

УДК 616.65-006.6-02:577.161.2(571.1)

*В.Л. Карапетян, Е.В. Степанова, А.Ю. Барышников, С.О. Никогосян, В.В. Кузнецов***ЭКСПРЕССИЯ МАРКЕРОВ АПОПТОЗА (P53, BCL-2, BAX)****И ИХ ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ****ПРИ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ ЯИЧНИКОВ РАННИХ СТАДИЙ***РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва***Контактная информация***Карапетян Виктория Лаертовна, соискатель отделения онкогинекологии НИИ клинической онкологии***адрес:** 115478, Москва, Каширское шоссе, 24; **тел.** +7(495)778-93-60;**e-mail:** [vikakarapetyan@mail.ru](mailto:vikakarapetyan@mail.ru)

Статья поступила: 16.01.2011, принята к печати 18.03.2011.

**Резюме**

Злокачественные эпителиальные опухоли яичников являются одной из основных причин смертности среди женщин. Расширение знаний о молекулярных маркерах и изучение экспрессии последних поможет прогнозировать течение заболевания и, соответственно, разработать оптимальную тактику дальнейшего лечения больных раком яичников ранних стадий. Большое внимание уделяется изучению маркеров, характеризующих апоптоз.

Иммуногистохимическим методом в ткани первичной опухоли 48 больных морфологически верифицированными злокачественными эпителиальными новообразованиями яичников было проведено изучение экспрессии белков *p53*, *Bcl-2*, *Bax*. Проанализированы корреляции значения экспрессии белков в зависимости от клинико-морфологических особенностей опухоли. Показано, что больные раком яичников ранних стадий с высокой экспрессией *p53* в первичной опухоли имеют неблагоприятный прогноз выживаемости.

**Ключевые слова:** рак яичников ранних стадий, белки *p53-mut*, *Bcl-2* и *Bax*, прогноз течения заболевания.*V.L. Karapetyan, E.V. Stepanova, A.Yu. Baryshnikov, S.O. Nikogosyan, V.V. Kuznetsov***EXPRESSION OF APOPTOSIS PROTEINS (P53, BCL-2, BAX)****AND THEIR PROGNOSTIC SIGNIFICANCE****IN EPITHELIAL OVARIAN TUMORS AT THE EARLY STAGES OF DISEASE***N.N. Blokhin Russian Cancer Research Centre of RAMS, Moscow***Abstract**

Malignant epithelial ovarian tumors are a major cause of mortality among women. Increased knowledge of the molecular markers and studying their expression can help predict the course of the disease, and accordingly develop the optimal tactics for further treatment of patients with ovarian cancer early stages. Much attention is paid to the study of markers that characterize apoptosis.

Immunohistochemical analysis of primary tumor tissue of patients verified morphologically malignant epithelial ovarian neoplasms. We have examined the expression of apoptotic proteins *p53*, *Bcl-2*, *Bax* and analyzed the correlation of protein expression depending on the clinical and morphological features of the tumor. Here we show that proteins with early stages ovarian cancer have a poor prognosis if the high expression of *p53* is observed in primary tumor.

**Key words:** ovarian cancer early stage, the protein *p53-mut*, *Bcl-2* and *Bax*, prognosis of disease.**Введение**

Злокачественные опухоли яичников – одна из актуальных проблем в клинической онкологии. РЯ занимает 4 место в структуре онкологических заболеваний органов женской репродуктивной системы, уступая по частоте раку молочной железы, эндометрия и шейки матки. При этом самое большое количество женщин, заболевших злокачественными опухолями половых органов, умирает от рака яичников (50–65 %) [7].

По сводным данным популяционных раковых регистров стран Европы, пятилетняя выживаемость больных этой категории не превышает 35 % [1].

Причинами высокой смертности больных злокачественными опухолями яичников являются бессимптомное течение заболевания на ранних стадиях, что приводит к позднему обращению больных к врачу и, следовательно, распознаванию патологии на поздних стадиях, а также низкая эффективность лечения при распространенной опухоли [4; 6].

Одним из наиболее интересных и перспективных направлений в диагностике злокачественных

опухолей является определение опухолевых маркеров. Определение различных маркеров в клетках опухоли или в жидкостях организма (в крови, асцитической жидкости, в моче, и т.д.) может давать дополнительную информацию о биологической особенности опухоли: о темпах ее роста, способности к инвазии и метастазированию, устойчивости к химиопрепаратам. Большое внимание уделяется изучению маркеров, характеризующих апоптоз [2].

