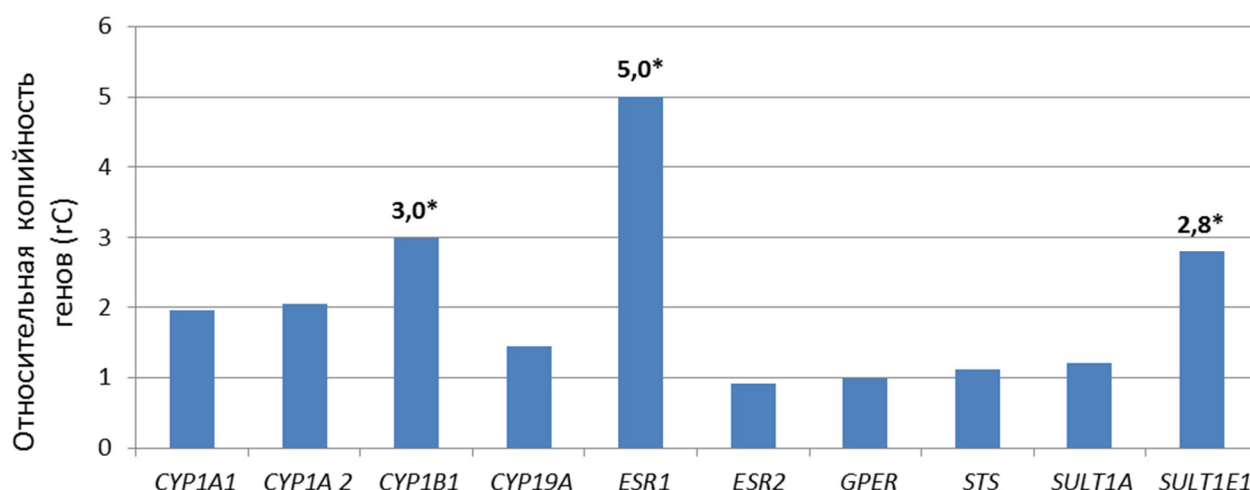


Рис. 1. Уровень относительного количества копий генов во внДНК плазмы крови больных серозной аденокарциномой яичников высокой степени злокачественности.

* – статистически значимые отличия относительно количества копий генов во внДНК плазмы крови условно здоровых доноров ($p<0,005$)

Копийность генов *CYP19A*, *GPER*, *ESR2*, *STS* и *SULT1A* статистически значимо не отличается во внеклеточной ДНК плазмы крови больных серозной аденокарциномой яичников высокой степени злокачественности и во внеклеточной ДНК плазмы крови условно здоровых доноров.

С использованием алгоритма «сетевой интеграции нескольких ассоциаций» было оценено наличие и сила взаимодействия между генами *ESR1*, *ESR2*, *GPER*, *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1*, *CYP19A*, *STS*, *SULT1A*, *SULT1E1*, а также генами, ассоциированными с ними в общих сигнальных путях (рис. 2, табл. 2). Для генетических локусов (*SULT1A1*, *CYP1B1*, *CYP19A1*, *ESR2*, *ESR1*, *SULT1E1* и *CYP1A1*) наиболее сильное взаимодействие (определено по нескольким параметрам: совместная экспрессия генов (база Gene Expression Omnibus), общие белковые домены (базы BioGRID, IntAct и MIPS), общая регуляция транскрипционными факторами (JASPAR), со-локализация) выявлено с генами *SULT1A2*, *CYP1A1*, *CYP11A1*, *REXO4*, *CYP1B1* и *CYP2D6*. Соответственно, повышение копийности генов *ESR1*, *CYP1B1* и *SULT1E1*, помимо экспрессии соответствующих генов, может отразиться и на экспрессии генов *OR52A1*, *ZNF398*, *PRDM2* и *ESR2* (для *ESR1*), *CYP1A1* и *ESR1* (для *CYP1B1*), *SULT1A1* и *SULT2B1* (для *SULT1E1*) (рис. 2, табл. 2).

