

Возможные механизмы устойчивости опухолевых клеток к лучевой и химиотерапии

В. А. Зинченко, Л. И. Чащина

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
Ул. Академика Заболотного, 150, Киев, 03143, Украина

E. mail: Solomko@imbg.org.ua

Обзор посвящен анализу данных о роли химических и физических факторов в формировании химио- и радиорезистентности опухолевых клеток. Результаты исследований свидетельствуют о том, что многие биологические процессы, такие как модуляция апоптоза, активация каспаз, амплификация гена MDR-1, являются основой формирования устойчивости к химиотерапии. Проанализированы некоторые морфологические и биохимические особенности развития в опухолевых клетках вторичной радиорезистентности и рассмотрены возможные пути ее преодоления.

Ключевые слова: опухолевая клетка, радиорезистентность, химиорезистентность, Р-гликопротеин, апоптоз.

Резистентность злокачественных опухолей как к противоопухолевым препаратам, так и к воздействию радиационного и других физических факторов составляет одну из актуальных проблем клинической и экспериментальной онкологии. Резистентность формируется в виде совокупности специфических и неспецифических, обратимых и необратимых метаболических, структурных, функциональных, генетических и иных изменений, возникших в определенные сроки после воздействия на бластому, и рассматривается как приспособительная реакция. Особое место в этой проблеме занимает не только изначально существующая резистентность опухолевых клеток, а и способность их приобретать устойчивость к противоопухолевым агентам в процессе лечения.

Некоторые авторы считают, что по мере сокращения размеров опухоли увеличивается доля остаточных опухолевых клеток, которые могут быть устойчивыми к примененному воздействию [1]. Уменьшенные в размере опухоли становятся более стойкими к воздействию, нежели до проведения терапии. Можно оценивать появление резистентно-

сти, наблюдая за ответом опухоли на применение лечебного агента. Когда скорость наступления эффекта замедляется и параллельно возникает резистентность, целесообразно сменить схему терапии на ранее не использованную, к которой в опухоли не могла развиваться чувствительность [2].

Несмотря на то, что практической онкологии известны многочисленные случаи полной девитализации злокачественных новообразований, существует мнение [3], что противоопухолевые препараты ни при какой дозировке не способны уничтожить все опухолевые клетки. Становится все более очевидным, что одним из основных препятствий для успешной химиотерапии злокачественных опухолей является гетерогенность популяции неопластических клеток, для которой характерно присутствие клонов клеток, резистентных к химиотерапевтическим агентам. Осложняет положение и генетическая нестабильность опухолевых клеток, которые, имея высокий уровень спонтанных мутаций, легко подвергаются мутагенному воздействию химиопрепаратов и продуктов их метаболизма. Это в значительной мере усиливает гетерогенность опухолевой популяции, способствует генерации еще

большого числа резистентных к химиотерапии клонов, усиливает их способность к метастазированию и рецидивированию на фоне продолжающейся химиотерапии [4]. Мутация опухолевых клеток приводит к образованию внутри одной опухоли нескольких гетерогенных клеточных популяций. Клеточная гетерогенность имеет важное значение при девитализации опухолей. Существует закономерность: чем больше размеры и клеточная гетерогенность опухоли, тем вероятнее она оказывается резистентной к химиотерапевтическим препаратам [5]. Показано, что гетерогенность клеточной популяции, обусловленная различиями митотического индекса материнской и дочерних клеток, вызывает автоселективные явления в популяции [6].

Однако не только гетерогенность популяции неопластических клеток является препятствием для успешной девитализации опухолей. Существует ряд механизмов и закономерностей, снижающих эффект лечения онкологических больных. Изучение механизмов резистентности клеток злокачественных новообразований к химиотерапии важно для практической онкологии, поскольку с ней связаны неудачи в лечении blastom. Низкая эффективность терапии может быть обусловлена как изменениями в опухолевых клетках, так и тем, что препараты не доходят до клетки в форме, необходимой для полной девитализации. Поэтому проблемой химиорезистентности (ХР) занимаются многочисленные исследователи [7—9].

Для эффективной девитализации опухолевых клеток химиопрепараты должны проникнуть в клетку, связаться с определенной молекулой-мишенью и запустить процесс клеточной гибели. Каждый из этих этапов может блокироваться в опухоли за счет отбора тех клеточных клонов, в которых произошли генетические изменения — мутации. Трансформированная клетка может приобрести способность химически преобразовывать цитостатики таким образом, чтобы они перестали быть для нее токсичными, или снижать содержание молекул-мишеней в цитоплазме [10]. Все эти защитные механизмы клетки направлены на сохранение ее жизнеспособности, т. е. формирования устойчивости к девитализирующим факторам.

О сложности и противоречивости цитокинетических изменений, происходящих в клетках линии K562, резистентных к производным ряда хинолина, сообщается в публикации Чекмасовой [11]. Автор указывает на то, что обработка клеток большого

количества постоянных линий, в том числе опухолевых, некоторыми химическими и/или биологическими агентами (от органических растворителей до ростовых факторов), с одной стороны, приводит к появлению фенотипических признаков дифференцировки, а с другой, — использование дифференцирующих агентов в клинической практике индуцирует в опухолевых клетках возникновение фенотипа множественной лекарственной устойчивости (МЛУ), что является основной причиной неэффективности применения многих цитостатиков и появления резистентного к индуктору клона.

МЛУ — это устойчивость клетки не к одному, а к нескольким или многим препаратам с разным механизмом действия и различного химического строения. Анализируя литературу по вопросу МЛУ, Ставровская [12] отмечает, что изменения, приводящие к лекарственной устойчивости, свидетельствуют о том, что опухолевые клетки обладают возможностью прерывать путь реализации повреждения на любом этапе и механизмы резистентности популяций таких клеток к токсическим воздействиям разнообразны. Важно подчеркнуть, что как в одной и той же клетке, так и в популяции опухолевых клеток могут сосуществовать разнообразные механизмы МЛУ [13]. Клональная гетерогенность опухолевых клеток человека часто свидетельствует о наличии различных субпопуляций клеток с различным уровнем МЛУ [14, 15].

В работах [16—18] изучали роль интегрин в формировании МЛУ. Установлено, что при селекции в присутствии цитостатика более устойчивыми оказываются фибробласты, менее активные в экспрессии интегрин $\alpha v \beta 3$. Модуляцию состояния МЛУ можно осуществлять с помощью стероидных гормонов [19]. Модуляторами МЛУ являются такие вещества, как верапамил, гуанитудин, тамоксифен, даунорубин, циклоспорин А, идарубин и др. Идарубин, например, является активным ингибитором Р-гликопротеина, именно потому он и оказывает модулирующее действие на МЛУ [20].

Проводятся исследования потенциальных ингибиторов экспрессии гена. В частности, описан синтез и результаты сравнительного изучения свойств химерных конструкций на основе олигорибонуклеотидов, модифицированных по 2'-положению рибозы (2'-О-тетрагидропиранил-, 2'-О-метил-) и по 3'-концу олигонуклеотидной цепи (концевая 3'-3'-межнуклеотидная связь), комплементарных участку МРНК гена *MDR-1* [21].

При изучении возможности повышения эффективности химиотерапии рака легкого человека [22] установлено, что липосомная система доставки ингибирует МЛУ и синтез белка BCL-2, а также значительно увеличивает противоопухолевое действие доксорубина вследствие стимуляции каспазо-зависимого пути к апоптозу, ингибируя таким образом МЛУ.

