

Т.П. ПЕРЕРВА, А.С. ДВОРНИК, А.Ю. МИРЮТА,  
Л.П. МОЖИЛЕВСКАЯ, В.А. КУНАХ

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины,  
ул. Акад. Заболотного 150, 03143, Киев, Украина  
E-mail: kunakh@imbg.org.ua

## БАКТЕРИАЛЬНАЯ ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ПЕРВИЧНОГО СКРИНИНГА ВЕЩЕСТВ С ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ



*Показана принципиальная возможность тестирования антиопухолевой активности в бактериальной системе, представленной *Escherichia coli* дикого типа и ее MS2-индуцированным мутантом. Исходный штамм выполняет роль индикатора на токсические свойства тестируемых веществ, а мутантный — роль специфической тест-культуры, моделирующей опухолевую клетку. Сравнение данных, описанных для высших организмов, с данными, полученными в предложенной бактериальной тест-системе, показало адекватность ответа обоих штаммов на вещества с уже установленными противоопухолевыми свойствами. Полученные результаты расцениваются как обнадеживающие для дальнейшей разработки тест-системы в направлении ее использования для первичного скрининга антиопухолевых веществ.*

© Т.П. ПЕРЕРВА, А.С. ДВОРНИК, А.Ю. МИРЮТА,  
Л.П. МОЖИЛЕВСКАЯ, В.А. КУНАХ, 2007

ISSN 0564–3783. Цитология и генетика. 2007. № 4

**Введение.** Одной из важнейших проблем современной медицины является борьба со злокачественными новообразованиями, занимающими одно из первых мест среди причин смертности почти во всех странах мира. Необходимость поиска новых путей и методов лечения опухолей способствовала в свое время развитию нового направления онкологии — лечебной терапии, или химиотерапии. Имеется в виду использование специфических веществ, синтетических или естественного происхождения, действие которых было бы выборочно направлено на злокачественное новообразование и не причиняло бы вреда нормальным тканям. Как правило, тестирование препаратов на противоопухолевую активность предусматривает использование лабораторных животных и культур клеток млекопитающих, что предполагает сложность и высокую финансовую стоимость необходимых исследований. Совокупность всех этих обстоятельств обуславливает необходимость поиска и развития новых и дешевых тест-систем, использование которых позволило бы проводить первичный скрининг большого количества веществ за короткое время с дальнейшим их исследованием в классических тест-системах. Значительный интерес в этом отношении вызывают бактериальные модели — направление, детально разработанное в трудах Затулы [1]. Интерес к бактериальным моделям обусловлен не только удобством работы с ними или их дешевизной, но и тем обстоятельством, что микроорганизм и раковая клетка имеют ряд общих характеристик, например, исключительную автономность, ускоренный темп деления и сдвиг процессов дыхания преимущественно в сторону гликолиза. Некоторые исследователи предложили специальные тест-микробы, полученные как мутанты с измененным метаболизмом, приближенным к опухолевой клетке. Примером могут служить мутанты *Sacharomyces cerevisiae*, *Staphylococcus aureus* 209, *Escherichia paracoli*, *Escherichia coli* с дефектом окисления, напоминающим окисление в раковой клетке [2]. Один из них, *St. aureus* 209 УФ-3, по характеру дыхания был самым близким к опухолевой клетке и оказался наиболее приспособленным к отбору продуцентов противоопухолевых антибиотиков [3].

Затула с соавт. [4] предложили *Bacillus megaterium* H. как тест-объект для отбора ингибиторов злокачественного роста. Эта культура име-

ла антигенное сродство с клетками злокачественных опухолей, что давало основание считать ее моделью опухолевой клетки. Кроме того, по сравнению с другими микроорганизмами она оказалась более чувствительной к действию антибластомных препаратов. Совершенно естественно, что сходство с опухолевой клеткой может по-разному проявляться у разных видов и штаммов микроорганизмов, в связи с чем поиск новых тест-объектов микробного происхождения для скрининга антиопухолевых веществ представляется достаточно перспективным.

