

УДК 616.441-006.6-018-037-053.2

НОВЫЕ ПАРАМЕТРЫ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗОБРАЖЕНИЙ ОПУХОЛЕВОГО ЛИМФАНГИОГЕНЕЗА: ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ КОМПЬЮТЕР-АССИСТИРОВАННОЙ МОРФОМЕТРИИ ПО ДАННЫМ ИССЛЕДОВАНИЯ 48 ПРЕПАРАТОВ ПАПИЛЛЯРНОГО РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДЕТСКОГО ВОЗРАСТА

М.В. Спринджук, А.П. Кончиц,

Национальная академия наук Беларуси, Объединенный институт проблем информатики, г. Минск, Беларусь

Спринджук Матвей Владимирович – e-mail: sprindzuk@tut.by

Цель исследования – выяснить возможность предсказания факта метастазирования в шейные лимфатические узлы по данным анализа изображений опухолевого ангиогенеза, с помощью линейной регрессии. Материалы – препараты папиллярного рака щитовидной железы (48 шт), окрашенные иммуногистохимическим маркером D2-40. Цифровые изображения были получены с помощью микроскопа Leica DMD 108. Оригинальная программа вычисляла 5 параметров изображений: относительную площадь лимфатических капилляров, однородность, долю крупных и мелких объектов, цветность. Статистический анализ выполнялся компьютерными программами StatPlus, Statistica 2009. Результаты. По результатам вычисления модели линейной регрессии, где параметры изображений были предикторами, а факт наличия метастазов в шейных лимфатических узлах – исходом, числовые значения доли мелких и крупных объектов оказались статистически значимыми (двусторонний $P = 0,0158$, 95% доверительные интервалы, $\Delta I = -10,417584$ до $1,13758$; $P = 0,0224$, 95% $\Delta I = -20,249792$ до $-1,619872$, соответственно). Заключение. В нашем исследовании наиболее адекватным параметром, полученным в результате анализа изображений опухолевого ангиогенеза, была относительная доля мелких объектов (ОДМО). Уравнение линейной регрессии имело следующий вид: наличие метастазов = $-5,777582 \times \text{ОДМО} + 5,980355$. Мы полагаем, что дальнейшие исследования должны быть направлены на изучение возможности параметров гистопатологических изображений, полученных с помощью программного обеспечения, предсказывать клинко-лабораторное состояние пациентов, что может иметь реальную практическую ценность и откроет новые пути понимания опухолевого ангио- и лимфангиогенеза.

Ключевые слова: ангиогенез, лимфангиогенез, рак щитовидной железы, опухоли, карцинома, плотность микрососудов, обработка изображений, программное обеспечение.

The objective of investigation was to elucidate the capability of the image processing using the original software, to predict the occurrence of regional lymphatic metastases in 48 sporadic thyroid cancer patients. The materials for the study were frozen pediatric thyroid tumors stained with D2-40 immuno-marker. The developed software produced 5 image parameters, represented as digits: the relative area occupied by the vessels; homogeneity of distribution of a network in space; relative part of small objects of vessels; relative part of large vessels; average value of chromaticity of the lymphatic vessels. We applied StatPlus and Statistica software packages (free trial versions) for statistical calculations. According to the calculation of the simple linear regression model, only two image parameters were statistically significant as predictors for the outcome, which was the occurrence of the regional lymphatic metastases. These were the relative part of small objects of vessels and the relative part of large vessels [Two-sided $P = 0,0158$, 95% confidence intervals (CI) = $-10,417584$ to $1,13758$; $P = 0,0224$, 95% CI = $-20,249792$ to $-1,619872$, respectively]. We suggest that the image processing techniques, based on computer-aided histomorphometry, can be a valuable tool for the outcome prediction mathematical models in the sphere of lymphangiogenesis research and elsewhere.

Key words: angiogenesis, lymphangiogenesis, thyroid gland cancer, tumor, carcinoma, density of microvessels, image processing software.