Поскольку одним из проявлений МЛУ является резистентность опухолевых клеток к индукции апоптоза, то эффективным методом лечения онкологических больных может служить воздействие на опухолевые клетки модуляторов апоптоза. Изучение тонких механизмов апоптоза и управления ими перспективно до настоящего времени. Об актуальности этого направления исследований свидетельствует информационный взрыв в науке, особенно онкологической, приносящий все новые результаты [23, 24].

Апоптоз, или запрограммированная гибель клеток, — процесс элиминации утративших свою функцию дефектных клеток либо патологических элементов. Апоптоз характеризуется клампингом хромосом, олигонуклеосомной фрагментацией ядерной ДНК, конденсацией цитоплазмы, пузырьковидным вздутием мембран. Он может быть индуцирован рядом химических, физических и биологических факторов [25, 26]. Внутриклеточный сигнал к развитию апоптоза передается по-разному при действии различных индукторов. При этом характерно использование некоторых факторов, участвующих в передаче других внутриклеточных сигналов, в частности активационных, наряду с факторами, специфичными для индукции апоптоза. Эти разнообразные пути приводят к единообразным результатам, обязательным компонентом которых является активация сериновых протеаз и неадекватное вступление клеток в цикл [27].

Ключевыми эффекторными молекулами апоптоза являются специфические цистеиновые протеазы. Они получили название каспаз. В работе [28] рассмотрены различные нарушения каспазо-зависимых механизмов реализации клеточной гибели, выявляемые в опухолевых клетках. К числу таких нарушений относят не только мутации в генах каспаз, но и изменения степени метилирования их генов, а также нарушения стабильности соответствующих мРНК. Авторы приводят данные о веществах, обладающих направленным действием по отношению к тем или иным эффекторным звеньям

апоптоза, которые могут оказаться перспективными средствами противоопухолевой терапии. Особое внимание уделяется перспективам комбинированного применения средств, воздействующих на компоненты передачи апоптотических сигналов, и классических методов противоопухолевой терапии.

Нарушением апоптоза обусловлена устойчивость опухолевых клеток к лечебным факторам [29]. Предполагается [30], что XIAP (X-chromosome-linked Inhibitor of Apoptosis) играет центральную роль ингибитора запрограммированной гибели клеток. Открытие белков, взаимодействующих с XIAP и модулирующих его антиапоптотическую активность, подчеркивает критическую роль XIAP в клеточном гомеостазе. Избыточная экспрессия XIAP защищает клетки от дивергентных апоптотических триггеров, включая ультрафиолетовое и гамма-излучение, а также химиопрепараты.

Апоптоз могут индуцировать некоторые цитокины, в первую очередь мощным индуктором апоптоза является фактор некроза опухолей (ФНО) [26]. «Сигнал гибели» подается через один из двух рецепторов ФНО — p55 (TNFR1). Рецепторы ФНО ответственны за реализацию самых разнообразных эффектов ФНО. Условия индукции апоптоза весьма разнообразны и могут быть сведены к действию внешних факторов, воспринимаемому рецепторами, и отсутствию защиты от реализации внутренней программы апоптоза. В зависимости от различных факторов, таких как внешние воздействия, тип клеток и их состояние, один и тот же агент может как индуцировать, так и подавлять развитие апоптоза [31].

Учитывая обширную информацию о резистентности опухолей к химиопрепаратам, следует признать, что усилия ученых-онкологов в настоящее время сосредоточены в области молекулярной биологии и генетики [32, 33]. В частности, они считают, что будущее повышение эффективности лечения за генотерапией [34]. Однако, относясь критически к данному направлению, исследователи понимают, что пока они не овладеют умением предохранять геном человека от повреждающих воздействий, генотерапия будет оставаться малоэффективной.

Генная терапия — перспективное направление в развитии лекарственной терапии опухолей, быстрому развитию которого способствовали результаты, полученные в ходе выполнения проекта расшифровки человеческого генома. Генная тера-

пия — это новый подход к направленной регуляции экспрессии отдельных генов для лечения или профилактики заболеваний. Она не является частью цитокинотерапии, а скорее, принадлежит к самостоятельным способам лечения [35].

Цитокинотерапия исторически была первым методом иммунотерапии, применяемым самостоятельно для лечения онкологических заболеваний. Изначально предполагалось, что ключевым моментом цитокинотерапии будет являться иммуномодулирующий эффект препаратов, однако дальнейшие исследования в области онкоиммунологии позволили прояснить некоторые тонкие механизмы взаимодействия опухолевой клетки и иммунопрепарата. Оказалось, что это взаимодействие не укладывается лишь в иммунологические рамки, а затрагивает также процессы пролиферации, дифференцировки опухолевых клеток и ангиогенеза [36, 37]. Успешным стало внедрение в практику онкологии препаратов на основе интерферона [38, 39].

Интерлейкин-2 (IL-2) является одним из основных препаратов, включенных в современные схемы лечения иммуногенных опухолей. Активно исследуется возможность применения иммунотерапии при лечении лимфопролиферативных заболеваний и миеломной болезни. Использование препаратов IL-2 при онкологических заболеваниях базируется, прежде всего, на том, что это основной цитокин, запускающий иммунный ответ и активирующий факторы, участвующие в противоопухолевой защите. Ген IL-2 одним из первых был введен в опухолевую клетку [40].

IL-2 обладает целым рядом свойств, позволяющих использовать его как противоопухолевый агент [41]. Он может воздействовать на опухолевые клетки опосредованно — через систему цитотоксических лимфоцитов натуральных киллеров и синтез эндогенных интерферонов, и непосредственно — вмешиваясь в процессы пролиферации и дифференцировки опухолевых клеток [42, 43].

Наиболее интенсивно развивающийся в настоящее время метод цитокинотерапии — иммунохимиотерапия. При лечении онкологических заболеваний антипролиферативные и цитотоксические агенты чаще всего используют в максимально переносимых дозах для эрадикации как можно большего количества опухолевых клеток. В настоящее время активно исследуют влияние субпороговых доз химиопрепаратов на процессы ангиогенеза и модификации иммунного ответа. Экспериментами,

проведенными на животных, доказано отрицательное влияние на процессы ангиогенеза адриамицином и циклофосфамидом [44].

Изучение иммуномодулирующих свойств химиопрепаратов важно с точки зрения практического применения. Известно, что при иммунотерапии опухолей в сочетании с малыми дозами (малочувствительными к химио- и иммунотерапии) химиопрепаратов восстанавливалась чувствительность к применяемому препарату. Четко прослеживается иммуномодулирующий эффект химиопрепаратов при проведении химиоиммунотерапии, когда сочетаются IL-2, интерферон-альфа и 5-фторурацил [45]. Связано это, по-видимому, с тем, что в присутствии иммунопрепаратов увеличивается синтез 5-фтордезоксисуридинмонофосфата, активного метаболита 5-фторурацила. Аналогичными свойствами, только в значительно меньшей степени, обладает также доксорубин [46]. Высокий лечебный эффект наблюдали при комбинации IL-2 с интерфероном и дакарбазином [47].

Анализ данных литературы позволяет заключить, что наиболее перспективными областями применения рекомбинантного IL-2 являются комбинация IL-2 с новыми химиопрепаратами, ретиноидами, блокаторами синтеза ганглиозидов, ангиостатиками, блокаторами P-170, ингибиторами факторов роста и другими цитокинами, а также регионарное введение препарата и введение препарата в организм человека с учетом его хронобиологических особенностей [48].

