

УДК 618.146-006.61

Каюкова Е.В., Хышиктуев Б.С., Терешков П.П.

**ВЛИЯНИЕ ПРОПИОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
КЛЕТОК ШЕЙКИ МАТКИ ПРИ ИХ ДИСПЛАСТИЧЕСКОЙ
И НЕОПЛАСТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИЯХ***ГБОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия, г. Чита*

Резюме. Изучены влияние пропионовой кислоты на параметры пролиферации, апоптоза, кинетики клеточного цикла в клетках шейки матки при раке и дисплазии. Полученные данные свидетельствуют, что характер действия пропионата определяется видовой принадлежностью клетки, особенностями ее метаболизма. Пропионовая кислота обладает антипролиферативным, проапоптотическим действием на клетки эпителия шейки матки при их малигнизации и дисплазии.

Ключевые слова: рак шейки матки, апоптоз, пролиферация, клеточный цикл.

Kayukova E.V., Khyshiktuev B.S., Tereshkov P.P

**THE EFFECTS OF PROPIONIC ACIDS ON THE CERVICAL CELLS
CHARACTERISTICS IN THE CERVICAL CANCER AND DYSPLASIA**

Summary. The effects of propionic acids on the proliferation, apoptosis, cell cycle of the cervical cells in the cancer and dysplasia tissue have been studied.. The findings indicate that propionic effects depend on the type of tissue, its metabolism. Propionic acids exerts antiproliferative, proapoptotic effects on the cervical cells in cancer and dysplastic processes.

Key words: cervical cancer, apoptosis, proliferation, cell cycle.

Введение. В настоящее время доказано, что в канцерогенезе рака шейки матки (РШМ) имеют значение эпигенетические модификации, под которыми подразумевают изменения экспрессии генов, не затрагивающие последовательность нуклеотидов в ДНК [4, 5]. Из последних наиболее часто встречаются метилирование ДНК (C13ORF18, CADM1, CDH1, DAPK1, MAL и TFPI2.11-17, DNMT3L) и посттрансляционные модификации гистонов [5, 6, 7]. Одним из направлений современной науки является изучение веществ, способных ингибировать гистондеацетилазу – фермент, непосредственно участвующий в эпигенетических изменениях [2, 4, 11]. К данному классу соединений относится короткоцепочечная жирная кислота с тремя атомами углевода – пропионовая кислота (С3).

Цель исследования: изучить влияние пропионовой кислоты на пролиферативную активность, апоптотическую реактивность, кинетику клеточного цикла клеток шейки матки при их диспластической и неопластической трансформациях.

Материалы и методы. В исследование были включены 58 женщин, проходивших обследование и лечение в Забайкальском краевом онкологическом диспансере. Средний возраст пациенток составил 38±8,26 лет. Все обследуемые лица были информированы о проводимой работе и дали свое письменное согласие на участие в ней. Исследование проведено с соблюдением принципов Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki, 1964, 2013 ред.) с согласия Локального этического комитета Читинской государственной медицинской академии.

Обязательным условием включения пациенток в исследование являлось полное обследование согласно алгоритмам диагностики рака шейки матки, разработанными научно-исследовательским институтом им. Герцена. Следует отметить, что в 100% случаев у больных с выявленным раком шейки матки и цервикальной интраэпителиальной неоплазией II-III степени подтверждена ВПЧ-инфекция.

Основными критериями исключения женщин из исследования считались: отказ больной, период менопаузы, мenses, сопутствующие воспалительные заболевания шейки матки, воспалительные изменения со стороны органов репродуктивной системы, наличие инфек-

ций, передаваемых половым путем, за исключением вируса папилломы человека, тяжелое состояние больной, обусловленное сопутствующей патологией.

Объектами для изучения были биоптаты шейки матки, полученные путем прицельной ножевой биопсии или интраоперационно в ходе проведения оперативного пособия. Для верификации состояния цервикального эпителия параллельно проводился морфологический контроль фрагментов тканей.

В соответствии с данными гистологического исследования было выделено 2 сопоставимых клинических группы:

I – пациентки с неоплазией шейки матки (n=20 - гистологически подтвержденный плоскоклеточный рак I стадии),

II – больные с предраковыми заболеваниями шейки матки: цервикальная интраэпителиальная неоплазия (ЦИН) II-III ст (n=20),

Контрольную группу составили практически здоровые женщины (n=18), проходившие диспансерное обследование.

