

Н.А. ТРЕГУБОВА, О.В. ЮРЧЕНКО, И.Н. ТОДОР,  
В.С. СУДЯКОВ, Г.И. КУЛИК, В.Ф. ЧЕХУН

Институт экспериментальной патологии, онкологии  
и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев

## ОСОБЕННОСТИ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК КАРЦИНОМЫ ЛЮИС (3LL) В ПРОЦЕССЕ ФОРМИРОВАНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ДЕЙСТВИЮ ЦИСПЛАТИНА



*Проведено электронно-микроскопическое исследование морфологического состояния опухолевых клеток карциномы 3LL (Люис) в процессе формирования их резистентного фенотипа под воздействием противоопухолевого препарата цисплатина. В результате проведенных исследований установлено, что при этом имеет место селекция определенных опухолевых клеток, формирующих клоны клеток с более усложненной организацией ядра и цитоплазмы. В ядре определено увеличение числа пор ядерной оболочки с расширением диафрагм и наличием крупных ядрышек, состоящих из активных центров, которые окружены значительными площадями конденсированного околоядрышкового хроматина. Цитоплазма клеток содержит хорошо развитый комплекс Гольджи и множественные хорошо структурированные миелиноподобные образования в виде плотно упакованных концентрических мембранных структур. Полученные данные могут послужить морфологическим подтверждением гипотезы Gately et al., 1993, о том, что в процессе формирования резистентного фенотипа опухолевые клетки создают клеточные механизмы, направленные как на устранение препарата из клетки, так и на коррекцию повреждений в клеточном ядре и цитоплазме.*

© Н.А. ТРЕГУБОВА, О.В. ЮРЧЕНКО, И.Н. ТОДОР,  
В.С. СУДЯКОВ, Г.И. КУЛИК, В.Ф. ЧЕХУН, 2006

**Введение.** Современную противоопухолевую терапию сопровождает появление популяций опухолевых клеток, резистентных к действию химиопрепаратов, что существенно снижает эффективность лечения. До сих пор недостаточно изучены и понятны клеточно-молекулярные механизмы устойчивости опухолевых клеток к действию цитостатиков (врожденные или приобретенные), однако установлено, что при этом происходит падение уровня накопления препарата клеткой, нарастает инактивация препарата путем повышения содержания нуклеофилов (глутатион и металлотионеин) и нарастают индуцированные химиопрепаратами повреждения ДНК, что способствует дальнейшей манифестации опухолевого процесса [1–3].

Многочисленные данные литературы, посвященные этому феномену, изобилуют фактами, отражающими процесс резистентности на биохимическом, молекулярном и иммунобиологических уровнях [4–13]. При этом существует сравнительно небольшое количество работ, в которых на основании морфологических исследований показана динамика становления фенотипа резистентных клеток. Большинство из них относятся к концу XX столетия, и они в основном выполнены на моделях клеточных культур *in vitro* [4, 6]. Имеются лишь единичные данные, полученные при исследовании ультраструктурных особенностей резистентных опухолей и выполненные на моделях *in vivo* [6–9]. Они посвящены изучению реактивности плазматических мембран опухолевых клеток (плазматическая оболочка, липопротеидные мембраны оболочки ядра, кристы митохондрий), а также изменений структуры хроматина интерфазных ядер лимфоцитов периферической крови животных с перевивной опухолью [8, 9].

Целью настоящей работы является изучение динамики морфо-функциональных особенностей ультраструктурной организации опухолевых клеток карциномы 3LL в условиях выработки их устойчивости к действию противоопухолевого препарата цисплатина.

**Материалы и методы.** Моделью опухоли была взята перевивная мышьяная карцинома Люис (3LL). Из литературы известно, что она является спонтанной опухолью легких, полученной на C57BL/6 мышах Маргаритой Люис в Вистеровском Институте Израиля [17, 18].