Введение

Морфометрические методы исследования широко популярны в медицине, классические русскоязычные труды в этой области принадлежат профессору Г.Г. Автандилову [1–4]. Он и является автором нередко применяемой измерительной окулярной сетки, которая чаще применяется для количественной оценки половых клеток. Аналог этого инструмента – сетка-гратула Chalkley [5–15] (eueriece, graticule). Микроскопическая патоморфология ангиогенеза (роста капилляров из уже сформированных таковых), а также васкулогенеза лимфатических капилляров до сегодняшнего времени оставались малоизученными по причине отсутствия надежных иммунохимических маркеров. Имеются единичные сообщения об изучении патоморфологии лимфангиогенеза в щитовидной железе [16–24]. Наше исследование ставило целью заполнить промежуток отсутствия исследований компьютер-ассистированной морфометрии лимфангиогенеза рака щитовидной железы, болезни, которая, как известно, характерна для пост-Чернобыльских территорий.

Материалы и методы

Исследование выполнялось по материалам Онкологического диспансера г. Минска в течение 13 месяцев с 2009 по 2010 год.

Критерии включения пациентов в исследование были следующие (рис. 1–4):

1. Дети были рождены позднее 1987 года.
2. Все имели диагноз спорадического папиллярного рака щитовидной железы (на основании тонкоигольной биопсии и обследования удаленной опухоли).
3. Возраст варьировал от 4 до 18 лет.
4. У всех пациентов не было никакой явной врожденной болезни и значительных сопутствующих патологий развития.

Препараты были приготовлены из хирургически удаленных опухолей (папиллярного рака щитовидной железы) пациентов. Образцы опухолей хранились в замороженном виде.

Использовалось специально разработанное программное обеспечение, которое обрабатывало изображения и считало 5 параметров: относительную площадь, занимаемую сосудами; однородность распределения сети в пространстве; относительную долю мелких объектов сосудов (шума); относительную долю крупных сосудов; среднее значение цветности выделяемых сосудов.

Программное обеспечение было написано на Delphi (то есть, фактически, объектно-ориентированном Паскале) для операционной системы Windows. Ключевая функция программного обеспечения – вычисление покрашенной коричневым цветом области гистологического изображения. Изображения были получены при помощи микроскопа «Leica DMD 108» с операционной системой Linux. Снимки были получены вручную, без сканера, 150 изображений, которые в основном визуально соответствовали области максимальной васкуляризации по зрительному оценочному решению одного исследователя, как квадрат на увеличении $\times 40$, а затем сняты $\times 200$. После этого были отобраны изображения, исключительно содержащие околоопухолевую зону (3–25 шт.).

Все изображения были сохранены в формат Tiff, приемлемый для программного обеспечения.

Программное обеспечение произвело список числовых величин, который был импортирован в таблицу Excel. Статистическое исследование выполнялось преимущественно программным пакетом Statistica. Его концепция заключалась в модели простой линейной регрессии, где параметрам изображений придавалось значение предсказательных факторов, а факту наличия метастазов – исхода. Значение относительной ошибки Р считалось статистически значимым, если было менее 0,05.

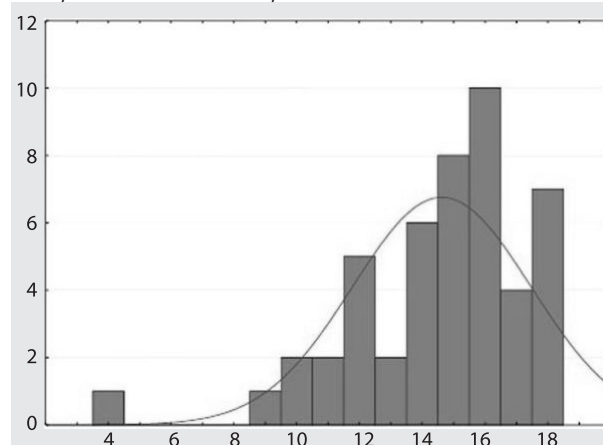


РИС. 1.
Диаграмма возраста исследуемых больных.
По оси у – число наблюдений.