Таким образом, IL-2 обладает рядом свойств, делающих его важным противоопухолевым агентом. В настоящее время разработано и внедрено в клиническую практику несколько препаратов рекомбинантного IL-2, созданных с использованием *Escherichia coli* (пролейкин, тецелейкин, биолейкин) и дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (ронколейкин, альбулейкин).

Существуют различные методы применения рекомбинантного IL-2, среди которых наиболее эффективной является его комбинация со специфической иммунотерапией. Наибольший опыт применения рекомбинантного IL-2 накоплен при лечении диссеминированных форм почечноклеточного рака и меланомы [35].

По поводу применения цитокинотерапии в онкологии существуют и другие мнения. Так, Ярилин и др. [49] считают, что препараты рекомбинантного IL-2, привлечшие наибольшее внимание, оказа-

лись эффективными лишь при первичном раке почки и злокачественной меланоме. Другие цитокины, претендующие на роль противоопухолевых агентов из-за своей токсичности или по иным причинам, оказались неприемлемыми при традиционных способах их применения. По мнению авторов, успехи цитокинотерапии пока ограничены. Они иногда не соответствуют затратам на развитие этой области медицины, однако не все возможности ее исчерпаны. В связи с этим разрабатываются новые подходы, например, адоптивная цитокинотерапия, при которой процесс воздействия цитокина на клетку-мишень выносится за пределы организма, что снимает проблему токсичности и повышает прицельность действия препарата [49].

Более изученными белками, участвующими в управлении апоптозом, являются продукты проонкогена *BCL-2* и гена супрессора опухолевого роста *p53*.

Роль семейства генов *BCL-2* в развитии химиоустойчивости состоит в ингибировании апоптоза в опухолевых клетках. Известно, что *BCL-2* по-разному влияет на резистентность опухолей к проводимой терапии и прогноз исхода заболевания: в одних типах опухолей экспрессия *BCL-2* коррелирует с лучшим прогнозом, в других — наоборот.

p53 — белок, регулирующий прохождение клетки по клеточному циклу. В делящейся клетке он осуществляет контроль клеточного цикла, сопрягая процесс регуляции размножения с регуляцией стабильности клеточного генома [50, 51]. Этот белок в норме постоянно синтезируется клетками и быстро деградирует. В нормальной клетке содержание *p53* низкое, что связано с его разрушением. Некоторые стимулы приводят к стабилизации или увеличению содержания и активации молекул *p53* в клетке. К таким стимулам относят активацию латентного проонкогена, угнетение пролиферации, истощение пула нуклеотидов, радиацию, гипоксию и др. [52]. При незначительном повреждении ДНК деградация прекращается и *p53* начинает функционировать. В случае выраженных повреждений ДНК он индуцирует синтез белков, способствующих разрушению клетки вследствие апоптоза [53]. Решение о запуске программы клеточной смерти определяется балансом про- и антиапоптотических сигналов в клетке. Повреждения ДНК, вызываемые *p53* и другими, *p53*-независимыми механизмами, могут индуцировать остановку клеточного цикла в проверочной точке для реше-

ния — репарировать ДНК и выжить или умереть вследствие апоптоза в зависимости от других про- и антиапоптотических сигналов.

Основная функция *p53* — индукция апоптоза в ответ на повреждение с помощью активации транскрипции генов каскада, приводящего к запрограммированной гибели. Активность *p53*, его мутации могут быть ассоциированы с агрессивностью течения заболевания и устойчивостью опухолевых клеток к химио- и лучевым воздействиям [54, 55].

По данным некоторых авторов [56, 57], мутации в *p53* встречались в половине исследованных опухолей. Определение места мутации показало, что наиболее часто происходили изменения в ДНК-связывающем домене, приводящие к нарушению конформации, потере активности *p53*. Для нормальной функции необходим транспорт *p53* в ядро из цитоплазмы, который не всегда осуществляется в клеточных опухолевых линиях. Инактивация *p53* возможна при взаимодействии с деградирующими ферментами. Особенностью *p53* является то, что его нормальная функция не совместима с опухолевым ростом, а трансфекция гена синтеза останавливает рост опухолевых культур.

По мнению Ярилина и Белякова [58], в опухолях мутантную форму *p53* экспрессируют до 70 % трансформированных клеток (в нормальных же клетках этот белок не выявлен). Большой разброс частоты мутаций *p53* при различных злокачественных опухолях не позволяет сделать универсальное заключение относительно его роли в патогенезе злокачественных процессов [59, 60].

Аномалии фактора *p53*, а также других внутриклеточных факторов, контролирующих апоптоз, в процессе развития опухоли имеют отношение к ее прогрессированию. Лишившись такого контроля, клетки, утрачивающие связи с межклеточным матриксом и другими факторами нормального микроокружения, не гибнут, а благополучно развиваются в чужой для них среде, что способствует метастазированию опухолей [61].

Хотя белок *p53* играет существенную роль в ХР опухолевых клеток, многочисленные данные литературы [12, 62, 63] свидетельствуют о том, что устойчивость опухолевых клеток к химиотерапии объясняется, главным образом, амплификацией гена *MDR-1*, кодирующего Р-гликопротеин (P-glycoprotein — Pgp). Pgp 170 усиливает выведение из опухолевых клеток ряда цитостатиков (актиномицин Д, паклитаксел, антрациклины и др.). Умень-

шая внутриклеточную концентрацию противоопухолевых препаратов за счет выброса их из клеток, белок Pgp 170 является одной из причин возникновения резистентности к этим препаратам.

В норме этот гликопротеин отвечает за удаление чужеродных веществ из клетки. При опухолевой трансформации клетки, а также в процессе лечения химиопрепаратами его количество может резко возрасти. Это один из путей защиты клетки от неблагоприятных факторов, в результате чего снижается их чувствительность к терапии.

В настоящее время появились новые данные о механизмах действия этого белка [64]. Доказан его перенос между химиорезистентными и химиочувствительными опухолевыми клетками человека, в результате чего повышается опосредованная с помощью белка Pgp множественная лекарственная устойчивость в ранее химиочувствительных клетках, что позволяет им переносить токсические концентрации препаратов и таким образом приобретать фенотип постоянной резистентности. Показано, что этот перенос происходит с помощью микрочастиц мембраны — маленьких (0,1—2 мкм) пузырьков, высвобождаемых в межклеточную среду различными типами клеток. Перенос белка Pgp приводит к появлению фенотипа, который наблюдается в клетках при перемещении *MDR-1*, оказывая влияние на перенесенный белок, в частности, клетки приобретают повышенную резистентность и сниженный уровень пролиферации. Результаты, полученные авторами [64], показывают, что межклеточный перенос белка Pgp может защищать раковые клетки, как повышая общую резистентность опухоли, так и стабилизируя относительные пропорции различных субпопуляций клеток при опухолевом росте. Резистентные клетки, которые могли бы быть вытеснены из опухоли при недостаточном росте, затем возвращаются, хотя чувствительные клетки становятся защищенными благодаря повышенной экспрессии белка Pgp. Предполагаемый перенос белка Pgp и других транспортеров мембраны, продуцирующих МЛУ, может изменять эффективность химиотерапии.

Pgp входит в увеличивающийся список белков, которые могут быть перенесены из одной эукариотной клетки в другую. Новые данные о функции белка Pgp имеют важное значение при анализе протеомики в клетках злокачественных опухолей и при изучении приобретенной ХР.