Центральную роль в развитии апоптоза играет ген-супрессор опухолевого роста и соответствующий ему белок *p53* [5]. Мутации *p53* – самое частое генетическое нарушение при развитии злокачественных опухолей. Появление мутантных форм этого гена приводит к накоплению в опухолевых клетках неактивных форм белка, которые не могут выполнять функции нормального *p53* [16]. Мутации этого гена могут быть сопряжены с агрессивным течением заболевания и устойчивостью опухолевых клеток к воздействию противоопухолевых лекарств и лучевой терапии. [15; 17]. При РЯ, по данным различных исследователей, мутантный *p53* обнаруживается у 44–64 % больных [19].

Появление мутантного *p53* в ткани опухоли обнаруживается уже на ранних стадиях болезни [10; 11]. Однако при I–II стадиях РЯ мутантный *p53* выявляется значительно реже, чем при III–IV: 23 и 57 % соответственно [14]. Установлено также, что наиболее часто экспрессия мутантного *p53* наблюдается при серозной цистаденокарциноме (57,9 %), и сравнительно реже отмечается при эндометриоидной (25,6 %) и муцинозной аденокарциноме (22 %) [13].

Большое внимание уделяется изучению корреляции между экспрессией *p53* и выживаемостью больных РЯ [8; 21]. По данным многих авторов высокая экспрессия белка *p53* коррелирует с низкой общей выживаемостью [12; 22].

Таким образом, мутации *p53* нарастают при развитии РЯ или имеет место отбор *p53*-положительных опухолевых клеток, обеспечивающих агрессивное течение болезни, несмотря на проведение ХТ.

Наряду с *p53* наличием протеинов *Bcl* в настоящее время является одним из изученных факторов нарушения апоптоза в опухолевых клетках. Эти белки подавляют апоптоз в клетках злокачественной опухоли и принадлежат к большому семейству генов, продукты которых обладают как антиапоптотическим (например *Bcl-2*), так и проапоптотическим действием (*Bax* и др.). Показано, что гиперэкспрессия *Bcl-2* сообщает клеткам лекарственную устойчивость, а экспрессия *Bcl-2* в опухолевых клетках в целом рассматривается как неблагоприятный фактор прогноза. Экспрессию *Bcl-2* находят в 38–50 % случаев РЯ [18].

Проапоптотический белок *Bax* семейства *Bcl* является индуктором (промотором) апоптоза. Экспрессия *Bax* при РЯ обнаруживается у 24–62 % больных, чаще – при серозном РЯ. Наименьшая экспрессия отмечена в муцинозных (24 %) и эндометриоидных (37 %) опухолях [9; 20]. Показано, что степень экспрессии этих белков в опухолевых клетках в отдельности от экспрессии *Bcl-2* не является важным показателем степени злокачественности опухоли. Более достоверным показателем при этом является соотношение *Bcl-2* и *Bax* [3].

### Материалы и методы

Исследование выполнено на базе отделения хирургической гинекологии (зав. отделением, д.м.н., профессор Кузнецов В.В.) РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН совместно с лабораторией НИИ ЭДнТО (руководитель лаборатории д.м.н., профессор Барышников А. Ю.).

В исследование включено 48 больных злокачественными эпителиальными новообразованиями яичников I–II стадий, которые находились на лечении в РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Клинические исследования проведены у всех пациенток. После полного обследования больных проводили основные этапы комбинированного лечения.

У всех больных методами иммуногистохимии была оценена экспрессия белков *p53* мутантного типа, *Bcl-2* и *Bax*. Иммуногистохимический анализ проводили на срезах с парафиновых блоков опухолей, предназначенных для стандартного морфологического исследования.

Парафиновые срезы депарафинировали и регидратировали по стандартной методике. Для визуализации иммуногистохимической реакции использовали DAB<sup>+</sup> систему [DAKO]. Оценку результатов окрашивания проводили с применением светового микроскопа «Leica» (Германия) под увеличением  $\times 10$ ;  $\times 20$ ;  $\times 40$ . Для маркера оценивали локализацию

окрашивания в клетке (ядро, цитоплазма, мембрана). Количество положительных клеток оценивали в зонах, содержащих их максимальное количество.