Таблица 2

Сила взаимосвязей между генами, рассчитанная с помощью алгоритма «сетевой интеграции нескольких ассоциаций»

Ген 1	Ген 2	W-value	Тип взаимодействия
<i>SULT1A2</i>	<i>SULT1A1</i>	0,8518850	предсказанные взаимодействия
<i>CYP1A1</i>	<i>CYP1B1</i>	0,6785801	предсказанные взаимодействия
<i>CYP11A1</i>	<i>CYP19A1</i>	0,4789596	предсказанные взаимодействия
<i>REXO4</i>	<i>ESR2</i>	0,2773180	общие сигнальные пути
<i>CRHBP</i>	<i>ESR2</i>	0,2773180	общие сигнальные пути
<i>CRYZ</i>	<i>ESR2</i>	0,2773180	общие сигнальные пути
<i>CD68</i>	<i>ESR2</i>	0,2679962	общие сигнальные пути
<i>CD14</i>	<i>SULT1A1</i>	0,2509112	предсказанные взаимодействия
<i>CYP2D6</i>	<i>CYP1A1</i>	0,2334536	предсказанные взаимодействия
<i>CYP2E1</i>	<i>CYP19A1</i>	0,2142480	предсказанные взаимодействия
<i>CYP2D6</i>	<i>CYP1A2</i>	0,2033754	предсказанные взаимодействия
<i>CYP1A2</i>	<i>CYP1A1</i>	0,2005719	предсказанные взаимодействия
<i>ESR1</i>	<i>CYP1B1</i>	0,1960994	общие сигнальные пути
<i>OR52A1</i>	<i>ESR1</i>	0,1905680	предсказанные взаимодействия
<i>ZNF398</i>	<i>ESR1</i>	0,1905680	предсказанные взаимодействия
<i>PRDM2</i>	<i>ESR1</i>	0,1905680	предсказанные взаимодействия
<i>CYP3A4</i>	<i>CYP2D6</i>	0,1621384	предсказанные взаимодействия
<i>PELP1</i>	<i>ESR2</i>	0,1552160	предсказанные взаимодействия
<i>CYP2C18</i>	<i>CYP1A2</i>	0,1467650	предсказанные взаимодействия
<i>CYP3A4</i>	<i>CYP1A2</i>	0,1393014	предсказанные взаимодействия
<i>PNRC1</i>	<i>ESR2</i>	0,1286611	общие сигнальные пути
<i>NCOA7</i>	<i>ESR2</i>	0,1219798	предсказанные взаимодействия
<i>CYP2E1</i>	<i>CYP1A1</i>	0,1155651	предсказанные взаимодействия
<i>CYP2C9</i>	<i>CYP2D6</i>	0,1069237	предсказанные взаимодействия
<i>CYP1A2</i>	<i>CYP1A1</i>	0,0424047	совместная экспрессия
<i>CYP11B2</i>	<i>CYP11A1</i>	0,0343799	общие белковые домены
<i>ESR1</i>	<i>ESR2</i>	0,0332440	общие белковые домены
<i>SULT1A1</i>	<i>SULT1E1</i>	0,0308099	общие белковые домены
<i>SULT2B1</i>	<i>SULT1E1</i>	0,0308099	общие белковые домены

Хорошо известно, что в патогенезе ряда гинекологических злокачественных опухолей (в том числе и серозных аденокарцином яичника высокой степени злокачественности) важную роль играет эндогенная или экзогенная гиперэстрогения [1; 10]. Эстрогены образуются из андрогенов под действием ароматазы - НАДФН-зависимого фермента цитохрома P450 19-го семейства, кодируемого геном CYP19 [11]. В данном исследовании показатель копийности гена CYP19 статистически значимо не отличается от показателя у условно здоровых доноров. Это может свидетельствовать о том, что особых изменений в процессе образования эстрогенов у больных серозной аденокарциномой яичников, вероятно, не происходит.

Эстрогены реализуют своё действие через рецепторы эстрогена, имеющиеся в разных тканях. В настоящее время известно 2 типа эстрогеновых рецепторов: α и β , функции которых интенсивно изучаются [12]. Так, в работах Bardin A. с соавторами и Кита О.И. с

соавторами установлено, что гиперэкспрессия гена *ESR1* сопровождается процессами онкотрансформации [13], а *ESR2* регулирует митотическую активность, защищая от аномальной пролиферации индуцированной активацией α эстрогеновых рецепторов [11].