Ранее нами был описан штамм *E. coli* Lys23 – MS2-индуцированный мутант *E. coli* AB259 Hfr3000 [5, 6]. Мутантный штамм характеризуется рядом свойств, совпадающих с основными признаками трансформированных клеток высших организмов. К ним относятся: 1) способность к росту и делению при повышенной сравнительно с диким типом концентрации клеток в жидкой культуре; 2) способность к образованию изолированных колоний на газоне клеток дикого типа; 3) повышение скорости роста, деления и, соответственно, частоты инициации репликации; 4) увеличение разницы в скорости роста и деления на обедненных жидких средах; 5) устойчивость к некоторым бактериофагам, в том числе к MS2, на уровне проникновения в клетку; 6) изменение морфологии клеток (увеличение размеров, наличие нескольких нуклеоидов в одной клетке, исчезновение жгутиков, слипание с образованием конгломератов); 7) повышенная живучесть клеток – выживание в течение нескольких лет при хранении в жидкой питательной среде без пересевов на свежую среду; 8) изменение структурных и функциональных свойств мембран и оболочки (нарушение транспорта углеводов, изменение состава клеточной стенки – мозаичное окрашивание по Грамму, обеднение антигенного состава); 9) многоступенчатость процесса, ведущего к установлению данного фенотипа (наличие промежуточных форм, предваряющих окончательный вариант); 10) появление целого ряда новых свойств, связанных с изменениями в пределах достаточно небольшого участка хромосомы на фоне сохранения основных функций генетического аппарата (отсутствие признаков термочувствительности и

ауксотрофности у мутанта, демонстрирующего такой широкий набор фенотипических отклонений от исходного типа).

Совокупность всех этих признаков отвечает формальным признакам трансформированной клетки эукариот и позволяет предположить, что мутантные клетки *E. coli* Lys-23 могут оказаться более чувствительными к ингибирующему действию антиопухолевых веществ, чем клетки дикого типа *E. coli* 3000.

Ниже описаны результаты опытов, на основании которых мы предлагаем бактериальную тест-систему, состоящую из двух изогенных штаммов – *E. coli* AB259Hfr3000 и его MS2-индуцированного мутанта *E. coli* Lys23 [7]. Исходный штамм в этой тест-системе исполняет роль индикатора на токсические свойства тестируемых веществ, а мутантный штамм – роль специфической тест-культуры, моделирующей опухолевую клетку, включая ее чувствительность к антиопухолевым препаратам.

**Материалы и методы. Бактерии.** В работе использовался штамм AB259Hfr3000 (*E. coli* 3000), полученный из Института молекулярной биологии РАН, и его мутант *E. coli* Lys23, описанный нами ранее [5, 6].

**Питательные среды.** Бактерии выращивали на питательной среде LB (Luria Broth) [8]. В двуслойных посевах по Грациа [9] использовали LB агаризованную среду (1,8 % – для нижнего слоя и 0,6–0,8 % – для верхнего слоя). Опыты по выявлению ингибирующего действия тестируемых соединений проводили с использованием аминокислотного бульона (АПБ), приготовленного на основе аминокислота (АП) Санкт-Петербургского завода медпрепаратов с физиологическим раствором в соотношении 1 : 2.

**Растительные экстракты.** Экстракт рододендрона желтого *Rhododendron luteum* L. (*Rhod. luteum*) был любезно предоставлен Е.И. Дзюбой (Ботанический сад НАНУ), остальные экстракты получены в отделе генетики клеточных популяций Института молекулярной биологии и генетики НАНУ.