Для реализации поставленных целей в каждой группе выделены 2 фрагмента для исследования: А – участок злокачественной трансформации или предопухоловое поражение шейки матки; В – пограничная ткань без признаков злокачественного роста и воспаления.

Для получения клеточной суспензии кусочки биоптата измельчали и гомогенизировали в гомогенизаторе Gentle MACS Dissociator (MiltenyiBiotecGmbH, Германия) с пробирками С типа и с использованием набора реагентов TumorDissociationKit (MiltenyiBiotecGmbH, Германия). Затем суспензию клеток фильтровали через капроновый фильтр размером ячеек 30 мкм. Полученные клетки отмывали в среде RPMI-1640 с добавлением 10 % телячьей сыворотки и стандартного набора антибиотиков.

Регистрацию апоптоза, фаз клеточного цикла в выделенных клетках осуществляли с помощью проточной цитофлуориметрии FC500 (BeckmanCoulter, США) с использованием набора реагентов Annexin V Kit (BeckmanCoulter, США), окрашивание проводилось согласно прилагаемой инструкции. Первоначально производилось типирование злокачественных и диспластических клеток шейки матки из общей популяции по отсутствию экспрессии на них лейкоцитарного антигена CD45. Из всей массы CD45 негативных клеток гейтировались Ki-67 позитивные.

Результаты исследования оценивали до- и после 24-х часовой инкубации с пропиононовой кислотой.

Согласно данным литературы действие короткоцепочечных жирных кислот на культуры клеток обусловлено дозозависимым эффектом [3. 4].

Пилотные исследования по изучению действия СЗ на суспензию здоровых клеток шейки матки, проведенные нами, показали, что в концентрации 25 мкмоль/л пропионат не оказывает эффекта на пролиферативную активность, параметры апоптоза. Инкубация клеток с СЗ в концентрации 100 мкмоль/л приводила к их гибели. Поэтому для изучения эффектов пропионата на суспензию клеток в среду добавляли 50 мкмоль/л пропионата. Результаты оценивали через 24 часа.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью компьютерной программы «BIOSTAT». Полученные результаты представлены как медиана с указанием 25-го и 75-го перцентилей. Использовались методы непараметрической статистики с применением критерия Уилкоксона для парных измерений и U-критерия Манна–Уитни с контрольной группой. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$ [1].

Результаты исследования и их обсуждение.

Типирование клеток шейки матки по CD45. Доля клеток, не экспрессирующих лейкоцитарный антиген CD45, независимо от условий инкубации, статистически значимо не отличалась в очаге цервикального рака и в здоровых биоптатах на границе с ним по сравнению с контрольными образцами ($p > 0,05$) (табл. 1).

Таблица 1

Влияние пропионата на CD45 негативные клетки шейки матки при их злокачественной трансформации и дисплазии тяжелой степени

диагноз	рак		предрак		здоровая (n=18)
	очаг поражения (n=20)	здоровый участок (n=20)	очаг поражения (n=20)	здоровый участок (n=20)	
инкубация в течение 24 часов					
CD45-cells	3116 (2727; 3685)	3244 (2250; 3540)	3635* (2727; 4543)	2846 (2677; 3015)	2679 (2357; 3255)
CD45-cells, %	33,92 (24,87; 40,86)	30,03 (24,28; 36,62)	43,39* (31,02; 55,75)	29,31 (29,01; 29,62)	29,08 (24,99; 35,71)
инкубация в течение 24 часов с пропионовой кислотой					
CD45-cells	2622 (2321; 3088)	2823 (1973; 3016)	3087* (2406; 3767)	2442 (2282; 2603)	2264 (2032; 2754)
CD45-cells, %	29,14 (21,87; 34,71)	26,13 (20,74; 31,70)	41,22* (30,65; 51,78)	28,17 (27,70; 28,64)	27,42 (23,61; 33,85)

* – статистически значимые отличия между соответствующей подгруппой и контролем (значение р указано в тексте)

Также не было выявлено различий между пулом изучаемых клеток в парадиспластических очагах шейки матки II клинической группы по сравнению с соответствующими контрольными данными в условиях инкубации без - и с пропионовой кислотой ($p > 0,05$).