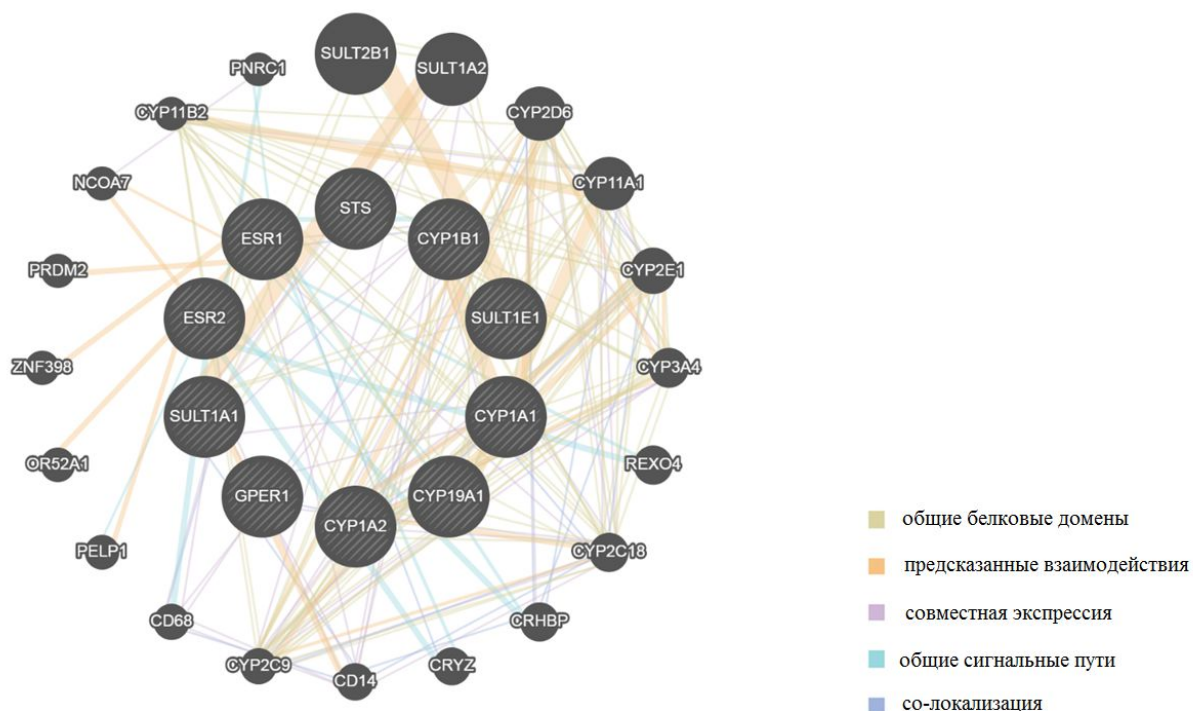


Рис. 2. Визуальная модель сети функциональных взаимосвязей между генами, регулирующими метаболизм и рецепцию эстрогенов [9]

По данным Кита О.И. и соавторов [10; 14], ещё одним ключевым фактором в канцерогенезе может быть метаболическая активация эстрадиола. Гены *CYP1A1* и *CYP1B1* кодируют два фермента из семейства цитохромов P450, которые катализируют гидроксилирование 17- β -эстрадиола в положении С-2 и С-4 соответственно. Метаболиты *CYP1B1* (4-гидрокси эстрогены) играют важную роль в злокачественной трансформации. Из данных литературы известно, что в некоторых гинекологических опухолях повышена экспрессия генетических локусов, регулирующих гидроксилирование эстрадиола (*CYP1A1* и *CYP1B1*), уровень ядерных (*ESR1*, *SULT1E1* - гены сульфотрансферазы) и мембранных рецепторов эстрогенов (*GPER*) [15].

Отличия копийности описанных выше генов во вДНК больных серозной аденокарциномой и относительно условно здоровых доноров вписываются в теорию эстроген-ассоциированного канцерогенеза [10], согласно которой метаболическая активация эстрадиола, вызванная аномально высокой экспрессией генов *CYP1A1* и *CYP1B1*, и соответственно активностью кодируемых ими ферментов, в совокупности с увеличением количества ядерных рецепторов ER α , вызванным повышенной копийностью и экспрессией

гена *ESR1* [11], приводит к усилению пролиферации в тканях-мишенях. Этому явлению может препятствовать увеличение активности фермента сульфотрансферазы (ассоциированное с повышением экспрессии гена *SULT1E1*), участвующей в инактивации эстрогенов путем их сульфатирования [11]. Однако обнаруженное в нашем исследовании повышение копийности *SULT1E1* не позволяет однозначно говорить о биологическом значении данного процесса (повышении экспрессии соответствующего гена и его продукта). Тем не менее показатель копийности *SULT1E1* имеет потенциал в качестве молекулярного маркера серозной аденокарциномы яичника высокой степени злокачественности.