Исследовали активность растительных экстрактов, полученных из биомассы культивированных клеток стандартным методом перколяции сухой биомассы в 40 %-ном этаноле. Конечное соотношение спирт : биомасса соста-

вило 10 : 1. Источником биомассы служили биомасса культуры тканей женьшеня настоящего *Panax ginseng* С.А.Меу. из семейства *Araliaceae* (штамм *Panax* БЮ-2МК, коллекционный № 11, ККК ИМБиГ НАН Украины, Киев) — далее экстракт *P. ginseng*; полисциаса папоротниколистного *Polyscias filicifolia* Bailey из семейства *Araliaceae* (штамм *Polyscias* F-2, коллекционный № 6, ККК ИМБиГ НАН Украины, Киев) — далее экстракт *P. filicifolia*; родиолы розовой *Rhodiola rosea* L. из семейства *Crasulaceae* (штамм ЗК-1, коллекционный № 29, ВСКК-ВР, Москва, Россия) — далее экстракт *Rh. rosea*; унгернии Виктора *Ungernia victoris* Vved. ex Artjuschenko из семейства *Amaryllidaceae* (штамм UV-2, коллекционный № 10, ККК ИМБиГ НАН Украины, Киев) — далее экстракт *U. victoris*. Использованные штаммы клеточных культур лекарственных растений получены в отделе генетики клеточных популяций Института молекулярной биологии и генетики НАН Украины. Экстракты выпаривали с помощью вакуумно-ротационного испарителя при 40 °С почти до сухого остатка и растворяли в стерильной дистиллированной воде до исходного объема экстракта.

**Лекарственные препараты.** Использовали аптечные препараты преднизолон (производство Гедеон Рихтер, Венгрия), дексаметазона (производство KRKA, Словения) и вепезида (Бристол-Майерс, Сквипб, США).

**Определение биологической активности тестируемых препаратов.** Культуры *E. coli* 3000 и *E. coli* Lys23 выращивали на протяжении 18 ч (ночь) с аэрацией в жидкой LB-среде. На следующий день культуры разводили в АПБ до оптической плотности (ОП)<sub>550</sub> = 0,1, разливали по пробиркам и добавляли в определенных дозах (процент от объема) экстракт (в опыте) или физиологический раствор — 0,9 % NaCl (в контроле).

Активность экстрактов определяли по их способности влиять на рост обоих штаммов *E. coli*. Уровень роста определяли как оптическую плотность (ОП<sub>550</sub>), которой культуры достигали через 48 ч выращивания при 37 °С без аэрации, и представили на рисунках как процент относительно соответствующего контроля. В тех случаях, когда наблюдалось ингибирование роста культуры на несколько порядков (экстракт рододендрона, преднизолон), уровень рос-

та определяли титрованием на твердой среде и представили на рисунках как lg %.

В опытах с экстрактом *Rhod. luteum* интенсивность роста культур определяли титрованием на твердой среде, поскольку внесение этого экстракта в жидкую среду создавало мутность и мешало определению ОП.

Искомым эффектом считали способность исследуемого препарата угнетать рост мутантной культуры, практически не влияя или влияя незначительно на рост культуры дикого типа.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента [10].