Наибольшее количество CD45 негативных клеток верифицировано в очаге предопухолевого поражения, что в 1,5 раза больше, чем в контрольных образцах с - и без действия пропионата ($p \leq 0,02$).

При инкубации клеток шейки матки с пропионовой кислотой, независимо от их поражения (цервикальный рак, тяжелая дисплазия) или его отсутствия (контрольная группа), удаленности от первичного очага (непосредственно патологический очаг или условно здоровый биоптат) наблюдалась редукция числа CD45 негативных клеток.

Так, в I клинической группе в очаге опухолевого поражения и в паранеопластических фрагментах тканей доля исследуемых клеток меньше на 14% и 13% соответственно при инкубации с C_3 ($p < 0,02$). В зоне предопухолевого поражения доля CD45 (-) клеток уменьшилась от 43,39% (31,02; 55,75) до 41,22% (30,65%; 51,78%) ($p < 0,02$). В парадиспластических биоптатах шейки матки и в здоровых фрагментах (контрольная группа) тенденция по снижению количество исследуемых клеток сохранялась.

Влияние пропионата на пролиферативную способность CD45 негативных клеток шейки матки.

Инкубация клеток шейки матки с C_3 , независимо от их групповой принадлежности (I, II и контрольная группы) и локализации (очаг поражения или условно здоровый участок ткани), значительно изменяет их пролиферативную способность (рис. 1).

Так, у больных, страдающих РШМ, в CD45 негативных клетках всех фрагментов шейки матки наблюдалось снижение экспрессии пролиферативного маркера Ki-67 (рис. 1). В очаге злокачественного поражения доля CD45 (-) клеток, экспрессирующих Ki-67, сокращалась на 12% от 70,09% (57,09%; 78,71%) до 61,63% (48,45%; 67,00%) в условиях инкубации без и с пропионовой кислотой, соответственно ($p < 0,02$). Аналогичная антипролиферативная активность C_3 наблюдалась и для клеток, выделенных из здоровых биоптатов шейки матки в I группе: уровень CD45 (-) Ki-67 (+) клеток данной локализации на 30,8% снижался ($p < 0,02$).

В группе с предопухолевыми поражениями шейки матки ингибирующее влияние пропионовой кислоты на пролиферацию клеток также сохранялось. В локусе предрака и в клетках на границе с ним в процессе инкубации с пропионатом редуцировался пул CD45 негативных клеток, позитивных по Ki-67, на 17,5% и 16,6% соответственно ($p < 0,02$).

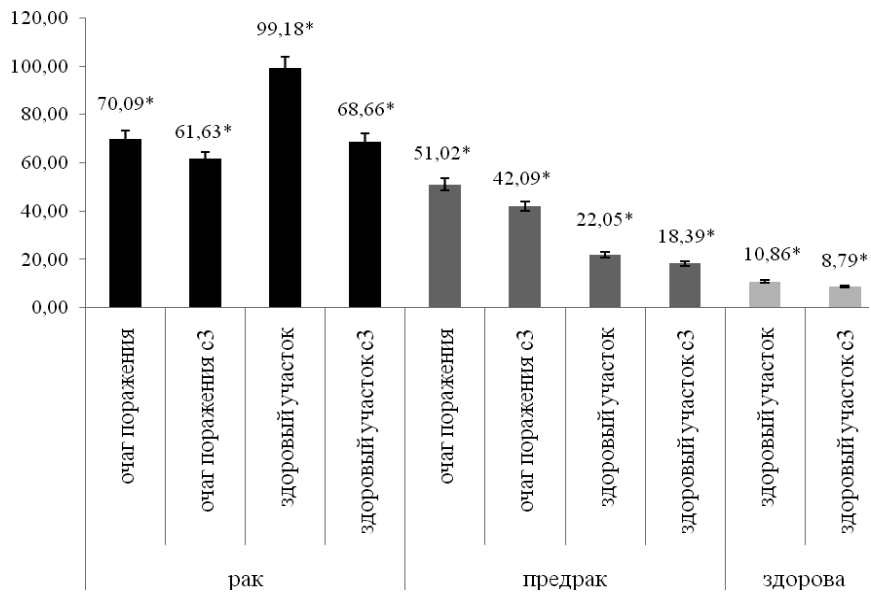


Рис. 1. Пул (%) CD45 негативных клеток шейки матки, экспрессирующих маркер Ki-67, при их злокачественной трансформации и дисплазии тяжелой степени в условиях инкубации с - и без пропионовой кислоты

* – статистически значимые отличия между соответствующей подгруппой в различных условиях инкубации

В контрольной группе в клетках шейки матки без признаков атипии и злокачественной трансформации антипролиферативный эффект пропионовой кислоты также имел место. Пул CD45 негативных клеток сокращался на 19% ($p < 0,02$).