В исследовании применяли следующие критерии оценки маркеров:

1. Опухоль считали отрицательной по *p53*, если в ткани опухоли отсутствовала ядерная реактивность с антителами или количество окрашенных клеток было менее 25 %; и положительной по *p53*, если было окрашено более 25 % ядер опухолевых клеток.
2. Опухоль считали отрицательной по *Bcl-2* или *Bax*, если в ткани опухоли отсутствовала цитоплазматическая реактивность с антителами или количество окрашенных клеток было менее 25 %; и положительной по *Bcl-2* или *Bax*, если было окрашено более 25 % опухолевых клеток.

Результаты иммуногистохимического исследования сопоставляли с клинико-морфологическими параметрами, характеризующими степень распространенности опухолевого процесса. Оценивали безрецидивную и общую выживаемость больных злокачественными опухолями в зависимости от стратегии лечения, клинико-морфологических факторов и значений исследованных нами молекулярно-биологических маркеров.

### Результаты

Экспрессия мутантного *p53* установлена в 16 из 48 наблюдений (33,3 %). Из них в 12 случаях новообразование имело строение серозной цистаденокарциномы, в 3 – эндометриоидной и только в одном случае – муцинозной аденокарциномы.

Минимальное значение экспрессии этого маркера в ткани опухоли составило 5 %, максимальное – 100 %.

Среднее значение экспрессии мутантного *p53* в ткани серозной цистаденокарциномы составил  $93,8 \pm 6,3$  % ( $n=12$ ), в ткани эндометриоидной карциномы –  $68,3 \pm 31,7$  % ( $n=3$ ), у одной пациентки в ткани муцинозной аденокарциномы содержание белка *p53* составило 100 %.

Экспрессия маркера *p53-mut* в опухолевой ткани имела место у 46,1 % больных серозной цистаденокарциномой, у 18,8 % – эндометриоидной и у 16,7 % – муцинозной аденокарциномой ( $p=0,044$ ), (рис. 1).

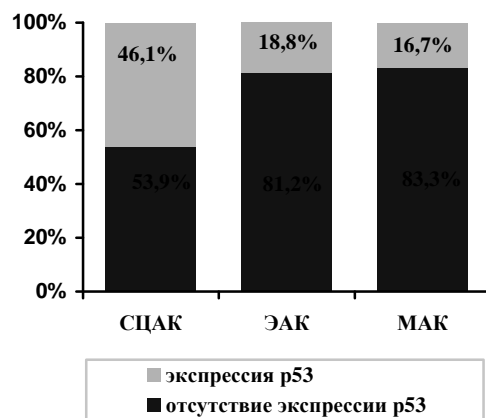


Рис. 1. Частота экспрессии мутантного *p53* в опухоли больных РЯ I–II стадий в зависимости от гистологической структуры опухоли.

Анализ показал, что в группе больных РЯ в сочетании с миомой матки случаи с мутантного p53 положительными опухолевыми клетками встречаются в 2 раза чаще (47,1 и 24,1 % соответственно,  $p>0,05$ ). Установлено также, что у больных серозной цистаденокарциномой яичников частота случаев с p53<sup>+</sup> клетками при наличии миомы матки составила 58,3 %. У пациенток, не имевших родов в анамнезе, экспрессия белка p53-mut в ткани опухоли наблюдалась в 11,1 % случаев, у тех женщин, которые рожали хотя бы один раз – в 39,4 % ( $p=0,041$ ). У больных с высокой ( $G_1$ ) степенью дифференцировки опухоли частота случаев с экспрессией белка p53 в опухолевых клетках составляла 25 %.

С умеренной ( $G_2$ ) – 36,4 %, с низкой ( $G_3$ ) – 35,3 % ( $p>0,05$ ). Средний размер опухоли в группе больных серозной цистаденокарциномой с экспрессией белка p53 в опухолевых клетках был незначительно выше ( $12,8\pm1,5$  и  $12,1\pm1,0$  см соответственно,  $p>0,05$ ).