В работе использованы животные разводки вивария ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины — мыши линии С57BL/6. Группы формировали из животных одной массы (22—25 г) и одного возраста. На всех этапах исследования животных разделяли на две основные подгруппы — контрольную и опытную. Сформированным группам животных внутримышечно вводили суспензию опухолевых клеток карциномы 3LL в область бедра из расчета  $1,5-2 \cdot 10^6$  клеток на мыш. После появления опухоли животные опытных групп получали курс химиотерапии в виде пяти внутримышечных инъекций цисплатина в дозе 1,2 мг/кг массы, вводимых через день. По окончании курса лечения спустя 5 дней животное-опухоленоситель умерщвляли, из его опухоли готовили суспензию клеток, которую вводили следующей группе экспериментальных животных (опытным и контрольным). Животные опытных групп, в свою очередь, получали курс химиотерапии в виде тех же пяти инъекций цисплатина, вводимых через день и в той же дозе. Всего было проведено 27 этапов формирования резистентности. Для исследования ультраструктурной организации опухолевых клеток в динамике формирования резистентного фенотипа умерщвляли животных-опухоленосителей на 13, 15, 17, 21, 24, 26, 28-й дни роста опухоли на 9, 19, 27-м этапах выработки резистентности.

**Метод электронной микроскопии.** Кусочки опухоли размером до 0,3 мм иссекали из зон, лишенных некроза, фиксировали в 1,6%-ном растворе глутаральдегида на 0,1 М Na-какодилатном буфере (рН 7,2—7,4) с последующей дофиксацией в 2%-ном растворе осмиевой кислоты, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне, пропитывали и заключали в смеси эпоксидных смол с последующей полимеризацией при 37 и 60 °С. Для прицельного изучения определенных участков опухоли предварительно готовили и исследовали полутонкие срезы.

**Приготовление полутонких срезов.** Из полученных блоков готовили срезы толщиной 1 мкм, полученные с помощью ультратома LKB, окрашивали их смесью растворов 1%-ного раствора метиленового синего и 1%-ного раствора буры в равных частях. После окрашивания и

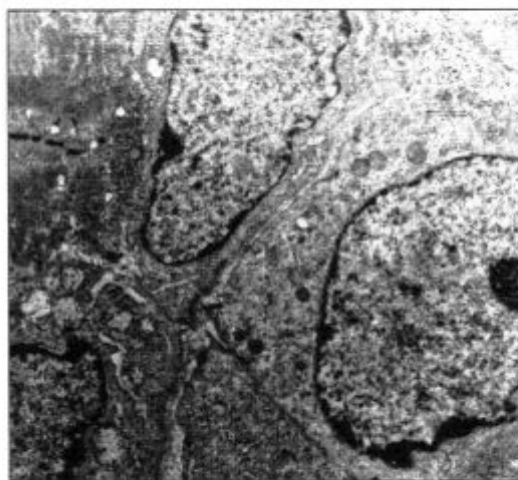


Рис. 1. Опухоль 3LL/S, 13-е сутки роста. Тяжи опухолевых клеток прорастают мышечную ткань. Опухолевые клетки с крупным ядром, в цитоплазме каналцы ГЭР, митохондрии. Межклеточные пространства расширены. Ув. 2000

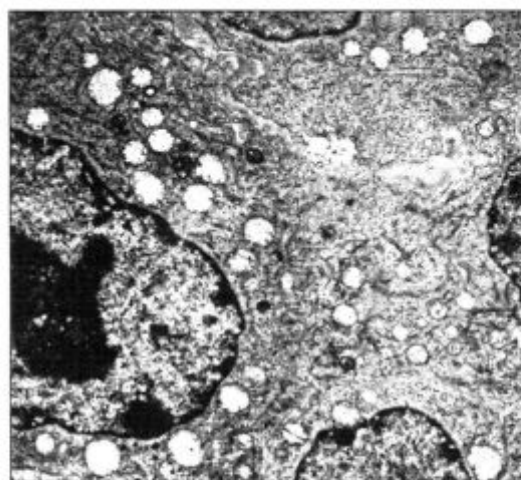


Рис. 2. Опухоль 3LL/S, 21-е сутки роста: в цитоплазме обилие свободных рибосом, каналцы ГЭР, митохондрии, миелиноподобные структуры. Ув. 3300

высушивания препараты просматривали под световым микроскопом и выбирали нужный участок среза, после чего лицевую сторону блока обрезали, сохраняя лишь избранный участок для последующей ультратомной резки. Из полученных блоков готовили тонкие срезы, монтировали их на палладиевые сетки, окрашивали растворами уранилацетата и цитрата свинца и исследовали в электронном микроскопе JEM-100В при ускоряющем напряжении 60 В.