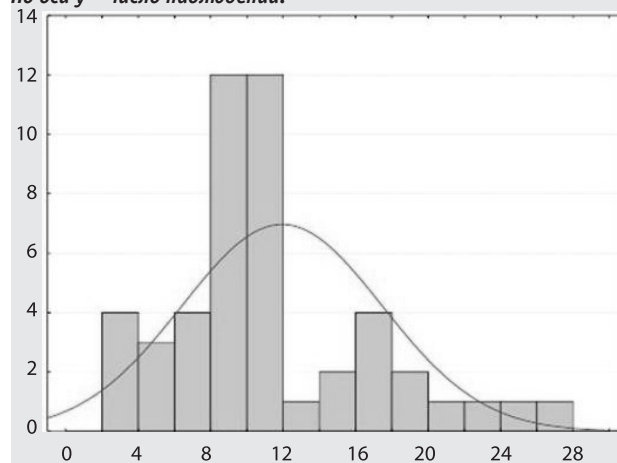
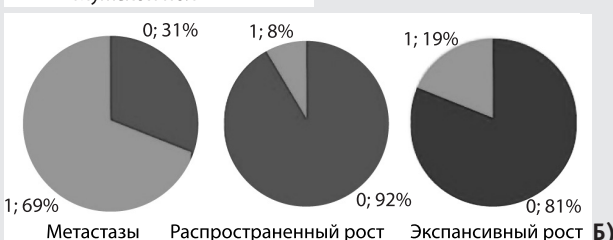
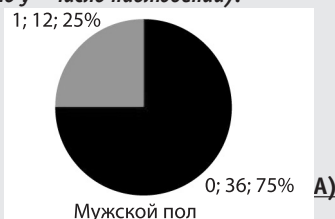


РИС. 2.
График преобладания размеров опухолей (по оси х – в мм, по у – число наблюдений).



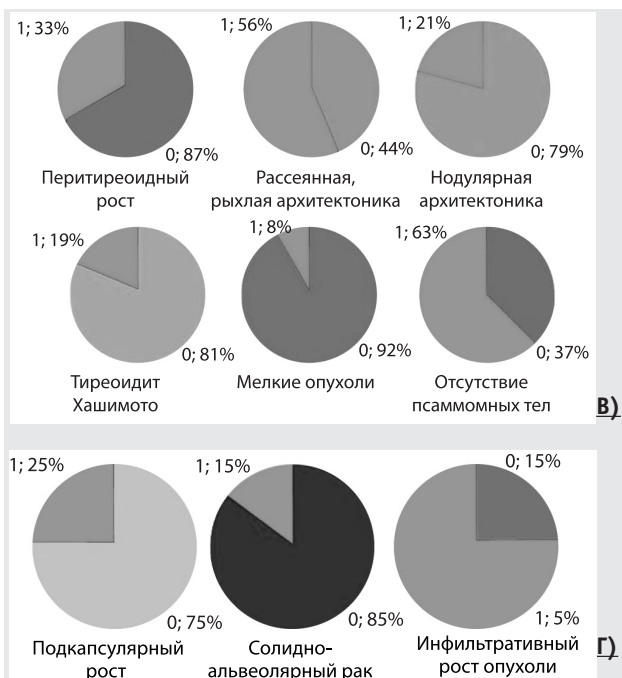


РИС. 4.
Клинико-морфологическая характеристика исследуемой группы пациентов.

На всех рисунках зеленым цветом выделяется наличие признака (1), а другими – его отсутствие (0).

Результаты исследования

Только для двух числовых характеристик изображений модель линейной регрессии показала статистически значимые результаты. Этими параметрами были: относительная доля мелких объектов сосудов, шума (ОДМО) и относительная доля крупных сосудов (ОДКО). Таким образом, мы получили два уравнения, образующие формулу предсказания локального лимфатического метастазирования:

$$\begin{aligned} \text{наличие метастазов} &= -5,777582 \times \text{ОДМО} + 5,980355 \quad (1); \\ \text{наличие метастазов} &= -10,934832 \times \text{ОДКО} + 11,286063 \quad (2). \end{aligned}$$

Подробная характеристика применяемой статистической модели приведена в таблице.

ТАБЛИЦА.
Параметры модели простой линейной регрессии

Статистические параметры модели	Линейная регрессия для ОДМО	Линейная регрессия для ОДКО
Стандартная ошибка (наклона)	2,305	4,628
95% ДИ для популяционного значения наклона	-10,417584 до -1,13758	-20,249792 до -0,069329
95% ДИ для t (трансформированное число z Фишера)	-0,574 до -0,069329	-0,560719 до -0,049493
t для значения степени свободы = 46	-2,506	-2,363
Двусторонний P	0,016	0,022
Сила (для 5% значимости)	67,13%	62,21%
Общий результат	Коэффициент корреляции значительно отличается от нуля	Коэффициент корреляции значительно отличается от нуля

Обсуждение

Публикаций по теме лимфангиогенеза и лимфогенного метастазирования опухолей щитовидной железы немного [16–40]. Движущая сила научного продвижения этой области – недавнее появление лимфатических маркеров; среди них D2-40, который применялся в нашем исследовании (рис. 5). Антитело D2-40 первоначально реагирует с О-связанным гликопротеином, экспрессирующимся на лимфатическом эндотелии, эмбриональном яичке и опухолях яичек.