Анализ отдаленных результатов лечения больных РЯ I–II стадий в зависимости от накопления мутантного белка p53 в ткани опухоли показал, что при наличии p53 все больные умерли в течение первых 6 лет, тогда как большинство (85%) пациенток с отсутствием белка пережили 10 лет после лечения ( $p>0,05$ ; табл. 1).

Таблица 1

Отдаленные результаты лечения больных РЯ I–II стадий в зависимости от экспрессии белка p53 в ткани опухолей

Экспрессия p53	n, абс.	Медиана, мес.	Общая выживаемость, %		
			3-летняя	5-летняя	10-летняя
Нет	32	не дост.	94,7 $\pm$ 5,1	85,3 $\pm$ 10,1	85,3 $\pm$ 10,1
Есть	16	69,0 $\pm$ 15,8	90,9 $\pm$ 8,7	72,7 $\pm$ 17,7	0

При анализе 5-летней безрецидивной выживаемости установили, что в группе больных с наличием белка p53 выживаемость и медиана составили: 39,5 $\pm$ 14,8 % и 33,0 $\pm$ 5,3 мес соответственно, тогда как в группе больных с отсутствием экспрессии белка p53 выживаемость составила 77,9 $\pm$ 10,0 %, а медиана не была достигнута ( $p=0,0042$ ).

Экспрессия белка Bcl-2 установлена только в 20 из 48 наблюдений (41,7 %). Из них в 11 (42,3 %) случаях новообразование имело строение серозной цистаденокарциномы, в 7 (43,75 %) – эндометриоидной аденокарциномы и в 2 (33,3 %) – муцинозной аденокарциномы ( $p>0,05$ ; рис. 2).

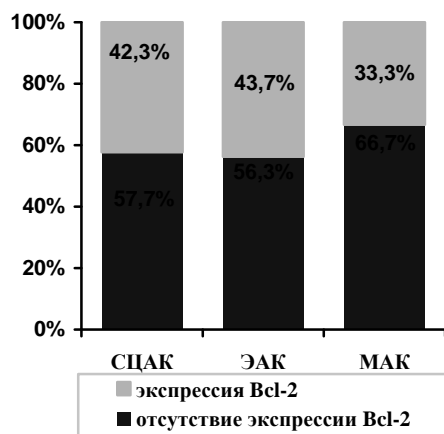


Рис. 2. Частота экспрессии Bcl-2 в опухоли больных РЯ I–II стадий в зависимости от гистологической структуры опухоли.

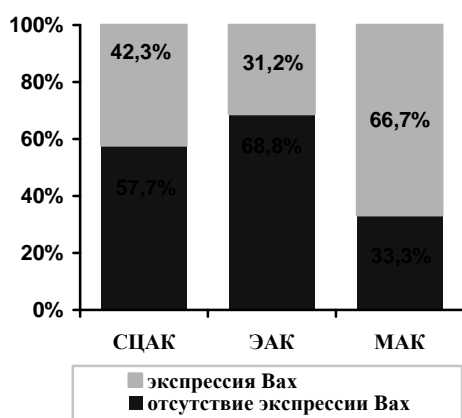
Экспрессия белка Bcl-2 выявлена в 42,3 % образцов серозной, 43,8 % – эндометриоидной и 33,3 % – муцинозной аденокарциномы ( $p>0,05$ ). Среднее значение его экспрессии в ткани серозной цистаденокарциномы составило 58,9 $\pm$ 11,7 % ( $n=11$ ), в ткани эндометриоидной карциномы – 62,9 $\pm$ 13,4 % ( $n=7$ ), у двух пациенток в ткани муцинозной аденокарциномы содержание Bcl-2 составило соответственно 50 % и 100 %. Статистические различия не выявлены ( $p>0,05$ ). Частота выявления белка Bcl-2 у пациенток с высокой степенью дифференцировки опухоли составила 40 % ( $n=8$ ), умеренной – 20 % ( $n=4$ ) и низкой – 40 % ( $n=8$ ) случаев ( $p=0,4$ ). У пациенток Ia,b стадий средний уровень экспрессии белка Bcl-2 в ткани опухоли составил 57,8 $\pm$ 11,8 % ( $n=10$ ), при Ic стадии – 45 $\pm$ 15 % ( $n=3$ ), при IIa,b стадии – 70 $\pm$ 17,9 % ( $n=5$ ), при IIc стадии – 65 $\pm$ 35 % ( $n=2$ ) ( $p>0,05$ ). Частота выявления белка Bcl-2 в каждой стадии равнялась соответственно 36,4 %, 22,2 %, 66,7 % и 22,2 %. Таким образом, у больных РЯ IIa,b стадии частота выявления и уровень экспрессии белка Bcl-2 были заметно выше, чем при I стадии. Следует отметить, что у больных серозной и эндометриоидной аденокарциномой при наличии ожирения частота случаев с экспрессией белка Bcl-2 составила 83,3 % ( $n=6$ ), у пациенток без ожирения 27,3 % ( $n=12$ ), различия достоверны ( $p=0,04$ ). Интересно, что у больных с Bcl-2 положительными клетками, максимальный размер опухоли в группах серозной и эндометриоидной цистаденокарциномой практически не различался и составил 13,8 $\pm$ 2,1 и 14,9 $\pm$ 0,3 см соответственно, тогда как у больных без экспрессии различия были выражены 11,8 $\pm$ 0,8 и 19,5 $\pm$ 2,7 см соответственно ( $p=0,003$ ). Нами обнаружено также, что у больных серозной и эндометриоидной формами аденокарциномы яичников содержание СА-125 в сыворотке крови заметно выше при экспрессии Bcl-2 в опухолевых клетках ( $p>0,05$ ; табл. 2).