**Результаты исследования и обсуждение.** Ультр-структурная организация опухолевых клеток карциномы 3LL исходного (чувствительного) варианта. Были исследованы ультраструктурные особенности опухолей животных на 13, 17, 21, 24, 28-е сутки роста. На 13-е сутки роста опухоли в ней преобладали сформированные очаги пролиферации опухолевых клеток с тенденцией к инвазивному росту; тяжи опухолевых клеток прорастали мышечную ткань (рис. 1). Опухолевые пласты были сформированы двумя типами опухолевых клеток. Преобладали светлые клетки с незначительным количеством органелл и крупным ядром, содержащим диффузный хроматин. По периферии опухолевых пластов наблюдали более электронноплотные клетки, цитоплазма которых содержала многочисленные органеллы: митохондрии, каналы гранулярного эндоплазматического ретикулаума (ГЭР), 1–2 локуса комплекса Гольджи, значительное количество свободных рибосом.

Такие же признаки морфологического строения сохранялись и к 17-м суткам роста опухоли. Как правило, светлые полиморфные клетки занимали центральные зоны опухолевых пластов, а тяжи инфильтративного роста состояли из электронноплотных опухолевых клеток с большим количеством рибосом и полисом. Как светлые, так и электронноплотные клетки, по нашему мнению, имеют единое происхождение, но обладают разной степенью сложности морфологического строения. Реализуя неконтролируемую способность к пролиферации во время роста опухоли, такие клетки в процессе опухолевой прогрессии утрачивают часть функциональных органелл, сохраняя лишь те, которые необходимы для их деления. Фигуры митозов довольно часто встречались в опухолевых пластах. Межклеточные пространства иногда выглядели расширенными.

К 21-м суткам роста опухоли в центральных зонах опухолевых пластов появлялись очаги некроза. Сохранялась тенденция инвазивного роста. Клетки периферических областей по-прежнему обладали более усложненной организацией. Среди клеточных органелл в значительных количествах определялись митохондрии, немногочисленные каналы ГЭР, локусы

комплекса Гольджи и миелиноподобные структуры, состоящие из концентрически упакованных мембран (рис. 2). Подобные структуры, согласно данным литературы, являются характерным морфологическим признаком клеток опухоли 3LL [16–18].

К 24-м суткам роста опухоли на полутонких срезах опухолевого материала наблюдали хорошо сформированную сеть кровеносных капилляров на фоне увеличения числа очагов некроза. У части клеток определяли ультраструктурные признаки апоптоза. Опухолевые клетки тесно прилегали друг к другу, однако десмосомальных контактов было мало. Наблюдалась также расширение межклеточных щелей, заполненных темным электронноплотным материалом.

К 28-м суткам роста опухоли основная масса злокачественных клеток была представлена светлыми малодифференцированными клетками, среди которых располагалось значительное количество клеток в состоянии некроза разной степени выраженности. В межклеточных щелях наблюдали скопления электронноплотного материала. Мелкие десмосомальные контакты имелись только между отдельными клетками.

Анализ полученных данных показал, что на всех этапах роста опухоль состоит из клеток с упрощенной ультраструктурной организацией, а также со слабыми адгезивными свойствами и контактами. Такая структура опухоли оформляется к 17-м суткам и удерживается к 28-м суткам роста опухоли на фоне нарастающих некротических изменений. К 21–24-м суткам происходит выраженное оформление сети кровеносных сосудов.

Ультраструктура опухолевых клеток характеризуется высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением и скудностью цитоплазматических органелл. Крупное ядро, содержащее активный диффузный хроматин, окружено двухслойной ядерной мембраной с узкими порами. В цитоплазме имеются митохондрии, единичные локусы комплекса Гольджи и малочисленные каналы эндоплазматического ретикулаума. Все это свидетельствует о пролиферативной активности данных опухолевых клеток, что подтверждено и наличием фигур митозов. Ближе к периферии опухолевых пластов располагаются клетки с более услож-



ненной ультраструктурной организацией. Количество их невелико, но их отличает структура хроматина ядра и наличие значительного числа свободных рибосом и полисом, митохондрий, комплекса Гольджи, имеющего 2—3 хорошо выраженных локуса, а также сократительных элемента цитоскелета в кортикальной зоне. Отсутствие в их ультраструктурной организации признаков адгезии, наряду с перечисленными выше морфологическими признаками, косвенно свидетельствует о том, что эти клетки способны мигрировать и таким образом усиливать инвазивные свойства опухоли.