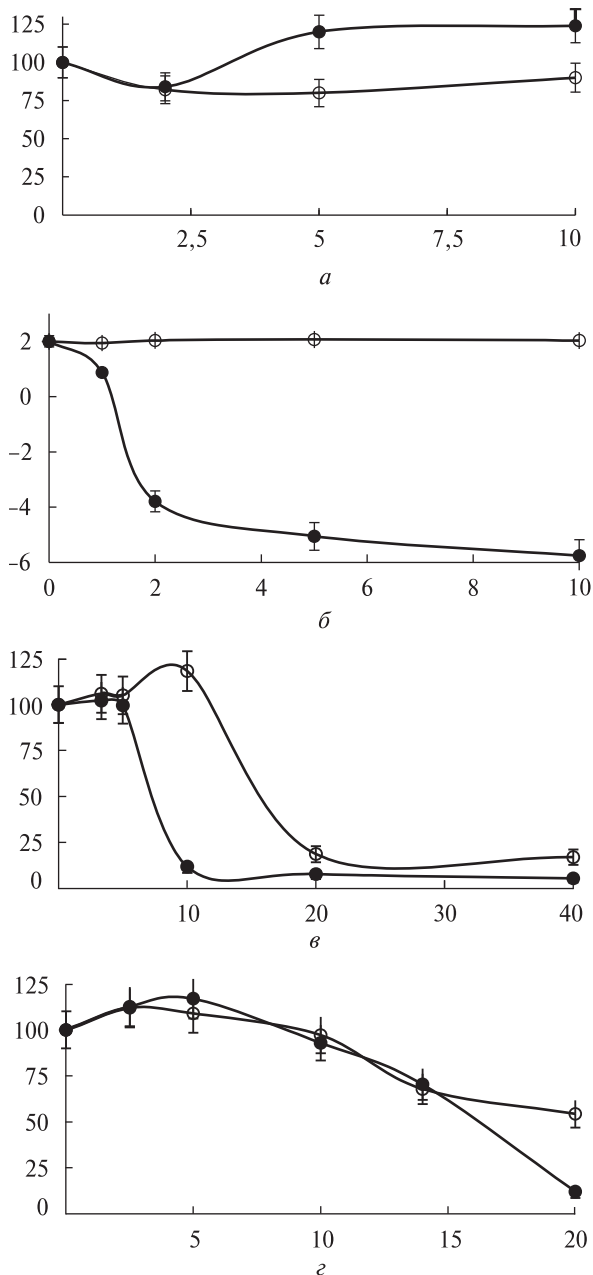
**Результаты исследований. Препараты растительного происхождения.** Для исследования возможностей предлагаемой нами тест-системы были выбраны две группы экстрактов: 1) для которых установлено наличие противоопухолевой активности — экстракт рододендрона желтого (*Rhod. luteum*) [11], экстракты биомассы культивированных клеток женьшеня настоящего (*Panax ginseng*) [12, 13] и родиолы розовой (*Rhodiola rosea*) [13, 14]; 2) для которых антиопухолевая активность не установлена — экстракт биомассы культивированных клеток унгернии Виктора (*U. victoris*).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что экстракт *U. victoris* в концентрации 2–10 % слабо стимулировал рост мутантной культуры и немного угнетал рост культуры дикого типа, хотя этот эффект и не достигал достоверного уровня (рис. 1, а).

В то же время экстракт *Rhod. luteum*, который в широком диапазоне концентраций (1–10 %) не оказал достоверного влияния на рост клеток дикого типа, в тех же дозах ингибировал рост мутантной культуры на несколько порядков (рис. 1, б).

Экстракт *Rh. rosea* в одинаковой степени ингибировал рост клеток обоих типов при высоких концентрациях (20 и 40 %), не влиял на их рост при низких концентрациях (3 и 5 %) и демонстрировал четкое избирательное действие в концентрации 10 % — несколько стимулировал рост клеток дикого типа и существенно угнетал (11,89 ± 3,45 % остаточного роста) рост мутантных клеток (рис. 1, в).

Что касается экстракта *P. ginseng*, то в диапазоне 2,5–10 % он практически не влиял на рост



**Рис. 1.** Влияние разных концентраций экстрактов (по горизонтали – %) *U. victoris* (а), *Rhod. luteum* (б), *Rh. rosea* (в) и *P. ginseng* (г) на рост клеток дикого штамма *E. coli* 3000 (○) и мутантного штамма *E. coli* Lys-23 (●); по вертикали – оптическая плотность, %

обеих культур, при концентрации 14 % угнетал его в одинаковой степени, а при концентрации 20 % демонстрировал избирательное действие – сильно ингибировал рост мутант-

ных клеток ( $12,2 \pm 3,49$  % остаточного роста) на фоне достоверно более слабого ингибирования роста клеток дикого типа ( $54,33 \pm 7,37$  % остаточного роста) (рис. 1, г).

Итак, проверенные нами растительные препараты с известной антиканцерогенной активностью сохраняют свое избирательное действие и в бактериальной системе *E. coli* дикого и мутантного типов, демонстрируют четкую индивидуальную зависимость от дозы, и в зависимости от своей ингибирующей активности могут быть расположены в такой последовательности: *Rhod. luteum* > *Rh. rosea* > *P. ginseng*.