Механизм действия белка Pgp активно изуча-

ется, однако в литературе отсутствуют данные относительно устойчивости MDR-экспрессирующих клеток к другим повреждающим злокачественные новообразования факторам, в частности, к ионизирующей радиации.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что изменения р53, гиперэкспрессия Bcl-1 и Bcl-x1, активация каспаз и другие биологические процессы являются основой формирования устойчивости к лечебным воздействиям, основанным на индукции апоптоза клеток опухолей. Наиболее полной формой такой резистентности является множественная лекарственная устойчивость опухолевых клеток.

В отличие от активно изучаемой проблемы ХР опухолевых клеток успехи в исследовании механизмов радиорезистентности (РР) значительно скромнее. Приобретенная резистентность опухолевых клеток к ионизирующей радиации, возникающая вследствие фракционированного облучения, является одной из причин недостаточной эффективности как лучевой терапии, так и комплексного лечения злокачественного опухолевого процесса.

Данное направление можно считать актуальным уже потому, что информация о РР опухолей в большинстве случаев имеет описательный, феноменологический характер. В значительной степени — это следствие сложности проблемы устойчивости опухолевых клеток к облучению, многофакторности механизмов, лежащих в ее основе. Наиболее сложным в таких исследованиях является то, что на современном этапе ни морфологически, ни биохимически, ни с помощью других методов не удается отличить радиочувствительные клетки от РР, хотя теоретически такие различия исключить нельзя, по крайней мере, на субклеточном уровне [65].

Существуют более или менее обоснованные предположения относительно механизмов РР опухолевых клеток. Не вызывает сомнений участие в них процессов репарации, регенерации, репопуляции; адаптационных процессов, направленных на поддержку гомеостаза и защиту молекулярных, клеточных и тканевых структур опухоли; длительной гипоксии и недостатка глюкозы в опухолевых клетках; выхода части клеток из пролиферативного пула, перехода их в фазу покоя. Однако значение и реальный вклад каждого из этих механизмов в суммарный эффект повышения РР не определен. Отсутствуют надежные маркеры состояния РР, которые можно применять в диагностике уровня РР

опухолей. Это усложняет использование теоретических представлений как руководства к практическим действиям [66].

Определенную роль при лучевых влияниях на опухолевую клетку, как и при ХР, играет первая из открытых молекул суперсемейства белков лекарственной устойчивости белок Pgp. В работе [67] обнаружено, что при генетическом моделировании, когда содержание белка Pgp в клетке было искусственным образом повышено, оказалось, что он может защищать опухоль не только от химических веществ, но и от облучения.

В плане поиска новых рациональных подходов к противоопухолевой терапии РР опухолей существенную роль играет понимание молекулярных механизмов, ответственных за митогенную активность трансформированных клеток, что открывает пути контроля за подавлением опухолевого роста. Одним из объектов в качестве новой противоопухолевой мишени является рецептор эпидермального фактора роста (ЭФР) — EGFR. Это трансмембранный гликопротеин с молекулярной массой (м. м.) 170 кДа, обладающий тирозинкиназной активностью. EGFR экспрессируется на поверхности как нормальных, так и трансформированных эпителиальных клеток и участвует в регуляции клеточного роста и дифференцировке [68].

EGFR (или HER1) относится к семейству рецепторов ЭФР. Как и все рецепторные тирозинкиназы, EGFR состоит из трех участков: внеклеточный лиганд-связывающий домен, трансмембранный гидрофобный участок и внутриклеточный тирозинкиназный домен.

EGFR является секретлируемым полипептидом, стимулирующим рост и деление клеток в результате связывания и активации рецепторной тирозинкиназы в плазматической мембране. В свою очередь рецепторы EGFR рекрутируют и фосфорилируют внутриклеточные сигнальные молекулы, активирующие каскад сигнальной трансдукции mitogen-activated protein kinase (MAPK), который важен для регуляции пролиферации клеток [68].

Можно выделить следующие основные механизмы активации EGFR-зависимых сигнальных путей в опухолевых клетках: гиперэкспрессия EGFR, избыточная продукция факторов роста, мутация EGFR (и, как следствие, его повышенная активность при отсутствии факторов роста) и гетеродимеризация рецептора.

Таким образом, выбор EGFR в качестве проти-

воопухолевой мишени следует считать обоснованным. Кроме того, результаты экспериментальных исследований указывают на возможность усиления цитотоксического действия при сочетании ингибиторов EGFR с другими противоопухолевыми агентами (доксорубицином, платиновыми производными, гемцитабином и др.).

В настоящее время исследуется взаимосвязь EGFR и РР. По данным ряда авторов [69—71], EGFR усиливает РР опухолевых клеток.

Существует мнение, основанное на экспериментальных результатах, что повышению РР способствует также возрастание активности ДНК-зависимого белка — киназы [72].

Экспрессия белка p53 индуцируется не только противоопухолевыми химиопрепаратами, но и облучением. Известно, что p53 участвует в индукции радиационного апоптоза [58]. Этот белок называют онкосупрессором, поскольку его присутствие приводит к гибели клеток с нарушениями в геноме, тогда как при мутациях гена p53 такие клетки выживают и часто становятся источником злокачественного роста [54].

В становлении фенотипа РР опухолевых клеток определенную роль могут играть и стрессовые белки (СБ). Известно, что синтез СБ представляет собой происходящую эволюционно универсальную реакцию клетки на различные экстремальные воздействия [73—75]. На современном этапе развития онкологии специалисты рассматривают канцерогенез как хронический стресс, а устойчивость опухолевой ткани к противоопухолевым агентам, в частности, к лучевой терапии может быть связана с продукцией СБ [76, 78].

Такая информация находит свое подтверждение в исследованиях, проведенных на клетках карциномы Герена крыс при выработке РР штамма. Локальное воздействие на опухоль ионизирующей радиации в дозе 8 Гр индуцировало экспрессию СБ с м. м. 47, 69/70, 80/82, 107, 140/150 кДа. Последний белок не экспрессировался в интактных клетках. По мере формирования вторичной приобретенной РР (курс облучения в дозе 50 Гр за пять фракций чередовался с ретрансплантацией) СБ с м. м. 140/150 кДа из индуцибельного становится конститутивным, то есть генетически закрепляется на определенном уровне, что регистрируется без дополнительного индуктора уже в третьей генерации РР штамма [79].

Если руководствоваться клонально-селектив-

ной концепцией опухолевого роста, то можно предположить, что в процессе формирования РР происходит селекция клеток, которым свойственна повышенная экспрессия белка 140/150 кДа. По нашему мнению, этот СБ, равно как и другие факторы и механизмы, участвует в становлении фенотипа РР опухолевых клеток.

Авторы работы [80] изучали связь химио-, радио- и лекарственной (цисплатин) резистентности злокачественных новообразований с особенностями СБ с м. м. 27 кДа, примененного в разных концентрациях *in vivo* и *in vitro*. Они пришли к заключению о том, что суперэкспрессия СБ с м. м. 27 кДа связана с термо- и химиорезистентностью, но не с радиорезистентностью.

Приведенная информация разных авторов о корреляции экспрессии СБ с резистентностью blastom не противоречива, так как исследовали белки с разной молекулярной массой и в разных условиях. Однако нет сомнений в том, что СБ играют определенную роль в возникновении резистентности опухолевых клеток к влиянию внешних факторов. К формированию устойчивости к лечебным факторам, в частности, при возникновении РР причастны антиоксидантные ферменты [81, 82].