Таблица 2

Зависимость уровня СА-125 от экспрессии Bcl-2

Гистологическая форма опухоли	Bcl-2	n	СА-125 МЕ/мл	
			Уровень	Медиана
СЦАК	Нет	15	395,7 $\pm$ 119,2	176,4
	Да	11	536,8 $\pm$ 370,1	218,7
ЭАК	Нет	9	381,3 $\pm$ 219,1	152,5
	Да	7	614,6 $\pm$ 277,9	391,8
МАК	Нет	4	21,5 и 41,0	31,3
	Да	2	27,0	–
Все различия не достоверны ( $p>0,05$ )				

Экспрессия белка Вах установлена только в 41,7 % наблюдений. Из них в 11 случаях новообразование имело строение серозной цистаденокарциномы, в 5 – эндометриоидной и в 4 – муцинозной аденокарциномы ( $p>0,05$ ), (рис. 3).



**Рис. 3.** Частота экспрессии Вах в опухоли больных РЯ I–II стадий в зависимости от гистологической структуры опухоли.

Уровень экспрессии Вах в тканях опухолей колебался от 15 до 100 %. Среднее значение Вах в ткани серозной аденокарциномы яичников составило  $71,3 \pm 10,5$  %, в эндометриоидной –  $86,0 \pm 14,0$  %, а в муцинозной аденокарциноме во всех образцах содержание Вах равнялось 100 % ( $p=0,27$ ).

Таким образом, Вах чаще экспрессируется клетками муцинозной аденокарциномы (66,7 %), более того, его экспрессия максимальна, то есть достигает 100 %. Установлено, что, независимо от гистологической формы РЯ, Вах редко экспрессируется опухолью умеренной ( $G_2$ ) степени дифференцировки – 9,1 %, сравнительно часто – клетками высокой ( $G_1$ ) 50 % и низкой ( $G_3$ ) 37,5 % степеней дифференцировки ( $p>0,05$ ).