*Ультраструктурная организация опухолевых клеток карциномы 3LL в процессе выработки резистентности (9, 19, 27-й этапы).* Анализ ультраструктуры опухолевых клеток карциномы 3LL на всех этапах выработки резистентности показал, что на всем протяжении роста опухоли она состояла из двух типов клеток: светлых, с упрощенной организацией ядра и цитоплазмы, и электронноплотных, обогащенных клеточными органеллами. Соотношение данных клеточных типов на разных этапах выработки резистентного фенотипа было различно. На более поздних этапах выработки резистентности опухоли к цитотоксическому действию цисплатина количество клеток с усложненной организацией ядра и цитоплазмы увеличивалось. Особенностью строения опухолей с резистентным фенотипом была их более ранняя васкуляризация по сравнению с исходным, чувствительным вариантом. Образование новых кровеносных капилляров начиналось с 17-х суток роста опухоли на 9-м этапе выработки резистентности, а на 29-м этапе они определялись уже на 13—15-е сутки роста опухоли (рис. 3). В исходном варианте оформленную сеть кровеносных сосудов обнаруживали лишь к 21—24-м суткам роста опухоли.

Сравнение ультраструктурной организации опухолевых клеток 9-го этапа выработки резистентного фенотипа с исходным выявило наличие на данном этапе значительного числа электронноплотных клеток с более усложненной структурой ядра и цитоплазмы. Необходимо отметить, что с нарастанием количества этапов выработки резистентности отмечалось постепенное уменьшение влияния препарата

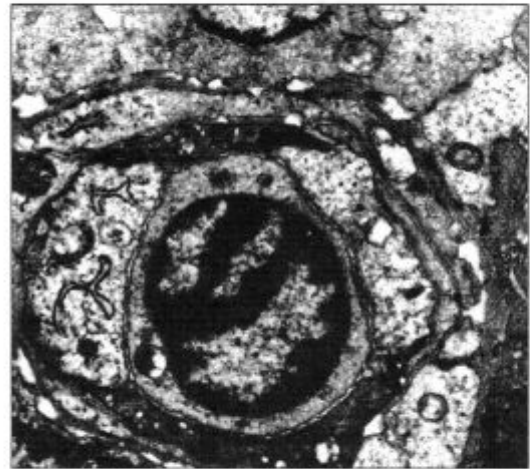


Рис. 3. Опухоль 3 LL/16R, 16-е сутки роста. Оформление кровеносного сосуда в пласте опухолевых клеток. Ув. 5000

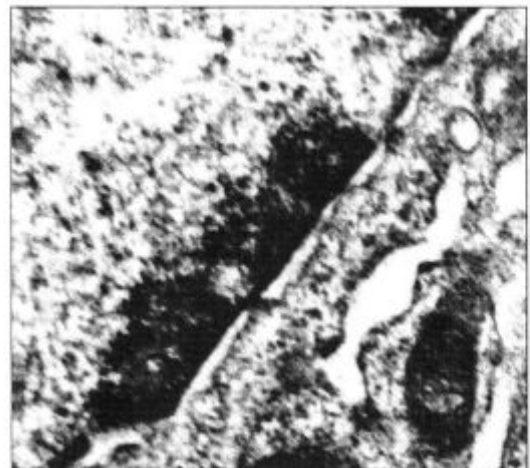


Рис. 4. Опухоль 3LL/27R, 24-е сутки роста. Ядерные поры оболочки ядра в виде дискретных скоплений электронноплотного материала между ядерными мембранами. Ув. 30 000

на первичную опухоль. Так, после девяти этапов выработки резистентности было зарегистрировано торможение роста опухоли на 26 %, к 19-му этапу он упал до 15 %, а к 27—29-му этапам была практически утрачена чувствительность опухолевых клеток к действию препарата (3 %). Опухолевые клетки отличало высокое ядерно-цитоплазматическое соотношение, крупные ядра были округлыми, часто сегментированными, иногда с инвагинациями, порой содержали ядерный карман с цитоплазмой. Ядерная мембрана имела значительное