Заключение

Таким образом, проведенный анализ показателя копийности генов во внеклеточной ДНК больных серозной аденокарциномой яичников высокой степени злокачественности позволил выявить наиболее характерные малоинвазивные маркеры этого заболевания - *SULT1E1*, *CYP1B1* и *ESR1*.

Список литературы

1. Цандекова М.Р., Порханова Н.В., Кутилин Д.С. Молекулярная характеристика серозной аденокарциномы яичника: значение для диагностики и лечения // Современные проблемы науки и образования. 2020. № 1. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=29428> дата обращения: 15.08.2020).
2. Blagden S.P. Harnessing Pandemonium: The clinical implications of tumor heterogeneity in ovarian cancer. *Front. Oncol.* 2015. Vol. 5. P.149
3. Kurman R.J. Origin and molecular pathogenesis of ovarian high-grade serous carcinoma. *Ann. Oncol.* 2013. Vol. 24. P.16-21.
4. Bell R., Petticrew M., Luengo S., Sheldon T.A. Screening for ovarian cancer: A systematic review. *Health Technol. Assess.* 1998. vol. 2. P. 1-84
5. Кутилин Д.С., Айрапетова Т.Г., Анистратов П.А., Пыльцин С.П., Лейман И.А., Карнаухов Н.С., Кит О.И. Изменение копийности генов в опухолевых клетках и внеклеточной ДНК у больных аденокарциномой лёгкого // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2019. Т. 167(6). С. 731-738
6. Колесников Е.Н., Максимов А.Ю., Кит О.И., Кутилин Д.С. Зависимость общей и без рецидивной выживаемости больных от молекулярно-генетического подтипа плоскоклеточного рака пищевода // Вопросы онкологии. 2019. Т. 65(5). С. 691-700.
7. Кутилин Д.С., Айрапетова Т.Г., Анистратов П.А., Пыльцин С.П., Лейман И.А., Чубарян А.В., Туркин И.Н., Водолажский Д.И., Николаева Н.В., Лысенко И.Б. Изменение

относительной копийности генетических локусов во внеклеточной ДНК у пациентов с аденокарциномой легкого // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. 2017. № 3-2 (195-2). С. 74-82.

8. Кутилин Д.С. Регуляция экспрессии генов раково-тестикулярных антигенов у больных колоректальным раком // Молекулярная биология. 2020. Т. 54. № 4. С. 580-595.

9. Димитриади Т.А., Бурцев Д.В., Дженкова Е.А., Кутилин Д.С. Дифференциальная экспрессия микроРНК и их генов-мишеней при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях разной степени тяжести // Успехи молекулярной онкологии. 2020. №7(2). С.30-44.

10. Кит О.И., Водолажский Д.И., Кутилин Д.С., Моисеенко Т.И., Никитин И.С., Франциянц Е.М. Изменение экспрессии эстроген-регуляторных генов при малигнизации тканей тела матки // Кубанский научный медицинский вестник. 2016. № 2 (157). С. 84-90

11. Кит О.И., Водолажский Д.И., Кутилин Д.С., Никитин И.С., Моисеенко Т.И., Франциянц Е.М. Транскриптомная активность эстроген-регуляторных генов при малигнизации тканей тела матки // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2016. № 115. С. 294-304.

12. Burke W.M., Orr J., Leita M., Salom E., Gehrig P., Olawaiye A.B., Brewer M., Boruta D., Vilella J., Herzog T. Endometrial cancer: A review and current management strategies: Part I. SGO Clinical Practice Endometrial Cancer Working Group. Gynecologic Oncology. 2014. V.134. P. 385-392.

13. Bardin A., Boulle N., Lazennec G., Vignon F. Loss of ERb expression as a common step in estrogen-dependent tumor progression. Endocrine-Related Cancer. 2004. Vol. 11. P. 537-551

14. Sasaki M., Kaneuchi M., Fujimoto S., Tanaka Y., Dahiya R. CYP1B1 gene in endometrial cancer. Mol Cell Endocrinol. 2003. P. 171-176.

15. Кит О.И., Водолажский Д.И., Кутилин Д.С., Моисеенко Т.И., Никитин И.С., Франциянц Е.М. Способ прогнозирования рецидивов рака тела матки на основании уровня экспрессии генов *PTEN* и *CYP1B1*. Патент на изобретение RU 2605302 C1, 20.12.2016. Заявка № 2015148301/10 от 10.11.2015.