

Морфологические особенности сульпиридной модели доброкачественной гиперплазии предстательной железы у крыс

Н.В. Тишевская, Д.А. Максаков, Е.С. Головнева

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Кафедра нормальной физиологии

Сведения об авторах:

Тишевская Н.В. – д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет», e-mail: natalya-tishevskaya@yandex.ru

Tishevskaya N.V. – Dr. Sc., Professor of the Department of Normal Physiology of "South Ural State Medical University", e-mail: natalya-tishevskaya@yandex.ru

Максаков Д.А. – очный аспирант кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»

Maksakov D.A. – post-graduate student of the Department of Normal Physiology of "South Ural State Medical University"

Головнева Е.С. – д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»

Golovneva E.S. – Dr. Sc., Professor of the Department of Normal Physiology of "South Ural State Medical University"

Патогенез доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ) у человека связан с нарушениями регуляции в гипоталамо-гипофизарной системе и изменением интенсивности регуляторных сигналов, поступающих из этой системы к репродуктивным органам. К центральным патогенетическим звеньям развития данной патологии относят снижение эффективности регуляции функций гипоталамуса, осуществляемой по принципу обратной связи, изменение чувствительности клеток гипофиза к рилизинг-гормонам гипоталамуса и дисбаланс между продукцией эстрогенов и андрогенов. На органном уровне развитие ДГПЖ обусловлено повышением активности 5-альфа-редуктазы, способствующей превращению тестостерона в дигидротестостерон, увеличением синтеза тканевых факторов роста, повышением экспрессии андрогеновых и альфа1-адренорецепторов [1,2]. Среди аденогипофизарных гормонов, помимо фолликулостимулирующего и лютеинизирующего, на развитие ДГПЖ большое влияние оказывает пролактин, гиперсекреция которого в настоящее время считается весьма значимой причиной возникновения возрастных гиперпластических процессов в предстательной железе (ПЖ).

Моделирование патологических состояний у лабораторных животных является важным разделом экспериментальной медицины, поскольку от качества и воспроизводимости модели зависит не только обоснованность фундаментальных выводов о механизмах развития заболеваний, но и результаты доклинических испытаний медикаментозных препаратов. Одной из таких моделей, рекомендованных Министерством здравоохранения и социального развития РФ для доклинического изучения простатотропной активности лекарственных средств и широко используемых в эксперименте, является сульпиридная модель ДГПЖ [3,4,5]. Сульпирид – это антипсихотическое средство, нейролептические свойства которого связаны с антидофаминергическим действием. При длительном введении сульпирида индуцирует гиперсекрецию пролактина, что приводит к стимуляции пролиферации железистого эпителия в предстательной железе. Патогенез ацинарной гиперплазии при этом обусловлен повышением активности 5-альфа-редуктазы и увеличением чувствительности эпителиальных клеток к андрогенам [6].

Целью нашей работы явилось изучение особенностей морфологических изменений в железистой ткани ПЖ крыс при моделировании ДГПЖ с помощью сульпирида, а

также выявление взаимосвязей между морфологическими показателями и маркерами функционального состояния эпителиальных клеток.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 58 белых беспородных крысах-самцах в возрасте 16-18 месяцев, ранее использовавшихся в виварии для получения потомства. Эксперимент был проведен в соответствии с Национальным стандартом Российской Федерации «Принципы надлежащей лабораторной практики», утвержденным и введенным в действие Приказом Ростехрегулирования от 02.12.2009 (№544-ст, ГОСТ Р 53434-2009). Все манипуляции с животными производили под эфирным наркозом, эвтаназию грызунов осуществляли путем цервикальной дислокации, также проводимой под эфирным наркозом.

Опытной группе животных (n=30) ежедневно внутримышечно в течение 30 дней вводили сульпирид (Эглонил, раствор для внутримышечного введения, 50 мг/мл, Sanofi Winthrop Industrie, Франция) в дозе 40 мг/кг веса. Крысам контрольной группы (n=28) ежедневно внутримышечно вводили по 0,5 мл 0,9% раствора хлорида натрия. Через 10 дней после последней инъекции все животные были выведены из эксперимента.