Исследования Барабоя и соавт. свидетельствуют о том, что ткань РР карциномы Герена отличается от интактной значительным снижением уровня продуктов перекисного окисления липидов и соответственно более высокой активностью антиоксидантной системы [83]. Об увеличении активности антиоксидантных ферментов в РР варианте линии клеток человеческой глиобластомы сообщают корейские ученые [84].

Кроме перечисленных факторов, влияющих на возникновение и развитие устойчивости опухолевых клеток к экзогенным агентам, был проанализирован комплекс морфологических особенностей, характерных для РР. Сделана попытка феноменологически оценить удельный вес каждого параметра и расположить их по степени значимости для получения алгоритма исследования РР опухолевых клеток [79].

При развитии РР цитологические особенности выражались в возникновении и нарастании гетерогенности клеточных популяций; полиморфизме размеров ядер; увеличении количества модальных классов; образовании многоядерных клеток (чаще с непарным числом ядер), симпластических структур; увеличении количества двуядерных клеток (в

том числе неравноценных по объему и с неправильной формой ядер); нарушении цитотомии и анокариозе; увеличении количества патологических митозов, особенно аберрантных анафаз (отставание хромосом, хромосомные мосты и др.). Ультраструктурно цитоплазма клеток становилась более развитой, появлялись признаки дифференцировки. При культивировании клеток *in vitro* патологические митозы завершались образованием микроядер, возникла широкая вариабельность микро рельефа поверхности клеток, увеличивались количество, длина и толщина цитоплазматических отростков, синцитиеподобные образования. При культивировании опухолевых эксплантатов *in vivo* в диффузионных камерах учащались случаи сфероидообразования и расположения клеток отдельными кластерами и др. На основании полученных результатов составлен алгоритм для определения РР опухолевых клеток в эксперименте [79].

Исследования морфологических особенностей рака грудной железы человека после лучевой терапии выявили, что блокирование опосредованного рецептором апоптоза в опухоли может играть определенную роль в развитии РР [85].

В работе [86] обнаружена корреляция между сохранением жизнеспособности клеток рака поджелудочной железы и возникновением РР.

Кроме активного изучения условий и механизмов ХР опухолевых клеток (в том числе МЛУ), а также РР, внимание исследователей все больше привлекает перекрестная химиорадиотерапия [87]. Разработка рациональных режимов этого воздействия (дозы, последовательность двух воздействий, интервал между ними) могла бы в перспективе существенно повысить эффективность терапии в онкологии.

В этом направлении проведено исследование, устойчивости к радиационному воздействию штамма карциномы Герена крыс, резистентного к цисплатину (химиорадиорезистентность) [88]. В результате установлено принципиальное различие в реакции на лучевую терапию чувствительного и резистентного (к цисплатину) штамма опухоли. Во все сроки исследования степень регрессии лекарственно резистентного штамма была существенно выше, чем ожидалось. После окончания курса лучевой терапии средний объем опухолей лекарственно устойчивого варианта был в 3 раза меньше по сравнению со стандартным штаммом, а после 4-го сеанса (24 Гр — середина курса) этот показатель в

лекарственно устойчивом варианте превосходил в 8 раз объем blastом интактной карциномы.

При изучении митотической активности и ДНК-синтезирующей функции клеток (с помощью методов гисторадиоавтографии и культивирования опухолевой ткани в диффузионных камерах) отмечено закономерное угнетение показателей жизнеспособности в обоих опухолевых штаммах с ростом дозы облучения. Однако в лекарственно устойчивом штамме карциномы Герена после суммарной дозы 24 Гр митотический индекс превысил вдвое показатели, полученные до начала лечения, а после окончания курса он оказался ниже, чем в клетках интактного штамма, — соответственно 2,6 и 3,3 %.

По показателю индекса метки после 24 и 54 Гр в клетках химиоустойчивого штамма кривая биосинтеза ДНК снижалась так же, как в клетках чувствительного штамма; резко падала в середине курса, повышаясь после его окончания. По-видимому, в динамике лучевого воздействия в клетках химиоустойчивого штамма резко возрастает пул клеток в фазах G_1 и S , а в пролиферативный цикл вступает существенно большее количество клеток из G_0 (фазы покоя). С выходом массы клеток из радиорезистентного покоящегося состояния в пролиферативный пул, очевидно, и связана повышенная чувствительность этого штамма к воздействию ионизирующей радиации.

Полученные результаты свидетельствовали об отсутствии неспецифической резистентности опухоли к примененному перекрестному воздействию.

На наш взгляд, информация о перекрестной устойчивости опухолевых клеток может иметь существенное значение в практической онкологии. Следует всегда иметь в виду, что в процессе лечения, если вырабатывается устойчивость клеток к одному из препаратов, необходимо применять другие средства. У этого направления исследований, по нашему мнению, широкие перспективы, потому что именно такие экспериментальные результаты могут повысить эффективность противоопухолевой терапии.

В связи с вышеприведенными причинами вторичной резистентности опухолевых клеток возникает естественный вопрос о путях их преодоления.

Одной из кардинальных проблем современной онкологии являются исследования возможностей повышения чувствительности ХР и РР опухолей. О преодолении ХР существует большая литература и

выше изложены научные результаты разных авторов по этому поводу.

В противовес этому поиск путей эффективного повышения результатов лучевой терапии РР опухолей за счет снижения их устойчивости приводит к испытанию способов, избирательно модифицирующих реакцию опухолевой ткани на облучение. Изучаются возможности усиления лучевого повреждения опухолевых клеток при искусственном увеличении их радиочувствительности с помощью радиосенсибилизаторов химической и физической природы [89, 90].

Среди физических радиосенсибилизирующих факторов, на наш взгляд, наибольшего внимания заслуживает гипертермия, которая как адьювантное средство способна повысить качество и избирательность деструктивного действия радиации на опухоль [89]. Однако анализ литературы свидетельствует о том, что проблема влияния температурного фактора, последовательности сочетания облучения и гипертермии, а также интервала между ними на результат термордиотерапии пока не имеет однозначного решения и интерпретации [90—92].

При выборе потенциально эффективных радиосенсибилизаторов химической природы (малые дозы таксола, комплекс микроэлементов и пр.) следует исходить из соображений об отличиях в механизмах действия сочетающихся факторов на опухолевые клетки и общего снижения дозы токсических агентов на организм онкологического больного [93, 94].

Полученные в последние годы информативные результаты о причинах устойчивости опухолевых клеток к химио- и радиотерапии и путях их преодоления дают надежду (а иногда и уверенность) в возможном повышении эффективности противоопухолевой терапии.

Авторы выражают искреннюю благодарность проф. А. П. Соломко за ценные советы, обсуждение работы и помощь в ее подготовке.

V. A. Zinchenko, L. I. Chaschina

Possible mechanisms of the stability of tumor cells to radial and chemotherapy

Summary

The review is devoted to the analysis of the role chemical and physical factors to creation chemical and radioresistance of tumoral cells. The results of examinations testify that many biological processes, such as modulation of an apoptosis, activation of

caspases, amplification of a gene MDR-1 are a basis the creation of fastness to a chemotherapy. Some morphological and biochemical features of development of a secondary radioresistance in tumoral cells are analysed. Some possible ways of overcoming of a secondary radioresistance of the tumor cells surveyed.

Key words: tumoral cell, radioresistance, chemoresistance, P-glycoprotein, apoptosis.