**Лекарственные средства.** Специфический антиопухолевый препарат везепид демонстрирует четкую избирательность, проявляя свою активность в бактериальной тест-системе. Ингибирование роста мутантного штамма составляет около 90 % исходной оптической плотности культуры и достигается при концентрации препарата 125 мкг/мл, оставаясь на этом уровне до концентрации 500 мкг/мл. Следует отметить, что везепид оказался токсичным и для культуры дикого типа, резко снижая ее оптическую плотность до 50 % от исходного значения и удерживая ее на одном уровне в диапазоне концентраций от 15 до 500 мкг/мл (рис. 2, а).

Из двух проверенных нами гормональных препаратов прежде всего привлекает внимание дексаметазон. Он единственный не только не проявляет ингибирующего действия на рост клеток дикого типа, но даже усиливает его. Рост мутантного штамма в присутствии низких концентраций дексаметазона (до 0,4 мг/мл) незначительно колеблется, однако при высоких концентрациях наблюдается значительное ингибирование роста мутантного штамма по сравнению со штаммом дикого типа (рис. 2, б).

В отличие от дексаметазона преднизолон (рис. 2, в) оказался токсичным для обеих культур при всех испытанных концентрациях, однако на этом фоне также заметна достаточно четкая избирательность препарата, поскольку рост культуры дикого типа ингибируется на несколько порядков слабее, чем рост мутантной культуры.

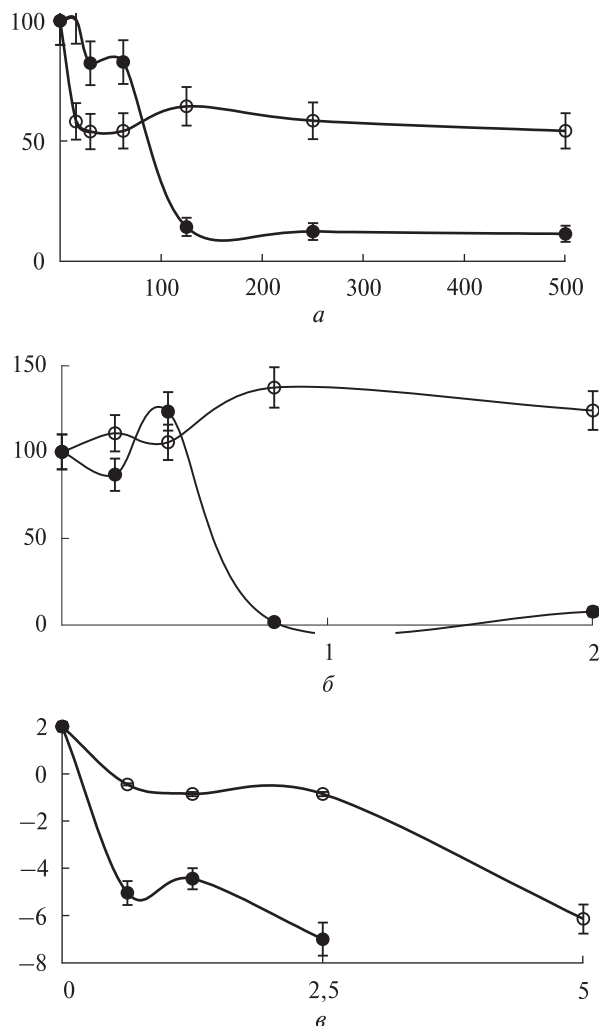
Итак, проверенные нами фармакопейные препараты, используемые в онкологической практике, проявляют свое избирательное действие и четкую индивидуальную зависимость от дозы в бактериальной системе *E. coli* дико-



го и мутантного типов независимо от того, что только один из них — вепезид — считается специфическим антиопухолевым препаратом.