Абсолютную массу ПЖ и ее дорсолатеральных отделов определяли путем взвешивания на электронных весах. Относительную массу железы и ее дорсолатеральных отделов рассчитывали на 100 г веса животного. Для проведения морфологического исследования ткани фиксировали в 10% растворе формалина и подвергали стандартной гистологической проводке с последующей окраской парафиновых срезов гематоксилином и эозином. Морфометрические исследования проводились с помощью компьютерной системы анализа цветового изображения: микроскопа Leica DMRXA (Германия), системы анализа изображения Диаморф Цито® (Россия) и комплекта компьютерных программ Диаморф Ипсо® (Россия). Морфометрия проводилась по методу Г.Г. Автандилова [7]. В каждом препарате измеряли общую площадь, занимаемую железистой тканью, толщину эпителиального слоя, площади ядра и цитоплазмы эпителиальных клеток. Экспрессию ядерного антигена Ki-67 (маркер пролиферативной активности) определяли с помощью кроличьих моноклональных антител (SP6) (CELL MARQUE, США), экспрессию каспазы-3 (маркер апоптоза) – с использованием кроличьих поликлональных антител (GenTex, США). Результаты иммуногистохимических реакций выражали в виде процентного отношения окрашенных клеток к общему числу клеток в препарате.

Таблица 1. Морфологические изменения в предстательной железе крыс с сульпиридной моделью ДГПЖ

Показатели	Контроль (n=28)	Крысы с ДГПЖ(n=30)
Абсолютная масса всей железы (г)	2,84±0,04	3,33±0,04*
Относительная масса всей железы	0,66±0,01	0,90±0,01*
Абсолютная масса дорсолатеральных долей (г)	1,03±0,02	1,75±0,02*
Относительная масса дорсолатеральных долей	0,22±0,01	0,45±0,01*
% железистой ткани	47,61±0,43	75,14±0,56*
Толщина эпителия (мкм)	19,23±0,45	30,06±0,48*
Площадь ядра 1 эпителиальной клетки (мкм)	24,45±0,11	24,79±0,11
Площадь цитоплазмы 1 эпителиальной клетки (мкм)	55,85±0,27	83,47±0,47*
Ядерно-цитоплазматическое отношение	0,438±0,003	0,297±0,002*
Ki-67 (%)	0,39±0,13	0,40±0,11
Каспаза-3 (%)	44,75±4,42	74,23±4,75*

Результаты представлены в виде M±m

* отмечено наличие достоверных различий между группами (p < 0,05)

Полученные данные были подвергнуты статистической обработке с помощью компьютерной программы IBM SPSS Statistics 19.0. Сравнения групп проводились методами непараметрической статистики с использованием критериев Манна-Уитни и хи-квадрат, корреляционные связи оценивались по величине и уровню значимости коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на то, что в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» указано, что для создания сульпиридной модели ДГПЖ наряду с крысами старше 10 мес. возможно использовать крыс молодого репродуктивного возраста [3], нам не удалось воспроизвести данную модель у половозрелых 8-9-месячных самцов при 30-дневном курсе сульпирида: абсолютные и относительные массы их ПЖ, а также массы дорсолатеральных отделов достоверно не отличались от контрольных значений.

У 16-18-месячных крыс через 10 дней после окончания 30-дневного курса сульпирида абсолютная масса ПЖ превышала контрольные значения на 17,3%, относительная масса – на 36,4% (табл. 1). При этом относительная масса дорсолатеральных долей у крыс с сульпирид-

ной моделью ДГПЖ была больше контрольного уровня в 2 раза.

Морфологические изменения, развившиеся в ПЖ крыс после длительного введения сульпирида, были аналогичны морфологической картине ДГПЖ у человека [8]. При гистологическом исследовании в препаратах дорсолатеральных отделов ПЖ подопытных животных на долю железистого эпителия приходилось 75%, тогда как в контроле железистая ткань составляла не более половины всей площади. У крыс с ДГПЖ эпителиальные клетки имели преимущественно цилиндрическую форму в отличие от ПЖ контрольных животных (рис. 1,2), ацинусы которых были выстланы кубическим эпителием, что характерно для ткани дорсолатеральных отделов ПЖ интактных половозрелых крыс [9]. Толщина эпителиального слоя ацинусов у животных опытной группы была в 1,6 раза больше, чем в контроле, при этом эпителиальная ткань формировала многочисленные выросты. Изменение толщины эпителия было обусловлено преимущественно внутриклеточной гипертрофией: железистые клетки ПЖ крыс опытной группы,