Оценка апоптотической реактивности клеток шейки матки, негативных по CD45 и экспрессирующих Ki-67.

Инкубации суспензии клеток шейки матки с пропионатом приводила не только к изменению их пролиферативной активности, но и к гибели части CD45 негативных клеток, экспрессирующих маркер пролиферации Ki-67 (рис. 2).

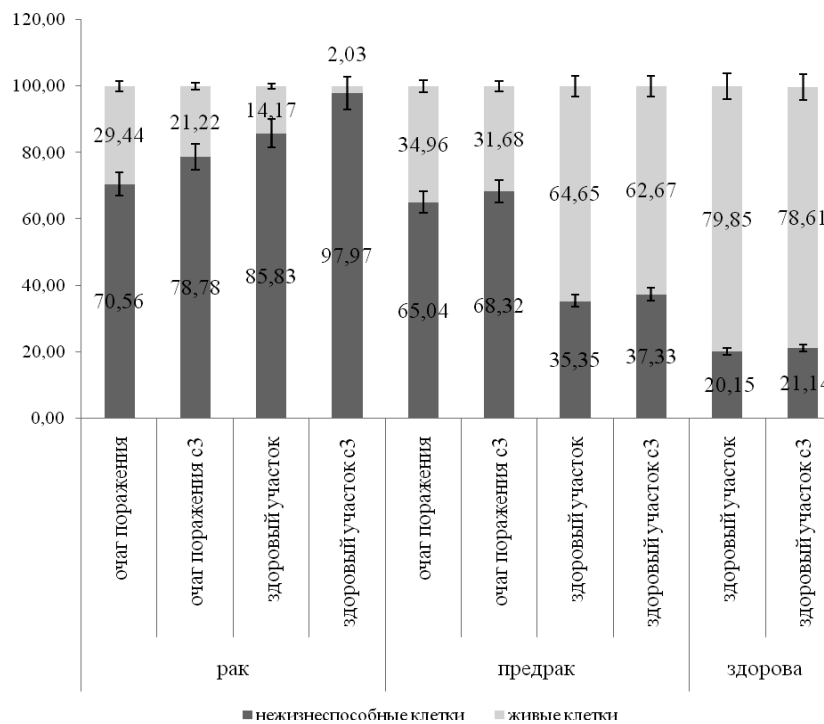


Рис. 2. Соотношение живых и нежизнеспособных клеток шейки матки при предраковых состояниях и неоплазии в условиях инкубации с пропионовой кислотой и без неё.

Нами выявлено, что наибольшее количество нежизнеспособных CD45(-) клеток, положительных по Ki-67, диагностировано в паранеопластических биоптатах шейки матки - 97,97% (92,94%; 99,01%) и в локусе рака шейки матки - 78,78% (48,68%; 97,25%), что на 14% и 11,7% больше, соответствующих показателей в аналогичных группах без добавления пропионовой кислоты.

В очаге цервикального рака действие СЗ объясняется стимуляцией позднего апоптоза (табл. 2), при этом доля клеток, находящихся в этой фазе, увеличилась на 12% ($p < 0,02$). Достоверных данных по влиянию пропионовой кислоты на интенсивность раннего апоптоза и некроза в биоптатах рака шейки матки не выявлено ($p > 0,005$).

В паранеопластических участках шейки матки пропионат повышал интенсивность раннего и позднего апоптоза на 64% и 33% соответственно ($p < 0,02$). Однако доля клеток, находящихся в стадии некроза, резко сокращалась от 16,57% (13,71%; 21,39%) до 0,65% (0,51%; 3,93%) ($p < 0,02$).

В группе предраковых изменений и в контрольных образцах тканей пропионат также статистически значимо ($p < 0,02$) уменьшал жизнеспособность клеток, однако выраженность этого эффекта меньше (на 5%, 5,6% и 4,90% для очага предопухолевых изменений, парадиспластических участков и контрольной группы соответственно).