На сегодняшний день считается, что основные биохимические факторы развития лимфангиогенеза любой локализации – сосудистые эндотелиальные факторы роста (C, D, A, в порядке значения). Неизвестны механизмы увеличения ФРЭС (фактора роста эндотелия сосудов) и природа молекул, выполняющих активацию существующего лимфатического эндотелия, вызывающего увеличение размера опухоли с последующей продукцией митогенных и хемотаксических факторов или альтераций лимфатического эндотелия. Hall [41] и сотрудники (2003) были первыми, кто исследовал морфологические особенности опухолевой лимфатической сети у больных, имеющих папиллярные карциномы щитовидной железы. В исследовании, используя LYVE-1 (Lymphatic vessel endothelial hyaluronan рецептор) как маркер, сетки Chalkley для подсчета сосудов, высокая ПЛК (плотность лимфатических капилляров) была связана с наличием региональных метастазов лимфатического узла. Однако, наличие внутриопухолевого лимфангиогенеза не было значительным предиктором рецидива опухоли ($P=0,42$). Интересно, что эксперимент Cheong [42, 43] и соавторов (2010) не показал значительных различий в плотности лимфатических и кровеносных капилляров сосочковых карцином щитовидной железы и микрокарцином (<1 см в размере). Однако, более высокая ПЛК отмечалась у больных старше, чем 45 лет (более четко в группе крупных карцином), и имеющих мультицентриальность с экстратиреоидным распространением. Мультицентриальность была определена как наличие дополнительных фокусов опухоли, состоящих из нескольких несмежных с первичной опухолью участков. Экстратиреоидное распространение было определено как прорастание опухоли вне капсулы, окружающей мягкие ткани железы.

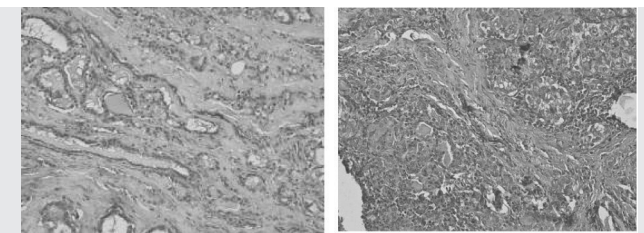
Классическим морфометрическим параметром оценки сети лимфатических капилляров является их площадь, прокрашенная диагностическим маркером [44–51]. В нашем исследовании применены новые параметры изображений. Как оказалось, доля мелких и крупных объектов характеризует морфологию сети лимфатических сосудов более подробно, чем просто площадь прокрашенного, и выявляет свою прогностическую ценность. Новые параметры изображений позволяют классифицировать морфологию ангиогенеза и выделять подгруппы морфологических паттернов.

Выводы и заключения

Впервые предложена простая математическая модель предсказания факта образования региональных лимфатических метастазов по данным компьютеризированной морфометрии опухолевого лимфангиогенеза. Можно предположить, что такой подход может быть применен к опухолям любой локализации. Безусловно, более достоверно доказать эти закономерности можно только проведя широкомасштабные многоцентровые исследования, реальность

выполнения которых в условиях современного экономического кризиса маловероятно.

Работа выполнена в рамках проектов CRDF-4028 и МНТЦ-1682.



А) Б)

РИС. 5.

(а, б). Классические примеры папиллярного рака щитовидной железы, препараты окрашены гематоксилином, эозином и маркером D2-40. Лимфатические сосуды на изображениях выделяются коричневым цветом (x200).