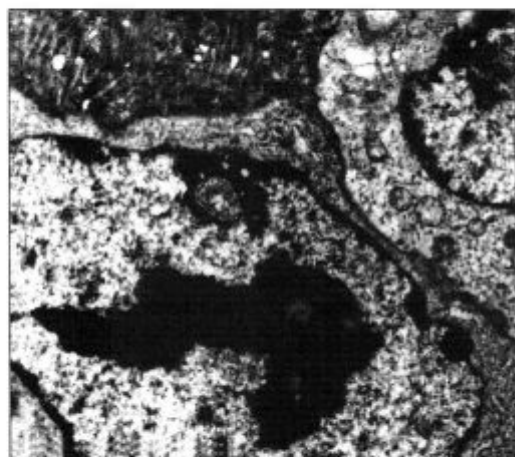


Рис. 5. Опухоль 3LL/9R, 21-е сутки роста. Опухольная клетка у мышечного тяжа: ядро с крупным ядрышком — активные его центры окружены околяядрышковым конденсированным хроматином. Ув. 3300

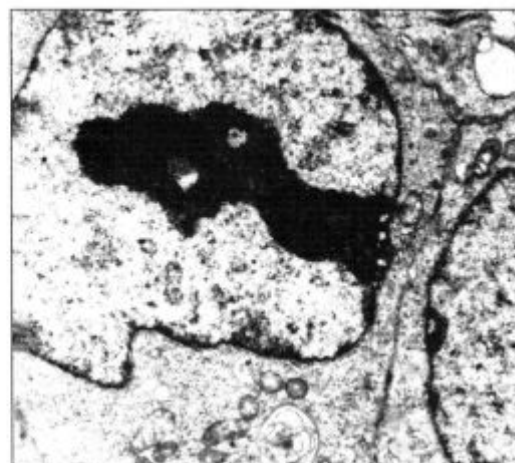


Рис. 6. Опухоль 3LL/27R, 18-е сутки роста. Ядро опухолевой клетки с крупным маргинально расположенным ядрышком; в цитоплазме — миелиноподобные структуры, множественные митохондрии, свободные полисомы и рибосомы. Ув. 3300

количество пор, исследование которых при больших увеличениях электронного микроскопа обнаружило расширение их просветов по сравнению с просветами в клетках исходного варианта и наличие диафрагм в виде скопленных рассеянных электронноплотных дисперсных частиц (рис. 4).

Второй отличительной особенностью ядер таких опухолевых клеток было состояние ядрышек. Ядра опухолевых клеток исходного ва-

рианта имели 2—3 ядрышка, обычно расположенные в центральных зонах. По мере нарастания этапов выработки резистентности в опухолевых пластах увеличивалось количество клеток, которые содержали в маргинальных зонах ядер крупные ядрышки, обширные по площади как за счет активных центров, так и за счет скоплений околяядрышкового конденсированного хроматина (рис. 5 и 6). Количество ядрышек, их размер, форма и структура являются показателями степени транскрипции рибосомных генов, которая зависит от интенсивности клеточного метаболизма, стадии клеточного цикла и степени дифференцировки клетки [19—20]. Функциональная активность ядрышкового аппарата изменяется в процессах пролиферации и дифференцировки клеток [20]. Действительно, в околяядрышковом хроматине ядер опухолевых клеток высоких этапов выработки резистентности наблюдалось увеличение количества активных центров ядрышек (до 5—6) (рис. 7). В то же время увеличение площади околяядрышкового конденсированного хроматина свидетельствует о накоплении хромосомного материала, содержащего неактивный хроматин в состоянии конденсации. Таким образом, зоны активно функционирующих центров ядрышек постоянно окружаются все большими площадями неактивного, репрессивного хромосомного материала. Учитывая, что число проведенных этапов выработки резистентности к действию химиопрепарата составило 27, можно полагать, что подобные изменения ультраструктуры ядер и ядрышек данных опухолевых клеток могут быть соотнесены с признаками резистентности этих клеток.