**Обсуждение полученных данных.** Описанная в работе бактериальная система *E. coli* дикого и мутантного типов реагирует на обработку препаратами с известной противоопухолевой активностью соответственно эффектам, показанным для этих препаратов на клетках высших организмов. Наличие такой адекватной реакции обоих штаммов на соединения, используемые в практике лечения онкологических заболеваний, усиливает аналогию между мутантным штаммом и опухолевой клеткой. Невзирая на совершенно понятную условность данной трактовки, предложенная бактериальная тест-система способна, очевидно, оказаться достаточно приемлемой и для тестирования других антиопухолевых соединений. Вместе с тем совершенно логично предположить, что эта система может дать адекватный ответ далеко не на каждый антиопухолевый препарат, поскольку известно, что даже в системе высших организмов реакция на лекарства оказывается разной для различных типов опухолей и даже для отдельных опухолей одного и того же типа [15]. Это обстоятельство очень осложняет скрининг веществ на противоопухолевую активность даже тогда, когда в качестве тест-системы используется не одна, а несколько линий опухолевых клеток высших организмов [16]. Результаты, полученные методом такого тестирования, также не могут быть полностью экстраполированы на реальную ситуацию химиотерапевтического лечения больных онкологического профиля.

Таким образом, ни одна из существующих тест-систем, применяющихся для отбора и характеристики противоопухолевых веществ, не считается универсальной. В связи с этим разработка тест-систем нового типа, особенно тех из них, в основу которых заложен принцип функционального состояния клеточной поверхности с ее сигнальными системами [17, 18], приобретает особое значение. Учитывая, что предложенный нами в качестве тест-объекта мутантный штамм отличается от дикого типа именно структурно-функциональным состоянием оболочки, а также его адекватную реакцию на антиопухолевые вещества разных клас-



**Рис. 2.** Влияние разных концентраций (по горизонтали — мкг/мл) вепезида (а), дексаметазона (б) и преднизолона (в) на рост клеток дикого штамма *E. coli* 3000 (○) и мутантного штамма *E. coli* Lys-23 (●); по вертикали — оптическая плотность, %

сов, предложенная нами тест-система выглядит достаточно перспективно для дальнейшей разработки при условии изучения широкого арсенала уже известных антиопухолевых веществ и выяснения механизмов ответа тест-штамма на их биологическое действие.

На данном этапе проверенные нами лекарственные средства включали антиопухолевый препарат вепезид и два гормональных препарата — преднизолон и дексаметазон. Вепезид (этопозид), полусинтетическое производное подофилотоксина, применяется для лечения устой-

чивых к терапии опухолей яичка, мелкоклеточных анапластических опухолей легких, карциномы легких, лимфогранулематоза, злокачественных лимфом гистиоцитарного типа и острого нелимфоцитарного лимфоидного лимфоидоза. По механизму действия основным эффектом вепезида на макромолекулы является угнетение синтеза ДНК. Начиная с концентрации 10 мкг/мл, наблюдается также лизис клеток, входящих в митоз.

Падение ОП клеток дикого типа соответствует приблизительно этой концентрации вепезида, тогда как падение ОП клеток мутантного типа соответствует концентрации в 10 раз выше. Это может быть связано с тем, что мутантные клетки имеют несколько нуклеотидов, структура и размеры которых явно отличаются от нуклеотидов дикого типа. В связи с этим подавление синтеза ДНК мутантов может потребовать большего количества лекарственного средства. Вместе с тем значительное уменьшение ОП мутантных клеток по сравнению с диким типом может быть обусловлено дефектами мембран оболочки первых и, соответственно, более интенсивным их лизисом.

Интересно, что ОП обработанных вепезидом клеток обоих типов остается на постоянном уровне независимо от увеличения концентрации препарата, т. е. угнетение клеточного метаболизма не требует очень высоких концентраций указанного лекарственного средства, что делает возможным расчет его необходимой минимальной дозы для систем *in vitro* и *in vivo*.