ЛИТЕРАТУРА

1. Avtandilov G.G. Information characteristic of morphology of the adaptational norm, disadaptation, and pathology under the aspect of diagnostic microscopy. Gegenbaurs Morphol Jahrb. 1989. № 135 (1). P. 169-171.
2. Avtandilov G.G., Sorokina M.V. Use of multifactor mathematical modeling in studying the geographical pathology of human malignant tumors. Vopr Onkol. 1980. № 26 (12). P. 64-68.
3. Avtandilov G.G. Philosophical aspects of probability principles in the study of human pathology. Arkh Patol. 1975. № 37 (4). P. 3-10.
4. Avtandilov G.G. Perspectives in microspectrophotometric studies in pathology. Arkh Patol. 1970. № 32 (9). P. 3-12.
5. Ng L., Beer T.W., Murray K. Vascular density has prognostic value in Merkel cell carcinoma. Am J Dermatopathol. 2008. № 30 (5). P. 442-445.
6. Fox S.B. Quantitative angiogenesis in breast cancer. Methods Mol Med. 2006. № 120. P. 161-187.
7. Reed A.A., Joyner C.J., Brownlow H.C., Simpson A.H. Human atrophic fracture non-unions are not avascular. J Orthop Res. 2002. № 20 (3). P. 593-599.
8. Edwards J.G., Cox G., Andi A., Jones J.L., Walker R.A., Waller D.A., O'Byrne K.J. Angiogenesis is an independent prognostic factor in malignant mesothelioma. Br J Cancer. 2001. № 85 (6). P. 863-868.
9. Offersen B.V., Pfeiffer P., Hamilton-Dutoit S., Overgaard J. Patterns of angiogenesis in non-small-cell lung carcinoma. Cancer. 2001. № 91 (8). P. 1500-1509.
10. Chaudhary R., Bromley M., Clarke N.W., Betts C.D., Barnard R.J., Ryder W.D., Kumar S. Prognostic relevance of micro-vessel density in cancer of the urinary bladder. Anticancer Res. 1999. № 19 (4C). P. 3479-3484.
11. Decaussin M., Sartelet H., Robert C., Moro D., Claraz C., Brambilla C., Brambilla E. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its two receptors (VEGF-R1-Flt1 and VEGF-R2-Flk1/KDR) in non-small cell lung carcinomas (NSCLCs): correlation with angiogenesis and survival. J Pathol. 1999. № 188 (4). P. 369-377.
12. Fox S.B., Turner G.D., Leek R.D., Whitehouse R.M., Gatter K.C., Harris A.L. The prognostic value of quantitative angiogenesis in breast cancer and role of adhesion molecule expression in tumor endothelium. Breast Cancer Res Treat. 1995. № 36 (2). P. 219-226.
13. Dickinson A.J., Fox S.B., Persad R.A., Hollyer J., Sibley G.N., Harris A.L. Quantification of angiogenesis as an independent predictor of prognosis in invasive bladder carcinomas. Br J Urol. 1994. № 74 (6). P. 762-766.
14. Fox S.B., Leek R.D., Smith K., Hollyer J., Greenall M., Harris A.L. Tumor angiogenesis in node-negative breast carcinomas--relationship with epidermal growth factor receptor, estrogen receptor, and survival. Breast Cancer Res Treat. 1994. № 29 (1). P. 109-116.
15. Engels K., du Bois A., Harter P., Fisseler-Eckhoff A., Kommoss F., Stauber R., Kaufmann M., Nekljudova V., Loibl S. VEGF-A and i-NOS expression are prognostic factors in serous epithelial ovarian carcinomas after complete surgical resection. J Clin Pathol. 2009. № 62 (5). P. 448-454.
16. Scarpino S., Di Napoli A., Melotti F., Talerico C., Cancrini A., Ruco L. Papillary carcinoma of the thyroid: low expression of NCAM (CD56) is associated with downregulation of VEGF-D production by tumour cells. J Pathol. 2007. № 212 (4). P. 411-419.