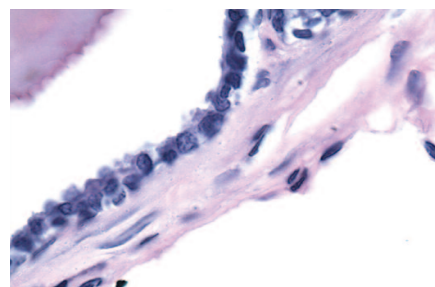


Рис.1. Железистый эпителий дорсолатеральных отделов предстательной железы контрольной крысы (световая микроскопия, увеличение x1000, окраска гематоксилином и эозином)

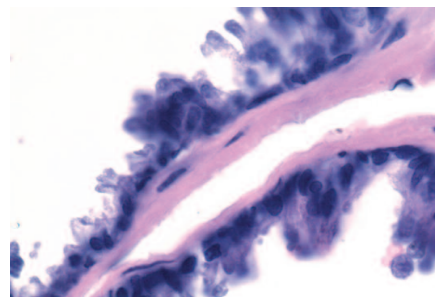


Рис.2. Железистый эпителий дорсолатеральных отделов предстательной железы крысы с сульпиридной моделью ДГПЖ (световая микроскопия, увеличение x1000, окраска гематоксилином и эозином)

по сравнению с контролем, содержали в 1,5 раза больше цитоплазмы. В соответствии с этим, ядерно-цитоплазматическое отношение в эпителиоцитах у животных с ДГПЖ оказалось в 1,5 раза меньше.

В настоящее время одним из распространенных молекулярных маркеров активного пролиферативного процесса в тканях является ядерный антиген Ki-67, экспрессирующийся в течение всех фаз клеточного цикла, кроме G0. В онкоурологии Ki-67 является критерием распространенности и степени дифференцировки опухолевого процесса [10,11]. При этом Ki-67 в 100% случаев выявляется в ядрах клеток низкодифференцированных опухолей ПЖ и не обнаруживается в клетках высокодифференцированной аденокарциномы [12]. В нашем исследовании наблюдалось полное отсутствие статистически значимых различий между уровнем экспрессии Ki-67 в клетках железистого эпителия у контрольных и подопытных животных (табл. 1). С одной стороны, это свидетельствует о несомненной доброкачественности моделируемого гиперпластического процесса, с другой – о том, что сульпиридная модель ДГПЖ только частично воспроизводит картину данной патологии у человека, поскольку у мужчин с ДГПЖ помимо признаков доброкачественной гиперплазии в ткани железы, как правило, обнаруживаются и очаги интраэпителиальной неоплазии низкой степени. По этой причине, как показано другими исследователями, относительная площадь экспрессии Ki-67 в железистых клетках в 3,5 раза превышает таковую у здоровых муж-

чин [13]. Мы полагаем, что экспрессия этого ядерного антигена в эпителиоцитах ацинусов подопытных животных регистрировалась на уровне показателей интактных крыс именно потому, что в ткани ПЖ через 10 дней после окончания курса сульпирида не было выявлено морфологических признаков злокачественного роста.

Мы выводили животных из эксперимента не сразу по окончании курса сульпирида (как делали другие исследователи [5,14]), а через 10 дней после последней инъекции препарата для того, чтобы одновременно с оценкой пролиферативного потенциала клеток железистого эпителия можно было проследить и появление признаков регрессии ДГПЖ. Известно, что одним из ведущих механизмов поддержания тканевого гомеостаза является апоптоз – запрограммированная гибель клеток, связанная с активацией разрушающих ДНК ферментов – каспаз. Среди всех каспаз наибольшей активностью обладает каспаза-3, поскольку после включения ее в процесс фрагментации ДНК клетка необратимо вступает на путь гибели [15]. В нашем исследовании у крыс с экспериментальной ДГПЖ через 10 дней после завершения курса сульпирида, морфологически отмечалась выраженная гиперплазия железистого эпителия, однако результаты иммуногистохимического анализа экспрессии каспазы-3 продемонстрировали наличие несомненных признаков активации апоптоза. В ПЖ подопытных животных доля клеток, содержащих этот проапоптотический фермент, была в 1,7 раза больше, чем в ткани

ПЖ контрольных крыс (табл. 1). Этот факт свидетельствует о начале восстановительных процессов в гиперплазированной железе, ранее подвергшейся влиянию медикаментозно измененных гуморальных механизмов регуляции, и служит доказательством обратимости экспериментальной сульпиридной модели данной патологии.