Многие авторы [2, 3, 5, 17] полагают, что резистентные клетки при прохождении клеточного цикла задерживаются в  $G_2$ -фазе, устраняя при этом различные поломки ДНК. Возможно, на протяжении этапов выработки резистентности к противоопухолевому препарату нарастает фракция клеток, в ядрах которых в  $G_2$ -фазе увеличивается доля синтеза биологически активных веществ белковой природы, выступающих в роли индукторов преждевременной конденсации хромосом, с последующим закреплением этого процесса в генетической памяти подобных опухолевых клеток.

По нашему мнению, морфологически это проявляется в появлении в ядрах резистентных клеток крупных ядрышек, которые содержат светлые активные центры, окруженные полями неактивного конденсированного околоядрышкового хроматина, площадь которого способна достигать 25 % общей площади ядер.

Третьим признаком, выявленным нами в данных опухолевых клетках 3LL, является изменение комплекса Гольджи. Являясь органеллой, состоящей из параллельно ориентированных дисковидных цистерн, которые окружены мелкими везикулами, эта структура по мере достижения более высокой степени резистентности обогащалась как цис-мембранным компонентом (где происходит сортировка белков перед избирательным экспортом), так и везикулярным компонентом, представленным множественными пузырьками. Во время становления резистентного фенотипа опухолевых клеток, по-видимому, идет усиленный синтез белков *de novo*. Возможно, из определенной части этих белков могут оформляться мембранные структуры в виде сложных миелиноподобных образований и сохраняться некоторое время внутри клеток преимущественно в кортикальной зоне цитоплазмы (рис. 7). Не исключено, что подобные формирования могут образовываться в ответ на активацию протеолитических процессов и отражать степень дистрофических процессов. Однако следует отметить, что наличие подобных структур в опухолевых клетках карциномы 3LL, по данным литературы, является обязательным признаком степени ее дифференцировки [16, 18].

Мы полагаем, что повышенное количество подобных структур в опухолевых клетках в процессе выработки их резистентности, особенно на более поздних этапах (19—27-й), отражает также и состояние резистентности клеток, возрастающее с каждым этапом. Часто такие миелиноподобные образования обнаруживали в непосредственной близости от митохондрий, причем нередко их мембраны соприкасались (рис. 7). Все это может свидетельствовать о морфологических проявлениях функциональной активности клеточных органелл опухолевых клеток в процессе выработки ими резистентности. Наличие мембранных контактов миелиноподобных структур с

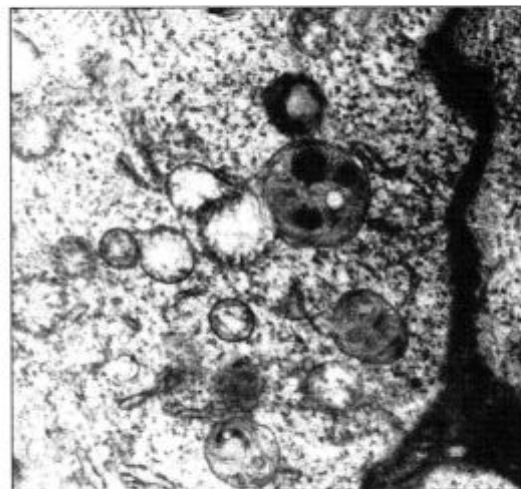


Рис. 7. Опухоль 3LL/16R, 15-е сутки роста опухоли. Формирование миелиноподобных структур в кортикальной зоне цитоплазмы. В межклеточном пространстве скопление электронноплотного материала. Ув. 4000

митохондриальными мембранами описано в литературе [4, 14] как показатель тонких биохимических процессов, происходящих в опухолевых клетках в процессе становления резистентного фенотипа. Используя метод электронной микроскопии, Mejer et al. [4] определили, что стойкие к цисплатину клетки имеют более развитый комплекс Гольджи и увеличенное количество митохондрий на единицу площади по сравнению с исходными, чувствительными клетками. Митохондрии таких клеток небольших размеров, более четко проработаны красителями и имеют более четкий рисунок крист. Изучая митохондрии резистентных клеток клеточной линии рака яичника С13, Andrews et al. [11] еще в 1992 г. нашли, что они обладают более высоким мембранным потенциалом. Поскольку морфо-функциональное состояние митохондрий связано с нарастанием окислительного фосфорилирования, то по мере усиления энергетических процессов метаболизма митохондрии могут быть задействованы и в процессе формирования устойчивости клеток к действию цисплатина путем модификации ими сигнальных путей трансдукции.