В. А. Зінченко, Л. І. Чащина

Можливі механізми стійкості пухлинних клітин до променевої і хіміотерапії

Резюме

Огляд присвячено аналізу даних щодо ролі хімічних і фізичних факторів у формуванні хіміо- та радіорезистентності пухлинних клітин. Результати досліджень свідчать про те, що багато біологічних процесів, серед яких модуляція апоптозу, активація каспаз, ампліфікація гена MDR-1 та ін., складають основу формування стійкості до хіміотерапії. Проаналізовано деякі морфологічні і біохімічні особливості розвитку в клітинах пухлин вторинної радіорезистентності та розглянуто можливість її подолання.

Ключові слова: пухлинні клітини, радіорезистентність, хіміорезистентність, Р-глікопротеїн, апоптоз.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Деденков А. Н., Пелевина И. И., Саенко А. С. Прогнозирование реакции опухолей на лучевую и лекарственную терапию.—М.: Медицина, 1987.—160 с.
2. Мачак Г. Н., Лукьянченко А. Б., Долгушин Б. И., Кочергина Н. В., Вирашке Э. Р., Сенько О. В., Кузнецова А. В. Критерий эффективности предоперационной химиотерапии остеосаркомы. Роль лучевых методов // *Вопр. онкологии.*—2005.—№ 3.—С. 48—52.
3. Дарьялова С. Л., Пелевина И. И., Саенко А. С. Подходы к индивидуальному прогнозированию реакции опухолей на лучевое и лекарственное воздействие // *Мед. радиология.*—1990.—№ 1.—С. 10—14.
4. Serikov A. A., Solyanik G. I. Self-control of proliferation-differentiation processes in cell population dynamics // *The Phys. Alive.*—1998.—6.—Р. 5—16.
5. Соляник Г. И., Кононенко М. М., Чехун В. Ф., Кулик Г. И. Изменения роста карциномы Герена при возникновении резистентности к действию цисплатина и тиофосфамида // *Эксперим. онкология.*—1992.—14.—С. 68—72.
6. Соляник Г. И. Явление автоселекции в популяции дифференцирующихся клеток: возможный механизм канцерогенеза // 2-й Съезд биофизиков России (Москва, 23—27 авг., 1999): Тез. докл.—М., 1999.—Т. 2.—С. 455—456.
7. Ставровская А. А. Опухолевая клетка в обороне // *Соровский образоват. журн.*—2001.—№ 7.—С. 17—23.
8. Ueda R., Yoshida A., Amachi T. Recent progress in P-glycoprotein research // *Anti-Cancer Drug Design.*—1999.—14.—Р. 115—121.
9. Zheleznova E., Markham P., Neyfakh A., Brennan R. Structural basis of multidrug recognition by BmrR, a transcription activator of a multidrug transporter // *Cell.*—1999.—96.—Р. 353—362.
10. Johnstone R. W., Cretney E., Smyth M. J. P-glycoprotein protects leukemia cells against caspase-dependent, cell death // *Blood.*—1999.—93.—Р. 1075—1085.
11. Чекмасова А. А. Индуцированная эритроидная дифференцировка и апоптоз в клетках линии K562, резистентных к производным ряда хинолина // *Материалы 13-й междунар. конф. молодых ученых: Природа. Актуал. проблемы (Москва, 26—30 декабря 2002 г.).—Москва, 2002.—С. 820.*
12. Ставровская А. А. Клеточные механизмы множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток // *Биохимия.*—2000.—65, № 1.—С. 112—126.
13. Roninson J. B. Multidrug resistance // *Encyclopedia of cancer.*—New York, 1997.—Vol. 2.—Р. 1095—1107.
14. Jang X., Darling J. L., McMillian I. J. Heterogeneity of radiosensitivity in a human glioma cell line // *Int. J. Radiat. Oncol. and Biol. Phys.*—1992.—22.—Р. 103—108.
15. Ngo F. O. H., Jia X., Lin T. C., Lee Y.-H. W. A cytosine-regulated mechanism for radiation-induced changes in tumor blood perfusion // *Proc. 10-th Int. Congr. Radiat. Res. (1895—1995): Abstrs.*—Wurzburg, 1995.—Vol. 1.—Р. 270.
16. Морозевич Г. Е., Козлова Н. И., Чубукина А. Н., Берман А. Е. Экспрессия интегринов и инвазия *in vitro* онкотрансформированных фибробластов смирйского хомячка, обладающих множественной лекарственной устойчивостью // *Биол. мембраны.*—2001.—№ 18.—С. 269—274.
17. Kozlova N. I., Morozovich G. E., Chubukina A. N., Berman A. E. Integrin avb3 promotes anchorage-dependent apoptosis in human intestinal carcinoma cells // *Oncogene.*—2001.—N 20.—Р. 4710—4717.
18. Морозевич Г. Е., Козлова Н. И., Чубукина А. Н., Берман А. Е. Роль интегрин авб3 в изменении инвазивного фенотипа ВСП-трансформированных фибробластов, обладающих множественной лекарственной устойчивостью // *Вопр. мед. химии.*—2002.—№ 48.—С. 111—120.
19. Сергеев П. В., Семейкин А. В., Федотчева Т. А., Шимановский Н. Л. Стероидные гормоны как модуляторы состояния множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток // *Вопр. биологии, медицины и фармацевт. химии.*—2002.—№ 3.—С. 10—17.
20. Птушкин В., Усс А. Сверхвысокодозная химиотерапия с трансплантацией аутологичных клеток — предшествующих гемопоза у больных с прогностически неблагоприятным рецидивом и резистентным течением лимфогранулематоза // *Терапевт. архив.*—1997.—69, № 10.—С. 49—55.
21. Новопашина Д. С., Кузнецова М. А., Комарова Н. И., Веньяминова А. Г. Химерные олигонуклеотиды на основе 2'-О-модифицированных олигорибонуклеотидов с концевой 3'-3'-межнуклеотидной связью как потенциальные ингибиторы экспрессии гена *MDR 1* // *Изв. Академии наук РФ. Сер. химическая.*—2002.—№ 7.—С. 1125—1128.
22. Pakunlu R. I., Wang Y., Tsao W., Pozharov V., Cook T. J., Minko T. Enhancement of the efficacy of chemotherapy for lung cancer by simultaneous suppression of multidrug resistance and antiapoptotic cellular defense: novel multicomponent delivery system // *Cancer Res.*—2004.—64.—Р. 6214—6224.
23. Kerr F. R., Winterford C. M., Harmon B. V. Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy // *Cancer.*—1994.—73.—Р. 2013—2026.
24. Bergman P. J., Harris D. Radioresistance, chemoresistance, and apoptosis resistance. The past, present, and future // *Vet. Clin. North Amer. Small Anim. Pract.*—1997.—27.—Р. 47—57 (33/50).
25. Фильченков А. А., Стойка П. С. Апоптоз и рак.—К.: Морион, 1999.—184 с.
26. Okada H., Mak T. W. Pathways of apoptotic and non-apoptotic death in tumour cells // *Nat. Revs. Cancer.*—2004.—4.—Р. 592—603.
27. Kvetnoy I. M., Polyakova V. O., Trofimov A. V., Yuzhakov V. V., Yarilin A. A., Yarilin A. A., Kurilets E. S., Mikhina L. N.,