Подтверждением того, что у здоровых крыс временная гиперпролактинемия не приводит к фатальным изменениям регуляции морфогенеза, явились данные корреляционного анализа, проведенного между показателями всех животных, участвующих в эксперименте – и контрольных, и подопытных (табл. 2). Наличие прямых связей между массой железы, объемом железистой ткани в ней, толщиной эпителия ацинусов, количеством цитоплазмы в эпителиоцитах и экспрессией каспазы-3 не зависело от того, в каком состоянии находились крысы – в интактном или же экспериментальном патологическом. Это означает, что в данном эксперименте в организме животных сохраняется способность регулировать и поддерживать тканевой гомеостаз и, следовательно, сульпиридная модель ДГПЖ, не провоцирующая возникновения неоплазии, является адекватной моделью естественных возрастных гиперпластических процессов в ПЖ у человека.

Выводы

1. Для создания экспериментальной модели ДГПЖ с помощью многократного введения сульпирида необходимо использовать крыс старше 10 мес. В нашем исследовании у крыс 16-18-месячного возраста модель была воспроизведена в 100% случаев.

2. Через 10 дней после 30-дневного курса сульпирида в предстательной железе пожилых крыс регистрируются выраженные морфологические признаки доброкачественной гиперплазии.

3. Механизмами развития ДГПЖ под влиянием сульпирида являются усиленная пролиферация и

Таблица 2. Корреляционные взаимоотношения между показателями, характеризующими состояние предстательной железы у пожилых крыс

Показатели	% железистой ткани	Толщина эпителия	Площадь цитоплазмы	ЯЦО*
Абс. масса всей железы	0,570	0,657	0,727	- 0,683
Отн. масса всей железы	0,783	0,807	0,698	- 0,702
Абс. масса дорсолатер. долей	0,753	0,813	0,668	- 0,730
Отн. масса дорсолатер. долей	0,719	0,720	0,805	- 0,768
% железистой ткани	–	0,737	0,704	- 0,731
Толщина эпителия	0,737	–	0,699	- 0,739
Каспаза-3	0,503	0,468	0,516	- 0,519

В таблице представлены значения коэффициентов ранговой корреляции Спирмена с уровнем статистической значимости $p < 0,01$

* ЯЦО - ядерно-цитоплазматическое отношение

внутриклеточная гипертрофия клеток железистого эпителия.

4. Одновременно с развитием

гиперплазии в эпителиальных клетках ацинусов предстательной железы активируются механизмы апоптоза,

что свидетельствует об обратимости данной экспериментальной патологии. ■

Ключевые слова: доброкачественная гиперплазия предстательной железы, внутриклеточная гипертрофия, сульпирид, моделирование патологических состояний, апоптоз.

Key words: benign prostatic hyperplasia, intracellular hypertrophy, sulphiride, modeling of pathological conditions, apoptosis.

Резюме:

Для создания экспериментальной модели доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ) крысам в возрасте 16-18 мес ежедневно вводили сульпирид в дозе 40 мг/кг веса в течение 30 дней. Через 10 дней после последней инъекции относительная масса дорсолатеральных долей ПЖ была больше контрольного уровня в 2 раза, объем железистой ткани возрос на 25%, толщина эпителиального слоя желез увеличилась в 1,6 раза. Гиперплазия предстательной железы развивалась не только за счет усиленного деления клеток, но и за счет внутриклеточной гипертрофии: эпителиальные клетки ПД подопытных крыс содержали в 1,5 раза больше цитоплазмы, чем клетки контрольных животных. Уровень экспрессии Ki-67 в клетках железистого эпителия у крыс с сульпиридной моделью ДГПЖ не отличался от контрольных значений. Через 10 дней после окончания курса сульпирида в ткани ПЖ в 1,7 раза увеличилась экспрессия каспазы-3, что свидетельствует об активации апоптоза и обратимости экспериментально созданного патологического процесса. Корреляционный анализ выявил наличие прямых связей между массой железы, объемом железистой ткани в ней, толщиной эпителия ацинусов, количеством цитоплазмы в эпителиоцитах и экспрессией каспазы-3 в предстательной железе как подопытных, так и контрольных животных.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Summary:

Morphological features of sulphiride model of benign prostatic hyperplasia in rats