Наши исследования также подтвердили увеличение числа митохондрий в опухолевых клетках карциномы 3LL при выработке резис-



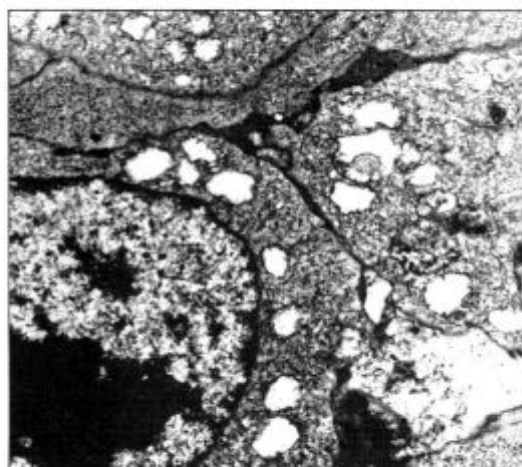


Рис. 8. Опухоль 3LL/16R, 24-е сутки роста опухоли. Множественные митохондрии в цитоплазме. Крупные маргинальные ядрышки. Ув. 3000

тентного фенотипа, что придавало их цитоплазме «кружевной» вид (рис. 8).

Известно, что продукты платинирования клетки (т.е. Pt-ДНК аддукты) концентрируются в ядре пролиферирующих и апоптических клеток [1, 2, 12], эухроматин, более диффузная активная часть ядра, является мишенью для противоопухолевых препаратов [12]. Согласно гипотезе Mejer [4], митохондриальная ДНК также является мишенью для этих препаратов, поскольку при этом она теряет гистоны. Следовательно, нарастание числа митохондрий в клетках с резистентным фенотипом по мере выработки все более высоких степеней устойчивости к действию цисплатина, возможно, также является косвенным морфологическим доказательством их резистентности наряду с остальными, изложенными выше.

Таким образом, анализируя ультраструктурную морфологию карциномы 3LL исходного и резистентного к действию цисплатина штаммов, можно заключить, что на всем протяжении роста опухоли в исходном варианте преобладают клетки с упрощенной морфологической организацией, а более дифференцированные составляют меньшинство. Маловыраженные межклеточные контакты свидетельствуют о слабой адгезии, однако, имея развитую сеть сократительных элементов цитоскелета, клетки, вероятно, принимают участие в инвазивном росте и метастазировании опухоли. Эти

данные подтверждаются ранее опубликованными [8, 10]. В процессе выработки резистентности опухоли к действию цисплатина в результате прогрессирующей селекции происходит постепенное формирование популяции клеток с более усложненной морфологической организацией и, по-видимому, высокой метастатической активностью. Подобное утверждение высказано еще в 1987 г. в монографии Вахтина и др. [22]. Наличие таких морфологических признаков, как появление в ядре множественных активно функционирующих ядрышек, окруженных полями околядрышкового конденсированного хроматина, наличие в ядерной оболочке расширенных ядерных пор, цитоплазмы с повышенной концентрацией свободных полисом и рибосом, значительного числа митохондрий, миелоноподобных структур специфического строения и хорошо развитого комплекса Гольджи свидетельствует об активизации метаболических процессов, направленных на выживание злокачественных клеток в условиях цитотоксического действия противоопухолевого препарата.

*Авторы благодарны проф. В.Т. Хомичу, канд. биол. наук Е.Д. Шишко и канд. мед. наук П.П. Чепиль за анализ и обсуждение полученных данных, а также ассистенту Н.И. Гуляй за помощь при изготовлении электронно-микроскопических препаратов.*

**SUMMARY.** The electron-microscopic analysis of the morphological status of 3LL (Lewis) carcinoma tumour cells in the process of cisplatin resistant phenotype formation has been performed. It was shown that selection of tumour cells forming cell clones characterized by more complicated nuclear and cytoplasm organization took place. The tumour cells had the diffused nuclear chromatin; nuclear envelope had the numerous pores with expanded diaphragms. The prominent nucleoli consisted of the active centres surrounded by considerable areas of the condensed nucleolar chromatin. Cell cytoplasm contained the well-developed Goldgi complex and the numerous well-structured myelinoid formations in the form of dense-wrapped concentric membrane structures. The obtained data can morphologically confirm the hypothesis of Gately D.P. and Howel S.B., 1993, thain the process of resistant phenotype formation the tumour cells can create the cellular mechanisms to remove the drug from the cell and to correct the damages of the cellular nucleus and cytoplasm.