### Литература

1. Аксель Е.М., Козаченко В.П., Ушакова Т.И. Статистика злокачественных опухолей яичника. – Современные экспериментальные и клинические подходы к диагностике и рациональному лечению рака яичников: Сборник статей, приуроченный к ЕШО / Под ред. В.А. Горбуновой. – М., 2001. – С. 4–9.
2. Барышников А.Ю., Шишкин Ю.В. Программированная клеточная смерть (апоптоз) // Российск. Онколог. Журнал. – 1996. – №1. – С. 58–61.
3. Белушкина Н.Н., Северин С.Н. Молекулярные основы патологии апоптоза // Архив патологии. – 2001. – Т. 63, № 1. – С. 51–60.
4. Жордания К.И. Злокачественные эпителиальные опухоли яичников // Современная онкология. – 2000. – Т. 2, № 2. – С. 14–22.
5. Копнин Б.П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза (обзор) // Биохимия. – 2000. – 65. – С. 5–33.
6. Нечаева И.Д. Опухоли яичников. – Л.: Медицина, 1987. – 215 с.
7. Урманчеева А.Ф., Мешкова И.Е. Вопросы эпидемиологии и диагностики рака яичников // Практическая онкология. – 2000. – № 4. – С. 7–13.
8. Anttila M., Kosma V., Hongxiu J. et al. p21/WAF1 expression as related to p53, cell proliferation and prognosis of ovarian cancer // Br. J. Cancer. – 1999. – 79. – P. 11–2.
9. Baekelandt M., Holm R., Nesland J. et al. Expression of apoptosis-related proteins is an independent determinant of patient prognosis in advanced ovarian cancers // J. Clin. Oncol. – 2000. – 18. – P. 3775–81.
10. Caduff R., Svoboda-Newman S., Ferguson A. et al. Comparison of mutations of Ki-ras and p53 immunoreactivity in borderline and malignant epithelial ovarian tumors // Am. J. Surg. Patol. – 1999. – 23(3). – P. 323–8.
11. Chan W., Cheung K., Huang L. et al. Bcl-2 and p53 protein expression, apoptosis, and p53 mutation in human epithelial ovarian cancers // Am. J. Pathol. – 2000. – 156(2). – P. 409–17.
12. de la Torre F.J., García A., Gil-Moreno A. et al. Apoptosis in epithelial ovarian tumours Prognostic significance of clinical and histopathologic factors and its association with the immunohistochemical expression of apoptotic regulatory proteins (p53, bcl-2 and bax) // Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. – 2007. – 130(1). – P. 121–8.
13. Dogan E., Saygili U., Tuna B. et al. p53 and mdm2 as prognostic indicators in patients with epithelial ovarian cancer: a multivariate analysis // Gynecol Oncol. – 2005. – 97(1). – P. 46–52.

Не выявлено связи между частотой выявления белка Вах в опухолевых клетках и другими клиническими факторами прогноза РЯ.

### Заключение

Таким образом, проведенные клиничко-молекулярные исследования показали, что экспрессия белков p53, Bcl-2 и Вах установлена в 33,3; 41,7 и 41,7 % образцов, независимо от гистологической структуры опухоли. По данным нашего исследования мутантный белок p53 почти в 3 раза чаще экспрессируется клетками серозной аденокарциномы яичников относительно эндометриоидной и муцинозной форм рака яичников. Анализ показал, что в группе больных РЯ, сопровождающихся миомой матки, случаи с мутантными p53<sup>+</sup> опухолевыми клетками встречаются в 2 раза чаще (47,1 % и 24,1 % соответственно,  $p>0,05$ ). У рожавших пациенток экспрессия белка p53 в ткани опухоли наблюдалась намного чаще (39,4 % случаев), чем у нерожавших (11,1 % случаев,  $p=0,041$ ). Анализ отдаленных результатов больных показал, что экспрессия мутантного белка p53 в ткани опухоли коррелирует с низкой 5-летней безрецидивной выживаемостью больных ( $39,5 \pm 14,8$  % против  $77,9 \pm 10,0$  %,  $p=0,0042$ ). Экспрессия Bcl-2 чаще отмечена у больных со II стадией РЯ, к тому же степень экспрессии маркера была самой высокой именно при этой стадии. Выраженная экспрессия белка Bcl-2 сочеталась с высоким уровнем СА-125 в сыворотке крови. Белок Вах чаще экспрессировался клетками муцинозной аденокарциномы (66,7 %), и именно при этой форме опухоли экспрессия Вах была максимальна и достигала 100 %. При этом анализ отдаленных результатов лечения больных в зависимости от экспрессии белков Bcl-2 или Вах не выявил достоверной прогностической значимости этих маркеров. Таким образом, накопление мутантного белка p53 в опухолевых клетках больных может рассматриваться как неблагоприятный прогностический фактор, а экспрессия белков Bcl-2 и Вах несет незначительную информацию при раке яичников начальных стадий.