- Sharova N. I., Nikonova M. F. Hormonal function and proliferative activity of thymic cells in humans: immunocytochemical correlations // *Neuroendocrinol. Lett.*—2003.—24.—P. 263—268.
28. Philchenkov A., Zavelevich V., Krocak T. J., Los M. Caspases and cancer: mechanisms inactivation and new treatment modalities // *Exp. Oncol.*—2004.—26.—С. 82—97.
29. Кулик Г. И., Лукьянова Н. Ю., Чехун В. Ф. Роль генов p53 и bcl-2 в апоптозе и лекарственной резистентности опухолей // *Вопр. онкологии.*—2000.—46, № 2.—С. 121—127.
30. Holcik M., Korneluk R. G. X-chromosome-linked Inhibitor of Apoptosis (XIAP) // *Nat. Revs Mol. Cell Biol.*—2001.—2.—P. 550—556.
31. Ярилин А. А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии // *Иммунология.*—1997.—№ 5.—С. 7—14.
32. Барышников А. Ю., Степанова Е. В. Молекулярные биомаркеры в диагностике лекарственной резистентности // *Аллергия, астма и клин. иммунология.*—2000.—№ 1.—С. 23—27.
33. Биологические методы лечения онкологических заболеваний.—М.: Медицина, 2002.—936 с.
34. Пономарев В. Б., Румянцев А. Г. Теоретические основы и перспективы генотерапии в гематологии и онкологии // *Гематология и трансфузиология.*—2002.—№ 1.—С. 29—39.
35. Молчанов О. Е., Карелин М. И., Жаринов Г. М. Современные тенденции применения препаратов рекомбинантного интерлейкина-2 в онкологии // *Цитокины и воспаление.*—2002.—1, № 3.—С. 38—47.
36. Пальцев М. А., Иванов А. А. Межклеточные взаимодействия.—М.: Медицина, 1995.—224 с.
37. Christopher S. N. G., Novick A. C., Tannenbaum C. S. Mechanisms of immune evasion by renal cell carcinoma: tumor-induced T-lymphocyte apoptosis and NFκB suppression // *Urology.*—2002.—59.—P. 9—14.
38. Перцева Т. А., Конопкина Л. И. Интерфероны и их индукторы // *Укр. химиотерапевт. журн.*—2001.—№ 3.—С. 31—36.
39. Гариб Ф. Ю., Ризопулу А. П., Арипова Г. У. Эффект синергизма в индукции интерферона // *Мед. иммунология.*—2004.—№ 2.—С. 46—54.
40. Kossman S. E., Scheinberg D. A., Jurcic J. G. A phase I trial of humanized antibody HuM195 (anti-CD33) with low-dose interleukin-2 in acute myelogenous leukemia // *Clin. Cancer Res.*—1999.—5.—P. 48—55.
41. Козлов В. К., Смирнов М. Н., Егорова В. Н., Лебедева М. Ф. Коррекция иммунореактивности рекомбинантным ИЛ-2: Пособие для врачей.—С.-Петербург: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2001.—24 с.
42. Копнин Б. П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза // *Биохимия.*—2000.—65.—С. 5—33.
43. Schwartz M. A., Baron V. Interactions between mitogenic stimuli, or, a thousand and one connections // *Curr. Opin. Cell Biol.*—1999.—11.—P. 197—202.
44. Browder D. E. Antiangiogenic scheduling of chemotherapy improves efficacy against experimental drug-resistant cancer // *Cancer Res.*—2000.—60.—P. 1878—1886.
45. Atzpodien J., Kirchner H., Bergman L. 13-c-s- retinoic acid, IFN-alfa and chemotherapy in advanced renal cell carcinoma: results of a prospectively randomized trials of the German Cooperative Renal Carcinoma Immunotherapy Group // *Proc. Amer. Soc. Clin. Oncol.*—1999.—18.—P. 1727—1735.
46. Молчанов О. Е., Карелин М. И., Попович А. М. Лечение гормонорезистентного рака предстательной железы комбинацией беталейкина и доксорубина. // *Сб. науч. тр. по актуал. вопр. урологии и онкологии.*—Санкт-Петербург, 2001.—С. 256—258.
47. Legha S. A phase II study of biochemotherapy using interleukin-2 (IL-2) + interferon alfa-2a (IFN) in combination with cisplatin (C) vinblastine (V) and DTIC (D) in patients with metastatic melanoma // *J. Clin. Oncol.*—1998.—16.—P. 1752—1759.
48. Труфакин В. А., Шурлыгина А. В. Цитокины и биоритмы // *Мед. иммунология.*—2001.—3, № 4.—С. 477—486.
49. Ярилин А. А., Шарова Н. И., Дзугец А. Х. Взаимодействие Т-лимфоцитов и эпителиальных клеток в тимусе // *Иммунология.*—1999.—4.—С. 15—20.
50. Kulik G. I., Yurchenko O. V., Shatrova K. M., Vorobyova L. I., Svintitsky V. S., Evtushenko G. V., Chekhun V. F. Expression of p53 and Bcl-2 proteins in epithelial ovarian carcinoma with different grade of differentiation // *Exp. Oncol.*—2000.—22.—P. 91—93.
51. Komarov P. G., Komarova E. A., Kondratov R. V., Christov-Tselkov K., Coon J. S., Chernov M. V., Gudkov A. V. A chemical inhibitor of p53 that protects mice from the side effects of cancer therapy // *Science.*—1999.—285.—P. 1733—1737.
52. Sablina A. A., Chumakov P. M., Levine A. J., Kopnin B. P. p53 activation in response to microtubule disruption is mediated by integrin-Erk signaling // *Oncogene.*—2001.—20.—P. 899—909.
53. Лукаш Л. Л. Регуляция изменчивости генома соматических клеток млекопитающих под влиянием экзогенных биологических факторов // *Биополимеры и клетка.*—2004.—20, № 1—2.—С. 93—105.
54. Lee J. M., Bernstein A. p53 mutations increase resistance to ionizing radiation. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1993.—90.—P. 5742—5746.
55. Sun J., Chen Y., Li M., Ge Z. Role of antioxidant enzymes on ionizing radiation resistance // *Free Rad. Biol. Med.*—1998.—24.—P. 586—593.
56. Копнин Б. П., Иванов А. В., Ильинская Г. В., Саблина А. А., Копнин Б. П., Чумаков П. М. Защитная функция p53 при RAS-индуцированной трансформации клеток REF52 // *Молекуляр. биология.*—2003.—37, № 3.—С. 458—463.
57. Калинина Е. В., Саприн А. Н., Соломка В. С., Щербак Н. П., Черемных Н. С., Пирузян Л. А. Роль антиоксидантной системы и редокс-зависимой регуляции транскрипционных факторов Bcl-2 и p53 в формировании резистентности клеток K562 эритролейкемии человека к доксорубину // *Вопр. онкологии.*—2001.—47, № 5.—С. 48—54.
58. Yarilin A. A., Belyakov I. M. Cytokines in the thymus: production and biological effects // *Curr. Med. Chem.*—2004.—11.—P. 447—464.
59. Titova I. V., Sergeev V. G., Yarilin A. A., Akmaev I. G. Expression of neuronal and inducible nitric oxide synthases in the thymus under normal conditions and after administration of bacterial endotoxin // *Bull. Exp. Biol. Med.*—2002.—134.—P. 407—410.
60. Kvetnoy I. M., Polyakova V. O., Trofimov A. V., Yuzhakov V. V., Yarilin A. A., Kurilets E. S., Mikhina L. N., Sharova N. I., Nikonov M. F. Hormonal function and proliferative activity of thymic cells in humans: immunocytochemical correlations // *Neuroendocrinol. Lett.*—2003.—24.—P. 263—268.
61. Ярилин А. А. Апоптоз и его место в иммунных процессах // *Иммунология.*—1996.—№ 6.—С. 10—23.