Под влиянием пропионата в локусе предопухолевых изменений и в парадиспластических фрагментах шейки матки происходила интенсификация раннего апоптоза на 11% для обеих групп ($p < 0,02$). Кроме того, в клетках этих локализация выявлена активация и позднего апоптоза на 15% и 18% соответственно для очага цервикальной дисплазии и условно здоровых биоптатах, окружающих его ($p < 0,02$). Доля некротических клеток в биоптатах II группы под влиянием СЗ снижалась в среднем на 15% для обеих подгрупп ($p < 0,02$).

Таблица 2

Апоптотическая реактивность клеток шейки матки, негативных по CD45 и экспрессирующих Ki-67, при цервикальном раке и ЦИН III степени

диагноз параметры	рак		предрак		здоровая (n=18)
	очаг поражения (n=20)	здоровый участок (n=20)	очаг поражения (n=20)	здоровый участок (n=20)	
инкубация в течение 24 часов					
Ранний апоптоз (%)	11,69 (10,17; 13,09)	7,96 (4,79; 11,44)	14,19 (13,36; 15,03)	8,53 (7,77; 9,28)	6,98 (5,95; 7,50)
Поздний Апоптоз (%)	39,03 (28,53; 52,86)	54,78 (49,75; 56,38)	31,04 (25,96; 36,12)	14,80 (12,98; 16,63)	7,30 (4,46; 11,69)
Некроз (%)	13,51 (11,47; 18,48)	16,57 (13,71; 21,39)	19,81 (15,82; 23,80)	12,02 (9,99; 14,06)	8,73 (8,09; 9,50)
инкубация в течение 24 часов с пропионовой кислотой					
Ранний апоптоз (%)	11,39 (7,07; 13,17)	13,08** (5,70; 22,86)	15,79# (14,63; 16,95)	9,47## (8,65; 10,28)	7,79× (6,63; 8,40)
Поздний апоптоз(%)	43,73* (31,20; 63,82)	72,74** (70,58; 87,27)	35,69# (29,39; 41,98)	17,54### (15,60; 19,48)	9,24× (6,10; 14,23)
Некроз (%)	11,40 (9,28; 19,87)	0,65** (0,51; 3,93)	16,85# (13,96; 19,74)	10,33## (8,52; 12,14)	7,47× (6,82; 8,02)

*, **, #, ##, × – статистически значимые различия между показателями соответствующих подгрупп с инкубацией без- и с пропионовой кислотой

Полученные данные об индукции апоптоза под действием пропионовой кислоты в клетках цервикального рака и локусе предопухолевых изменений согласуются с источниками литературы. S.Q. Madeleine и соавт. (2006) в своем обзоре сообщают, что короткоцепочечные жирные кислоты индуцируют апоптоз во многих клеточных линиях [7]. Это обусловлено по-

вышением экспрессии проапоптотических генов, таких как Bax, Вах, CD95, p53, Araf-1 и снижением активности антиапоптотических генов, таких как: Bcl-2, Bcl-x1, c-FLIP [7].

Определение кинетики клеточного цикла. Под влиянием пропионата в локусе цервикального рака большинство клеток продолжают находиться в фазе G1 клеточного цикла, однако их количество снизилось на 15% ($p < 0,02$) (таб. 3). Также уменьшилась доля клеток в SubG0 от 11,51% (10,80; 13,79%) до 8,45% (6,46%; 11,25%) ($p < 0,02$). Интересным является тот факт, что в данной группе на 47,6% увеличилось количество клеток в синтетической фазе ($p < 0,02$) и в 2 раза вырос пул клеток в фазе G2/M ($p < 0,02$). Сопоставляя данные о снижении пролиферативной активности клеток по величине экспрессии антигена Ki-67, можно думать не об активации митотического потенциала клетки, а о блокировке клеточного цикла в контрольной точке G2/M.

В паранеопластических фрагментах тканей шейки матки под действием пропионата детектируется два блока клеточного цикла. Во-первых, наблюдается снижение пула G1 клеток на 67,74% ($p < 0,02$) и накопление клеток в фазе SubG0. Доля последних увеличилась на 41% ($p < 0,02$). Данные изменения свидетельствует о блокировке клеточного цикла под влиянием C3 в точке G0/G1. Во-вторых, зарегистрирован блок клеточного цикла в контрольной точке G2/M: увеличение пула клеток, находящихся в фазе G2/M на 65% ($p < 0,02$) на фоне снижения пролиферативной активности CD45 (-) по величине экспрессии Ki-67.