17. Furtado G.C., Marinkovic T., Martin A.P., Garin A., Hoch B., Hubner W., Chen B.K., Genden E., Skobe M., Lira S.A. Lymphotoxin beta receptor signaling is required for inflammatory lymphangiogenesis in the thyroid. Proc Natl Acad Sci USA. 2007. № 104 (12). P. 5026-5031.
18. de la Torre N.G., Buley I., Wass J.A., Turner H.E. Angiogenesis and lymphangiogenesis in thyroid proliferative lesions: relationship to type and tumour behaviour. Endocr Relat Cancer. 2006. № 13 (3). P. 931-944.
19. Liang Q.C., Wei Q.Y., Fan S.Q. Expression of VEGF-C and angiogenesis, and lymphangiogenesis in papillary thyroid carcinoma. Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2006. № 31 (3). P. 414-416, 419.
20. Nakamura Y., Yasuoka H., Zuo H., Takamura Y., Miyauchi A., Nakamura M., Kakudo K. Nitric oxide in papillary thyroid carcinoma: induction of vascular endothelial growth factor D and correlation with lymph node metastasis. J Clin Endocrinol Metab. 2006. № 91 (4). P. 1582-1585.
21. Yu X.M., Lo C.Y., Chan W.F., Lam K.Y., Leung P., Luk J.M. Increased expression of vascular endothelial growth factor C in papillary thyroid carcinoma correlates with cervical lymph node metastases. Clin Cancer Res. 2005. № 11 (22). P. 8063-8069.
22. Jiang H.G., Gao M., Tang W.P., Li F.H., Cai Q.Z. Expression and significance of VEGF, VEGF-C, and VEGF-D in papillary thyroid carcinoma. Ai Zheng. 2005. № 24 (9). P. 1136-1139.
23. Giorgadze T.A., Baloch Z.W., Pasha T., Zhang P.J., Livolsi V.A. Lymphatic and blood vessel density in the follicular patterned lesions of thyroid. Mod Pathol. 2005. № 18 (11). P. 1424-1431.
24. Yasuoka H., Nakamura Y., Zuo H., Tang W., Takamura Y., Miyauchi A., Nakamura M., Mori I., Kakudo K. VEGF-D expression and lymph vessels play an important role for lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma. Mod Pathol. 2005. № 18 (8). P. 1127-1133.
25. Koo B.S., Lim H.S., Lim Y.C., Yoon Y.H., Kim Y.M., Park Y.H., Rha K.S. Occult contralateral carcinoma in patients with unilateral papillary thyroid microcarcinoma. Ann Surg Oncol. 2010. № 17 (4). P. 1101-1105.
26. Koo B.S., Seo S.T., Lee G.H., Kim J.M., Choi E.C., Lim Y.C. Prophylactic lymphadenectomy of neck level II in clinically node-positive papillary thyroid carcinoma. Ann Surg Oncol. 2010. № 17 (6). P. 1637-1641.
27. Koo J.S., Kwak J.Y., Jung W., Hong S. Importance of foamy macrophages only in fine needle aspirates to cytologic diagnostic accuracy of cystic metastatic papillary thyroid carcinoma. Acta Cytol. 2010. № 54 (3). P. 249-254.
28. Macdonald K.I., Taylor S.M., Cavanagh J., Trites J.R., Bullock M.J., Hart R.D. Level VI node size as a predictor of malignancy in papillary thyroid cancer. J Otolaryngol Head Neck Surg. 2010. № 39 (2). P. 136-141.
29. Martino A., Monaco L., Golia R., Miletto P., Capasso P., Lombardi C., De Chiara G., Iannace C., Basagni C., Caracciolo F. A new radioguided procedure for localization and surgical treatment of neck node metastasis of papillary thyroid cancer. J Endocrinol Invest. 2010. № 33 (5). P. 339-342.
30. Mitchell J.C., Parangi S. Angiogenesis in benign and malignant thyroid disease. Thyroid. 2005. № 15 (6). P. 494-510.
31. Salter K.D., Andersen P.E., Cohen J.I., Schuff K.G., Lester L., Shindo M.L., Sauer D., Gross N.D. Central nodal metastases in papillary thyroid carcinoma based on tumor histologic type and focality. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 2010. № 136 (7). P. 692-696.
32. Vergez S., Sarini J., Percodani J., Serrano E., Caron P. Lymph node management in clinically node-negative patients with papillary thyroid carcinoma. Eur J Surg Oncol. 2010. № 36 (8). P. 777-782.
33. Wang W., Wang H., Teng X., Mao C., Teng R., Zhao W., Cao J., Fahey T.J., 3rd, Teng L. Clonal analysis of bilateral, recurrent, and metastatic papillary thyroid carcinomas. Hum Pathol. 2010. № 41 (9). P. 1299-1309.
34. Yuce I., Cagli S., Bayram A., Karasu F., Guney E. Regional metastatic pattern of papillary thyroid carcinoma. Eur Arch Otorhinolaryngol. 2010. № 267 (3). P. 437-441.
35. Al-Saif O., Farrar W.B., Bloomston M., Porter K., Ringel M.D., Kloos R.T. Long-term efficacy of lymph node reoperation for persistent papillary thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab. 2010. № 95 (5). P. 2187-2194.
36. Baek S.K., Jung K.Y., Kang S.M., Kwon S.Y., Woo J.S., Cho S.H., Chung E.J. Clinical risk factors associated with cervical lymph node recurrence in papillary thyroid carcinoma. Thyroid. 2010. № 20 (2). P. 147-152.
37. French J.D., Weber Z.J., Fretwell D.L., Said S., Klopfer J.P., Haugen B.R. Tumor-associated lymphocytes and increased FoxP3+ regulatory T cell frequency correlate with more aggressive papillary thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab. 2010. № 95 (5). P. 2325-2333.