62. Хаитов Р. М., Пинегин Б. В. Основные принципы иммуномодулирующей терапии // Аллергия, астма, иммунология.—2000.—№ 1.—С. 17—22.
63. Chowdhary S. A., List A. F. Drug resistance: overview of mechanisms // Encyclopedia of Cancer.—New York, 1997.—Vol. 1.—P. 610—620.
64. Levchenko A., Mehta D. M., Niu X., Kang G., Villafania L., Way D., Polycarpe D., Sadelain M., Larson S. M. Inter-cellular transfer of P-glycoprotein mediates acquired multidrug resistance in tumor cells // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.—2005.—102.—P. 1933—1938.
65. Чехун В. Ф., Зинченко В. А., Кулик Г. И., Соляник Г. И. К вопросу о радиорезистентности опухолевых клеток // III съезд онкологов и радиологов СНГ: Материалы съезда (Минск, 25—28 мая 2004 г.).—Минск, 2004.—Ч. 1.—С. 353.
66. Bischof M., Huber P., Stoffregen C., Wannemacher M., Weber K. J. Radiosensitization by pemetrexed of human colon carcinoma cells in different cell cycle phases // Radiat. Res.—2003.—160.—P. 103—109.
67. Bunting R. D. ABC transporters as phenotypic markers and functional regulators of stem cells // Stem Cells.—2002.—20.—P. 11—20.
68. Woodburn J. R. The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy // Pharmacol. Ther.—1999.—N 82.—P. 241—250.
69. Lammering G., Valerie K., Lin P. S., Hewit T. H., Schmidt-Ullrich R. K. Radiation-induced activation of a common variant of EGFR confers enhanced radioresistance // Radiother. Oncol.—2004.—72.—P. 267—273.
70. Iyer R., Thames H. D., Tealer J. R., Mason K. A., Evans S. C. Effect of reduced EGFR function on the radiosensitivity and proliferative capacity of mouse Jejunal crypt clonogens // Radiother. Oncol.—2004.—72.—P. 283—289.
71. Chakravarti A., Dicker A., Mehta M. The contribution of epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling pathway to radioresistance in human gliomas: a review of preclinical and correlative clinical data // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.—2004.—58.—P. 927—931.
72. Marples B., Cann N. E., Mitchell C. R., Johnston P. J., Joiner M. C. Evidence for the involvement of DNA-dependent protein kinase in the phenomena of low dose hyper-radiosensitivity and increased radioresistance // Int. J. Radiat. Biol.—2002.—78.—P. 1139—1147.
73. Барабой В. А., Гресс В. Э. Стрессовые белки: природа и биологическая роль у млекопитающих // Актуал. пробл. медицины и биологии.—1988.—№ 2.—С. 420—432.
74. Stress proteins in biology and medicine / Eds R. J. Marimoto, A. Tiesberes, C. Georgopoulos.—New York: Cold Spring Harbor Lab. publ., 1991.—50 p.
75. Скулачев В. П. Законы биоэнергетики // Соровский образоват. журн.—1997.—№ 1.—С. 9—14.
76. Скулачев В. П. Эволюция, митохондрии и кислород // Соровский образоват. журн.—1999.—№ 9.—С. 4—9.
77. Барабой В. А. Клеточный стресс, стрессовые белки и устойчивость живых систем // Актуал. пробл. медицины и биологии.—1993.—№ 1.—С. 12—18.
78. Roll D., Murphy B., Laderoute K., Sutherland R. S. Oxygen regulated 80 kDa protein and glucose regulated 78 kDa protein are identical // Mol. and Cell. Biochem.—1991.—103.—P. 141—148.
79. Зинченко В. А. Закономірності і механізми формування та подолання радіорезистентності клітин пухлини // Автореф. дис. ... д-ра біол. наук.—Київ, 1999.—35 с.
80. Fortin A., Raybaud-Diogene H., Tetu B., Deschenes R., Huot J., Landry J. Overexpression of the 27 kDa heat shock protein is associated with thermoresistance and chemoresistance but not with thermoresistance and chemoresistance // Int. J. Radiat. Oncol. and Biol. Phys.—2000.—46.—P. 1259—1266.
81. Барабой В. А., Кулик Г. И., Зинченко В. А., Король В. И. Содержание тиоловых групп в сыворотке крови и тканях опухоли крыс с интактными и радиорезистентными вариантами карциномы Герена // Укр. биохим. журн.—1996.—68, № 1.—С. 61—65.
82. Барабой В. А., Білюк Ю. М., Зинченко В. А. Особливості реакції на променеви терапію радіорезистентного варіанту карциноми Герена щурів // Укр. радіол. журн.—1998.—6, № 1.—С. 67—69.
83. Lee H. C., Kim D. W., Jung K. Y., Park I. C., Park M. J., Kim M. S., Woo S. H., Rhee C. H., Yoo H., Lee S. H., Hong S. J. Increased expression of antioxidant enzymes in radioresistant variant from U251 human glioblastoma cell line // Int. J. Mol. Med.—2004.—13.—P. 883—887.
84. Поповская Т. Н. Иммунотерапия — современный стандарт лекарственного лечения рака почки // Междунар. мед. журн.—2004.—№ 2.—С. 93—95.
85. Asanuma K., Moriai R., Yajima T., Yagihashi A., Yamada M., Kobayashi D., Watanabe N. Survin as a radioresistance factor in pancreatic cancer // Jap. J. Cancer Res.—2000.—91.—P. 1204—1209.
87. Lehnert S., Vestergaard J., Batist G., Aloui-Jamali M. A. Radiation resistance in a melphalan-resistant subline of a rat mammary carcinoma // Radiat. Res.—1994.—139.—P. 232—239
88. Зинченко В. А., Кулик Г. И., Соляник Г. И. Перекрестная радио- и химиорезистентность злокачественных новообразований // Материалы X съезда онкологов Украины (Ялта, 10—12 октября 2001 г.).—Ялта, 2001.—С. 39—40
89. Барабой В. А., Зинченко В. А., Гавриленко М. Ф., Бобро Л. І., Бондарук О. С., Трутинцева І. Є. Терморадіотерапія в онкології // Укр. радіол. журн.—1995.—3, № 4.—С. 372—380.
90. Зинченко В. А. О механизмах комбинированного действия радиации и гипертермии на опухолевые клетки // Биополимеры и клетка.—1998.—14, № 2.—С. 93—98.
91. Ганул В. Л., Барабой В. А., Зинченко В. А., Сегеда Т. П. Цитокинетическая характеристика индуцированных ДМБА опухолей крыс при различных вариантах терморadio-терапии // Вопр. онкологии.—1992.—38, № 11.—С. 1376—1379.
92. Барабой В. А., Танцюра Т. В., Зинченко В. А., Коваленко Л. С., Лавренчук Г. Й. Морфометрична характеристика культури клітин L929 після термічного та радіаційного впливу // Биополимеры и клетка.—1999.—15, № 1.—С. 1—4.
93. Коваленко М. В., Зинченко В. А., Барабой В. А. Таксол як радіосенсибілізуючий агент // Фармацевт. журн.—1999, № 1.—С. 52—58.
94. Зинченко В. А., Гриневич Ю. Я., Береш Й. Можливості підвищення чутливості злоякісних новоутворень до променевої терапії застосуванням концентрату мікроелементів // Укр. радіол. журн.—1998.—6, № 1.—С. 59—62.

УДК 574.24:616-006
Надійшла до редакції 10.12.04