Биологическое значение блоков пролиферации известно [15]. Контрольные точки в клеточном цикле являются своеобразным депо, в которых происходит временная задержка клеток с поврежденной ДНК [9, 10]. Такое временное замедление клеточного цикла необходимо для репарации имеющихся повреждений генетического материала или для запуска апоптоза, клеточного старения, направленных на уничтожение дефектных клеток.

Таблица 3

Влияния пропионата на кинетику клеточного цикла в клетках шейки матки при их злокачественной трансформации и предопухоловом поражении

диагноз параметры	рак		предрак		здоровая (n=18)
	очаг поражения (n=20)	здоровый участок (n=20)	очаг поражения (n=20)	здоровый участок (n=20)	
инкубация в течение 24 часов					
SubG0	11,51 (10,80; 13,79)	12,46 (12,06; 17,63)	18,70 (16,45; 20,95)	25,41 (20,64; 30,17)	14,76 (13,02; 17,24)
G1	73,00 (72,00; 75,00)	62,00 (52,00; 65,00)	43,00 (41,00; 45,00)	47,00 (42,00; 52,00)	51,00 (45,75; 64,00)
S	3,89 (3,20; 4,41)	3,72 (3,37; 4,24)	11,80 (11,55; 12,05)	12,59 (11,36; 13,83)	10,24 (9,18; 10,88)
G2/M	11,00 (8,00; 13,00)	20,00 (20,00; 27,00)	26,50 (22,00; 31,00)	15,00 (14,00; 16,00)	19,00 (12,75; 27,25)
инкубация в течение 24 часов с пропионовой кислотой					
SubG0	8,45* (6,46; 11,25)	17,62** (17,23; 21,96)	11,53# (10,23; 12,84)	14,49### (9,19; 19,78)	6,48× (5,17; 8,59)
G1	62,00* (62,00; 64,00)	42,00** (32,00; 44,00)	50,01# (49,32; 50,69)	55,49### (49,32; 61,65)	58,91× (53,43; 69,48)
S	5,75* (4,54; 6,12)	5,38** (4,48; 6,09)	16,39# (15,63; 18,22)	17,98### (16,02; 19,95)	14,90× (13,22; 16,07)
G2/M	24,00* (20,00; 26,00)	33,00** (32,00; 40,00)	21,54# (18,25; 24,82)	12,05### (10,95; 13,14)	15,33× (10,22; 22,63)

*, **, #, ##, × – статистически значимые различия между показателями соответствующих подгрупп с инкубацией без- и с пропионовой кислотой

Установлено, что в опухолевых клетках нарушены регуляторные механизмы, контролирующие кинетику клеточного цикла, их остановку в контрольных точках, что приводит к накоплению генетически нестабильных клеток, их автономной пролиферации [9, 10, 12, 13, 14].

Полученные данные о модуляции клеточного цикла под действием пропионата сопоставимы с источниками литературы [3, 8]. J.K. Fauser и соавт. (2011) указывают на изменение кинетики клеточного цикла в культуре клеток аденокарциномы толстого кишечника под действием одной из короткоцепочечной жирных кислот – бутирата: G0/G1 блок. Причиной остановки клеток в фазе G0 авторы называют увеличение уровня ингибиторов циклин-зависимых киназ p21waf1/cip1 и p27kip1, обусловленное влиянием бутирата натрия [8]. Ю.Г. Зубова и соавт. (2005) объясняют изменение кинетики клеточного цикла под действием бутирата еще и снижением экспрессии циклинов D1, A E и циклинзависимых киназ Cdk2 и Cdk4 [3].

Под влиянием пропионовой кислоты в локусе предопухолевого поражения шейки матки и в парадиспластических биоптатах наблюдается однотипное изменение кинетики клеточного цикла: уменьшается доля G0-клеток на 15% и 14% соответственно ($p < 0,02$), а также снижается количество клеток, находящихся в фазе G2/M на 18,7% и 19,7% соответственно ($p < 0,02$). Доля S-клеток в обеих подгруппах выросла на 43% ($p < 0,02$).

Различия влияния пропионата на регуляцию клеточного цикла в клинических группах можно объяснить различной природой самих клеток, а также особенностями их метаболизма.

Выводы.