N. V. Tishevskaya, D. A. Maksakov, E. S. Golovneva

In order to create an experimental model of benign prostatic hyperplasia (BPH), rats aged 16-18 months received sulphiride (40 mg per 1 kg of weight) during a 30-day period. 10 days after the final injection, the relative mass of the dorsolateral lobes of the prostate was twofold higher, the volume of the glandular tissue increased by 25%, and the thickness of the epithelial layer of the prostate increased 1.6-fold (the numbers are provided in comparison with the control level). Prostate hyperplasia has developed not only as a result of a more rapid cell division but also because of intracellular hypertrophy. Prostate epithelial cells of the rats, which underwent the experiment, contained 1.5-fold more cytoplasm than the cells obtained from the control group. The expression level of Ki-67 in the cells of glandular epithelium obtained from mice with sulphiride model of BPH did not differ from control. 1.7-fold increase in the level of caspase-3 expression was observed in prostate tissues 10 days after the end of the sulphiride course, which indicates activation of apoptosis and reversibility of the experimentally induced pathological condition. Correlation analysis has revealed a direct relationship between the mass of the prostate, the volume of its glandular tissue, thickness of acini within the prostate and the expression of caspase-3 in animals from control and experimental groups.

Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ткачук В.Н. Современные представления об этиологии и патогенезе доброкачественной гиперплазии предстательной железы. *Нефрология* 2004; 8(2): 90-93.
2. Тиктинский О.Л., Калинина С.Н. Заболевания предстательной железы. СПб.: Питер. 2006. 464 с.
3. Боровская Т.Г., Фомина Т.И., Дурнев А.Д., Удут В.В., Пахомова А.В., Юрмазов З.А., Дыгай А.И. Методические рекомендации по доклиническому изучению простатотропной активности лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: ФГБУ "НЦЭСМП" Минздрава России. 2012. С. 727-739.
4. Лесова Е.А., Кирсанов К.И., Антошина Е.Е. Моделирование доброкачественной гиперплазии предстательной железы. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии* 2013; (12):55-64.
5. Беспалов В.Г., Муразов Я.Г., Кузханов А.А., Семенов А.Л. Сравнительное изучение простатотропных эффектов хвойного провитаминного концентрата и экстракта *Serenoa repens* на модели доброкачественной гиперплазии предстательной железы у крыс. *Экспериментальная и клиническая урология* 2013; (2):30-34.
6. Van Coppenole F., Slomianny C., Carpentier F. Effects of hyperprolactinemia on rat prostate growth: evidence of androgen-dependence. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280(1): 120-129.
7. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М. «Медицина». 1990. 384 с.
8. Кудрявцев Ю.В., Сивков А.В. Морфологические изменения в ткани предстательной железы при доброкачественной гиперплазии. *Экспериментальная и клиническая урология* 2010; (1):18-22.
9. Цветков И.С., Макарова О.В., Мхитаров В.А. Структурно-функциональная характеристика предстательной железы крыс. *Клиническая и экспериментальная морфология* 2013; (4): 69-74.
10. Nilsson S, Nordgren H, Karlberg L, Harvig B, Busch C, Hall T, Bjork P. Expression of estramustine-binding protein (EMBP) and the proliferation-associated antigen Ki-67 in prostatic carcinomas. *Scand J Urol Nephrol* 1988; 110:31-37.
11. Theodoropoulos V. E., Tsigka A., Mihalopoulou A., Tsoukala V., Lazaris A.C., Patsouris E., Ghikonti I. Evaluation of neuroendocrine staining and androgen receptor expression in incidental prostatic adenocarcinoma: prognostic implications. *Urology* 2005; 66(4):897-902.
12. Ковылина М.В., Прилепская Е.А., Сергейко И.П., Моисеенко Т.Н., Колонтарев К.Б., Говоров А.В., Пушкарь Д.Ю. Прогностическое значение иммуногистохимических маркеров Ki-67 p53 после радикальной простатэктомии. *Онкоурология* 2014; (1): 49-52.
13. Попков В.М. Прогностическое значение молекулярных маркеров при опухолях предстательной железы. *Медицинская наука и образование Урала* 2010; 11(2):30-34.
14. Ходченкова И.П., Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Метаболические изменения в предстательной железе и иммунный статус крыс при доброкачественной гиперплазии. *Психофармакология и биологическая наркологию* 2005; 5(4):1081-1085.
15. Самуилов В.Д. Биохимия программируемой клеточной смерти (апоптоза) у животных. *Соросовский образовательный журнал* 2001; 7(10):18-25.