Аналоги гормона коры надпочечников — преднизолон и дексаметазон — применяются при острой лимфатической и миелоидной лейкемии, а также при инфекционном мононуклеозе как препараты противовоспалительного и антиаллергического действия, а также в связи с их способностью угнетать митоз лимфоцитов. По механизму действия гормональные препараты отличаются от цитотоксических противоопухолевых средств. Основная их роль состоит в восстановлении нарушенной гуморальной регуляции функции клеток. Вместе с тем не исключается и специфическое их влияние на опухолевые клетки: в некоторой степени они тормозят деление клеток и способствуют их дифференциации. Наряду с этим при лечении опухолей коры надпочечников и рака молочной железы применяют ингибиторы син-

теза этих гормонов — хлоридитан и аминоклотеимид [19], которые угнетают секрецию глюкокортикоидов и могут вызвать деструкцию как нормальной, так и опухолевой ткани коры надпочечников. Таким образом, указанные гормоны (а возможно, и другие) имеют неоднозначное влияние на опухоли разного происхождения, ингибируя их в одном случае и стимулируя в другом. В связи с этим мы считали важным отследить их действие на чисто клеточном уровне в предложенной нами бактериальной тест-системе.

Результаты такого тестирования свидетельствуют о том, что хотя преднизолон угнетает рост обоих штаммов, а дексаметазон только мутантного, избирательность биологической активности этих гормонов прослеживается также, как и в опытах с другими антиопухолевыми веществами. Исходя из этого можно предположить, что указанные гормональные препараты могут обладать специфической противоопухолевой активностью на клеточном уровне, что согласуется с их способностью активно связываться с внутриклеточными цитоплазматическими рецепторами и регулировать экспрессию специфических генов, локализованных на ядерной ДНК [20].

**Выводы.** Разработанная нами бактериальная система, состоящая из двух изогенных штаммов — АВ259Нfr3000 и его MS2-индуцированного мутанта *E. coli* Lys23, может быть перспективной для ее дальнейшей разработки как тест-системы, приспособленной для скрининга соединений растительного и синтетического происхождения на наличие у них потенциальной противоопухолевой активности, реализуемой не на организменном, а на клеточном уровне. К преимуществам предложенной тест-системы относится возможность регистрации в ее рамках уровня токсичности тестируемых веществ для нормальных клеток.

**SUMMARY.** A principle possibility of antitumour activity test in bacterial system represented by *Escherichia coli* of the wild type and its MS2-induced mutant has been shown. The initial bacterial strain is an indicator of toxic properties of the tested substances and the mutant one is a specific test-culture modelling a tumour cell. The comparison of the data described for eucaryotes with the data obtained using the proposed bacterial test system confirms an adequate response of both strains to the substances with the

proved antitumour properties. The data are considered as very promising for the further improvement of this test system towards its application for primary screening of antitumour substances.