Таким образом, при инкубации клеток шейки матки с пропионовой кислотой независимо от их поражения или его отсутствия, удаленности от первичного опухолевого или диспластического очага наблюдается редукция числа CD45 негативных клеток. Пропионат обладает антипролиферативным эффектом на клетки цервикального эпителия при их малигнизации, дисплазии. Кроме того, СЗ обладает проапоптотическим действием, стимулируя апоптоз в очаге рака шейки матки, в локусе тяжелой цервикальной дисплазии, в парадис-, паранеопластических и здоровых клетках экзоцервикса. Наряду с этим, данная кислота модифицирует кинетику клеточного цикла в локусе опухолевого поражения и в клетках на границе с ним, формируя клеточные блоки, тем самым, создавая условия для гибели генетически нестабильных клеток. Характер действия СЗ определяется видовой принадлежностью клетки, особенностями ее метаболизма.

Литература:

1. Вуколов Э.А. Основы статистического анализа. Практикум по статистическим методам и исследованию операций с использованием пакетов STATISTICA и EXCEL: учебное пособие. – М. : ФОРУМ, 2014. – 464с.
2. Индукция клеточного старения ингибитором гистоновых деацетилаз бутиратом натрия в трансформантах грызунов, устойчивых к апоптозу / Ж.В. Шитикова [и др.] // Цитология. – 2011. – Том 53, №3. – 277-284.
3. Индукция программы ускоренного старения ингибитором гистоновых деацетилаз бутиратом натрия в нормальных и трансформированных фибробластах крысы / Ю.г. Зубова [и соавт.] // Цитология. – 2005. – №12. – С. 1055-1062.
4. Роль MEK/ERK пути в регуляции HDAC-индуцированного старения трансформированных эмбриональных фибробластов крысы / Е.Ю. Кочетова [и др.] // Цитология. – 2014. – Том 56, №8. 581-590.
5. Современные аспекты патогенеза доброкачественных и предраковых заболеваний шейки матки (обзор литературы) [Электронный ресурс] / И.П. Евтина [и др.] // Гинекология. – Том 12. – С. 431-447. – Режим доступа: WWW.MEDLINE.RU (май 2011).
6. Хышиктуев Б.С. Патогенетические аспекты участия жирных кислот в опухолевом процессе [Электронный ресурс] / Б.С. Хышиктуев, Е.В. Каюкова // Забайкальский медицинский вестник. – 2013. – № 2. – С. 166-181. – Режим доступа: <http://medacadem.chita.ru/zmv> (10 янв. 2011).
7. Acetylation and histone deacetylase inhibitors in cancer / S. Q. Madeleine [et al.] // Cellular Oncology. – 2003. – №2/. – P. 191-222.
8. Fatty acids as potential adjunctive colorectal chemotherapeutic agents / J.K. Fauser [et al.] // Cancer Biology & Therapy. – 2011. – №1. – P. 724-731.

9. Kawabe T. G2 checkpoint abrogators as anticancer drugs // *Mol Cancer Ther.* – 2004. – №3. – P. 513–519.
10. Kuntz K. The G(2) DNA damage checkpoint: could this ancient regulator be the Achilles heel of cancer? / K. Kuntz, M.J. O’Connell // *Cancer BiolTher.* – 2009. – №8. – P. 1433–1439.
11. Novel Chemotherapy using Histone Deacetylase Inhibitors in Cervical Cancer / N. Takai [et al.] // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.* – 2011. – Vol. 12. – P. 575-580.
12. Thompson R. The cancer therapeutic potential of Chk1 inhibitors: how mechanistic studies impact on clinical trial design / R. Thompson, A. Eastman // *Br J ClinPharmacol.* – 2013. – № 76(3). – P. 358–369.
13. Understanding the limitations of radiation-induced cell cycle checkpoints / D.Deckbar [et al.] // *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology.* – 2011. – №46(4). – P. 271–283.
14. vanVugt M. Cell cycle re-entry mechanisms after DNA damage checkpoints: Giving it some gas to shut off the breaks! / M. van Vugt, M.B. Yaffe // *Cell Cycle.* – 2010. – Vol. 9. – P. 2097-2101.
15. Yasutis K.M. Cell cycle checkpoint regulators reach a zillion / K.M.Yasutis, K.G. Kozminski // *Cell Cycle.* – 2013. – №12 (10). – P. 1501–1509.