38. Hung C.J., Ginzinger D.G., Zarnegar R., Kanauchi H., Wong M.G., Kebebew E., Clark O.H., Duh Q.Y. Expression of vascular endothelial growth factor-C in benign and malignant thyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003. № 88 (8). P. 3694-3699.
39. Kaneko K., Abe K., Baba S., Tanabe Y., Yabuuchi H., Hatakenaka M., Sasaki M., Honda H. Can calcification predict 131I accumulation on metastatic lymph nodes in papillary thyroid carcinoma patients receiving 131I therapy? Comparison of CT, 131I WBS and 18F-FDG PET/CT. *Eur Radiol.* 2010. № 20 (2). P. 477-483.
40. Klein M., Catargi B. VEGF in physiological process and thyroid disease. *Ann Endocrinol. Paris.* 2007. № 68 (6). P. 438-448.
41. Hall F.T., Freeman J.L., Asa S.L., Jackson D.G., Beasley N.J. Intratumoral lymphatics and lymph node metastases in papillary thyroid carcinoma. *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery.* 2003. № 129 (7). P. 716-719.
42. Cheong H., Kang H., Kim H.K., Bae J.Y., Song D.E., Cho M.S., Sung S.H., Han W.S., Koo H. Microvessel and Lymphatic Vessel Density and VEGFR-3 Expression of Papillary Thyroid Carcinoma with Comparative Analysis of Clinicopathological Characteristics. *Korean Journal of Pathology.* 2010. № 44 (3). P. 243-251.
43. Koo H., Cheong H. Microvessel and lymphatic vessel density and VEGFR-3 expression of papillary carcinoma of thyroid gland. *Virchows Archiv.* 2009. № 455. P. 379-380.
44. Matsumoto N., Mukae S., Tsuda H., Sawada A., Okazaki Y., Nagai K., Akishima-Fukasawa Y., Ohki H., Ishikawa Y., Ishii T. et al. Prognostic value of LYVE-1-positive lymphatic vessel in tongue squamous cell carcinomas. *Anticancer Res.* 2010. № 30 (6). P. 1897-1903.
45. van Niekerk C.G., Hulsbergen-van de Kaa C.A., Barentsz J.O., Witjes J.A., van der Laak J.A. Quantitative analysis of lymph vessel characteristics in organ confined prostate cancer. *Prostate.* 2010. Abstract published online.
46. Goyal S., Chauhan S.K., El Annan J., Nallasamy N., Zhang Q., Dana R. Evidence of corneal lymphangiogenesis in dry eye disease: a potential link to adaptive immunity? *Arch Ophthalmol.* 2010. № 128 (7). P. 819-824.
47. Chen D., Zheng J., Li H., Wang Q., Jiao X. Computer-assisted morphometric analysis of lymphatic vessel changes in hamster tongue carcinogenesis. *J Oral Pathol Med.* 2010. № 39 (7). P. 518-524.
48. Girling J.E., Donoghue J.F., Lederman F.L., Cann L.M., Achen M.G., Stacker S.A., Rogers P.A. Vascular endothelial growth factor-D over-expressing tumor cells induce differential effects on uterine vasculature in a mouse model of endometrial cancer. *Reprod Biol Endocrinol.* 2010. № 8. P. 84.
49. Heindl L.M., Hofmann-Rummelt C., Adler W., Holbach L.M., Naumann G.O., Kruse F.E., Cursiefen C. Tumor-associated lymphangiogenesis in the development of conjunctival squamous cell carcinoma. *Ophthalmology.* 2010. № 117 (4). P. 649-658.
50. Garcia E.A., Simoes K., Wakamatsu A., Ressio R.A., Alves V.A., Longatto-Filho A., Camargo R.S. Lymphatic vessel density and VEGF-C expression are significantly different among benign and malignant thyroid lesions. *Endocr Pathol.* 2010. № 21 (2). P. 101-107.
51. Zhang L., Yankelevitz D.F., Henschke C.I., Reeves A.P., Vazquez M.F., Carter D. Variation in vascular distribution in small lung cancers. *Lung Cancer.* 2010. № 68 (3). P. 389-393.