**РЕЗЮМЕ.** Показана принципова можливість тестування антипухлинної активності в бактеріальній системі, представленій *Escherichia coli* дикого типу та її MS2-індукованим мутантом. Вихідний штам виконує роль індикатора на токсичні властивості тестованих речовин, а мутантний – роль специфічної тест-культури, що моделює пухлинну клітину. Порівняння даних, описаних для вищих організмів, з даними, одержаними в запропонованій бактеріальній тест-системі, свідчить про адекватний відгук обох штамів на речовини з уже відомими протипухлинними властивостями. Отримані результати розцінюються як обнадійливі для подальшої розробки даної тест-системи у напрямку її використання для первинного скринінгу антипухлинних речовин.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Затула Д.Г. Микробиологические аспекты изучения злокачественных опухолей. – Киев : Наук. думка, 1976. – 240 с.
2. Гаузе Г.Ф. О дефектном окислении в клетках злокачественных опухолей и биохимических мутантов некоторых микроорганизмов // Усп. соврем. биологии. – 1959. – 47, № 1. – С. 100–107.
3. Гаузе Г.Ф., Кочеткова Г.В., Владимиров Г.Б. Биохимические мутанты стафилококков с поврежденным окислением как тест-объекты при изысканиях противораковых антибиотиков // Докл. АН СССР. – 1957. – 117, № 4. – С. 720–722.
4. Затула Д.Г., Волинець А.К., Резнік С.Р., Слабоспицька А.Т., Кривовська С.С. Використання *Vas. tegeterium* H для відбору протипухлинних речовин рослинного походження // Мікробіол. журн. – 1970. – 32, № 4. – С. 491–494.
5. Перерва Т.П., Малюта С.С. Система MS2-індуцированих мутантів *E. coli* по F-фактору // Молекуляр. біологія. – 1984. – Вып. 38. – С. 90–95.
6. Pererva T.P. Some properties of MS2-induced bacterial mutants // Биополимеры и клетка. – 1998. – 14, № 3. – С. 231–237.
7. Перерва Т.П., Дворник А.С., Мирюта Г.Ю., Можилевська Л.П., Кунах В.А. Бактеріальна тест-система для первинного скринінгу на протипухлинну активність : Деклараційний патент на корисну модель // Бюл. – 2005. – № 3.
8. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике. – М.: Мир, 1976. – 460 с.
9. Адамс М. Бактериофаги. – М.: Изд-во иностр. литры, 1961. – 527 с.
10. Урбах В.Ю. Математическая статистика для биологов и медиков. – М.: Изд-во АН СССР, 1963. – 323 с.
11. Дзюба О.І., Головка Е.А. Сапоніни рододендрона жовтого та їх біологічна активність // Физиология и биохимия культур. растений. – 2000. – 32, № 6. – С. 469–473.
12. Беспалов В.Г., Лимаренко А.Ю., Давыдов В.В., Войтенков В.О., Молоковский Д.С., Овсянников А.И., Слепнян Л.И., Александров В.А., Миронова Л.В., Сацыперова И.Ф. Антикancerогенные и противоопухолевые свойства препаратов из биомассы *Panax ginseng* С.А.Меу и его германий-селективных штаммов // Растит. ресурсы. – 1993. – 29, вып. 4. – С. 1–13.
13. Бочарова О.А., Серебрякова Р.В. Испытание препаратов растительного происхождения для профилактики и нетоксической терапии онкологических заболеваний на экспериментальных моделях // Вестн. РАМН. – 1994. – № 2. – С. 52–55.
14. Бочарова О.А., Фигурин К.М., Серебрякова Р.В., Филиппова Т.Г., Барышников А.Ю. Коррекция препаратом *Rhodiola rosea* адгезии клеток уротелия и иммунного статуса у больных поверхностным раком мочевого пузыря // Иммунология. – 1994. – № 1. – С. 51–54.
15. Osada S., Osada K., Carr B.I. Tumor cell growth inhibition and extracellular signal-regulated kinase (ERK) phosphorylation by novel K vitamins // J. Mol. Biol. – 2001. – 314. – P. 765–772.
16. Бенимович М.С. Использование систем *in vitro* для изучения действия противоопухолевых препаратов. – М.: ВИНТИ, 1987. – С. 106–155 (Итоги науки и техники. Онкология; т. 16).
17. Чехун Е.Ф., Кулик Г.І., Триндяк В.П., Тодор І.М. Молекулярно-біологічні аспекти структурно-функціонального стану клітинної поверхні як основа розвитку нової стратегії терапії раку // Онкологія. – 2002. – 4, № 1. – С. 4–8.
18. Blume-Jensen P., Hunter T. Oncogenic kinase signaling // Nature. – 2001. – 411, № 6835. – С. 355–365.
19. Машковский М.Д. Лекарственные средства : Пособие для врачей. – М.: Медицина, 1993. – 736 с.
20. Смирнова О.В., Богорад Р.Л. Короткие формы мембранных рецепторов: образование и роль в проведении гормонального сигнала // Биохимия. – 2004. – 69, вып. 4. – С. 437–452.

Поступила 04.07.06