REFERENCES (1-5, 7-9, 12-15)

1. Tkachuk V.N. Sovremennyye predstavleniya ob etiologii i patogeneze dobrokachestvennoy giperplazii predstatelnoy zhelezyi. [Modern ideas about the etiology and pathogenesis of benign prostatic hyperplasia]. *Nefrologiya* 2004; 8(2):90-93. (In Russian)
2. Tikhtinskiy O.L., Kalinina S.N. Zabolevaniya predstatelnoy zhelezyi. [Prostate diseases]. SPb.: Piter. 2006. 464 p. (In Russian)
3. Borovskaya T.G., Fomina T.I., Durnev A.D., Uдут V.V., Pahomova A.V., Yurmazov Z.A., Dyigay A.I. Metodicheskie rekomendatsii po doklinicheskomu izucheniyu prostatotropnoy aktivnosti lekarstvennykh sredstv. [Methodical recommendations for the preclinical study of the prostatic activity of drugs. A guide to preclinical drug]. Chast pervaya. M.: FGBU "NTSEMSP" Minzdravsotsrazvitiya Rossii. 2012. P. 727-739. (In Russian)
4. Lesovaya E.A., Kirsanov K.I., Antoshina E.E. Modelirovaniye dobrokachestvennoy giperplazii predstatelnoy zhelezyi. [Benign prostatic hyperplasia modeling]. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy himii* 2013; (12):55-64. (In Russian)
5. Bepalov V.G., Murazov Ya.G., Kuzhanov A.A., Semenov A.L. Sravnitelnoye izucheniye prostatotroponnykh effektorov hvoyanogo provitaminogo koncentrata i ekstrakta *Serenoa repens* na modeli dobrokachestvennoy giperplazii predstatelnoy zhelezyi u krysis. [Comparative study of prostatic effects of coniferous provitamin concentrate and extract of *Serenoa repens* based on the model of benign prostatic hyperplasia in rats]. *Ekspierimentalnaya i klinicheskaya urologiya* 2013; (2):30-34. (In Russian)
7. Avtandilov G.G. Meditsinskaya morfometriya. [Medical morphometry]. M., «Meditsina». 1990. 384 p. (In Russian)
8. Kudryavtsev Yu.V., Sivkov A.V. Morfologicheskie izmeneniya v tkani predstatelnoy zhelezyi pri dobrokachestvennoy giperplazii. [Morphological alteration in benign prostatic hyperplasia tissue]. *Ekspierimentalnaya i klinicheskaya urologiya* 2010; (1):18-22. (In Russian)
9. Tsvetkov I.S., Makarova O.V., Mhitarov V.A. Strukturno-funktsionalnaya harakteristika predstatelnoy zhelezyi krysis. [Structural and functional characteristics of prostate in rats]. *Klinicheskaya i ekspierimentalnaya morfologiya* 2013; (4): 69-74. (In Russian)
10. Kovyilina M.V., Prilepskaya E.A., Sergeyko I.P., Moiseenko T.N., Kolontarev K.B., Govorov A.V., Pushkar D.Yu. Prognosticheskoye znachenie immunogistohimicheskikh markerov Ki-67 p53 posle radikalnoy prostatektomii. [Prognostic value of the immunohistochemical markers Ki-67 and p53 after radical prostatectomy]. *Onkourlogiya*. 2014; (1): 49-52. (In Russian)
11. Popkov V.M. Prognosticheskoye znachenie molekulyarnykh markerov pri opukhlyakh predstatelnoy zhelezyi. [Prognostic importance of molecular markers at prostates cancer diseases]. *Meditsinskaya nauka i obrazovaniye Urala* 2010; 11(2):30-34. (In Russian)
12. Hodchenkova I.P., Zarubina I.V., Shabanov P.D. Metabolicheskiye izmeneniya v predstatelnoy zheleze i immunnyy status krysis pri dobrokachestvennoy giperplazii. [Metabolic changes in prostate and immune status in innocent hyperplasia in rats]. *Pshofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya* 2005; 5(4):1081-1085. (In Russian)
15. Samuilov V.D. Biokhimiya programiruemoy kletочноy smerti (apoptoz) u zhivotnykh. [Biochemistry of programmed cell death (apoptosis) in animals]. *Sorosovskiy obrazovatelnyy zhurnal* 2001; 7(10):18-25. (In Russian)