14. Ferrandina G., Fagotti A., Salerno M. et al. p53 overexpression is associated with cytoreduction and response to chemotherapy in ovarian cancer // Br. J. Cancer. – 1999. – 81. – P. 733–40.
15. Freedman R.S., Platsoncas C.D. Immunotherapy for peritoneal ovarian carcinoma metastasis using ex vivo expanded tumorinfiltrating lymphocytes // Cancer Treat Res. – 1996. – 82. – P. 115–46.
16. Garzetti G., Giavattini A., Lucarini G. et al. Expression of vascular endothelial growth factor related to 72-kilodalton metalloproteinase immunostaining in patients with serous ovarian tumors // Cancer. – 1999. – 85(10). – P. 2219–25.
17. Ichinose Y., Yano T., Asoh H. et al. Intraoperative intrapleural hypotonic cisplatin treatment for carcinoma-tous pleuritis // J. Surg. Oncol. – 1997. – 66(3). – P. 196–200.
18. Korsmeyer S. bcl-2 initiates a new category of oncogenes regulators of cell death // Blood. – 1992. – 80. – P. 879–86.
19. Kupryjanczyk J., Dansonka-Mieszkowska A., Szymanska T. et al. Spontaneous apoptosis in ovarian carcinoma: a positive association with p53 gene mutation is dependent on growth fraction // Br. J. Cancer (Scotland). – 2000. – 82. – P. 579–83.
20. Marx D., Binder C., Meden H. et al. Differential expression of apoptosis associated genes bax and bcl-2 in ovarian cancer // Anticancer Res. – 1997. – 17(3). – P. 2233–40.
21. Nielsen J.S., Jakobsen E., Hølund B. et al. Prognostic significance of p53, Her-2, and EGFR overexpression in borderline and epithelial ovarian cancer // Int J Gynecol Cancer. – 2004. – 14(6). – P. 1086–96.
22. Skirnisdóttir I., Seidal T., Sorbe B. A new prognostic model comprising p53, EGFR, and tumor grade in early stage epithelial ovarian carcinoma and avoiding the problem of inaccurate surgical staging // Int. J. Gynecological Cancer. – 2004. – 14(2). – P. 259–70.

### ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В «РОССИЙСКОМ БИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОМ ЖУРНАЛЕ»

Работа может быть статьей экспериментального или клинического характера, теоретической или концептуальной, обзором по материалам литературы, рецензией, сообщением дискуссионного, исторического или хроникального характера, рефератом зарубежных работ.

Статьи экспериментального или клинического характера имеют разделы: **Резюме; Введение; Материалы и методы; Результаты и обсуждение; Выводы (Заключение); Литература.**

Обзоры литературы, статьи теоретического и концептуального характера имеют разделы: **Резюме; Введение; Разделы по отдельным обсуждаемым вопросам; Выводы; Литература.**

Статья должна быть представлена в виде файла формата RTF на дискете или CD и распечатана в 2 экземплярах. На внешней стороне дискеты или коробке CD должны быть указаны фамилия первого автора, названия статьи и файлов.

В основном файле должен содержаться текст статьи, таблицы, подписи и надписи к рисункам, список литературы. Кроме того, на дискете или CD должны быть записаны рисунки (каждый в виде отдельного файла).

Штриховые и тоновые рисунки (фотографии, рентгенограммы и т.д.), то есть растровая графика, должны быть сохранены в виде файлов формата TIF или JPEG, графики и диаграммы (векторная графика) – в виде файлов формата EPS. Если автор не работает с современными программными пакетами для создания векторной графики, можно прислать график в виде файла Microsoft Excel 5.0/95 с обязательным приложением в виде таблицы, по которой данный график построен.

Обзорные статьи не должны превышать 17 страниц, оригинальные статьи – 12 страниц.

Весь текст должен быть набран шрифтом Times New Roman 12 через полуторный интервал. Текст должен быть выровнен по левому краю.

Все страницы должны быть пронумерованы. Номер страницы должен быть расположен внизу справа, начиная со второй. Каждый абзац должен начинаться с красной строки, которая устанавливается меню «Абзац».

Не следует использовать для красной строки клавишу Tab. Десятичные дроби следует писать через запятую. При наборе текста следует различать дефис и тире. Последнее вводится одновременным нажатием клавиш Ctrl+Alt+дефис с дополнительной клавиатуры при горящем указателе Num Lock.

Набирая заголовки, названия разделов, таблиц, подписи и надписи на рисунках, точку в конце ставить не нужно.

(продолжение см. на стр. 50)