**РЕЗЮМЕ.** Проведено електронно-мікроскопічне дослідження морфологічного стану пухлинних клітин 3LL (Люїс) в процесі формування їх резистентного фенотипу під дією протипухлинного препарату цисплатину. Встановлено, що при цьому має місце селекція певних пухлинних клітин з більш ускладненою організацією ядра та цитоплазми. Одержані дані можуть стати морфологічним підтвердженням гіпотези Gately et al. [1] про те, що в процесі формування резистентного фенотипу пухлинні клітини створюють клітинні механізми, поцілені як на усунення препарату з клітини, так і на полегшення пошкодження клітинного ядра та цитоплазми.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gately D.P., Howel S.B. Cellular accumulation of the anticancer agent cisplatin: a review // *Brit. J. Cancer.* — 1993. — 67, № 6. — P. 1171—1176.
2. Evans D.L., Tibby M., Dive C. Differential sensitivity the induction of apoptosis by cisplatin in proliferating and quiescent immature rat thymocytes is dependent of the levels of drug accumulation and DNA adduct formation // *Cancer Res.* — 1994. — 54. — P. 1596—1603.
3. Perez R.P. Cellular and molecular determinants of cisplatin resistance // *Eur. J. Cancer.* — 1998. — 34. — P. 1535—1544.
4. Mejer C., Luyn M.J.A. van, Mienhuis E.F. et al. Ultrastructural morphology and localization of cisplatin-induced platinum-DNA-adducts in a cisplatin-sensitive and resistant human small cell lung cancer line using electron microscopy // *Biochem. Pharm.* — 2001. — 61. — P. 573—578.
5. Bergamo A., Lagliardi R., Scarzia V. et al. In vitro cycle arrest, in vivo action on solid metastasing tumors, and host toxicity of the antimetastatic drug NaMi-A and cisplatin // *Pharmacol. Exp. Ther.* — 1999. — 289, № 1. — P. 559—564.
6. Holdaway K.M., Finlay G.J., Baduley B.C. Relationship of cell parameters to in vitro and in vivo chemosensitivity for a series of Lewis lung carcinoma lines // *Eur. J. Cancer.* — 1992. — 28A, № 8/9. — P. 1427—1431.
7. Кавецкий Р.Е. Опухоль и организм. — Киев : Наук. думка, 1977. — 235 с.
8. Чехун В.Ф. Роль плазматичних мембран нормальних та пухлинних клітин в механізмі реалізації цитотоксичних ефектів координаційних сполук платини : Дис. ... д-ра мед. наук. — Київ, 1994. — 291 с.
9. Чехун В.Ф., Ганина К.П., Кулик Г.И. и др. Влияние фенотипа лекарственной резистентности опухоли на динамику индуцированных цисплатином изменений структуры хроматина интерфазных ядер лимфоцитов периферической крови крыс с карциномой Герена // *Цитология и генетика.* — 2000. — 34, № 5. — С. 11—17.
10. Yurchenko O.V., Todor I.N., Tryndijak V.P., Tregubova N.A., Kovtonyuk O.V., Solyanik G.I., Kulik G.I., Chekchun V.F. Resistance of Guerin' carcinoma cells to cisplatin; biochemical and morphological aspects // *Exp. Oncol.* — 2003. — 25, № 1. — P. 64—68.
11. Finlay G.J., Wilson W.R., Baguley B.C. Cytokinetic factor in drug resistance of Lewis carcinoma: comparison of cells freshly isolated from tumours with cells from exponential and plateau-phase cultures // *Brit. J. Cancer.* — 1987. — 56, № 6. — P. 755—762.
12. Gonzales V.M., Fuertes M.A., Alonso C., Perez J.M. Is cisplatin-induced cell death always produced by apoptosis? // *Mol. Pharmacol.* — 2001. — 59, № 4. — P. 657—663.
13. Knapp D.C., Mata J.E., Reddy M.T. et al. Resistance to chemotherapeutic drugs overcome by c-Myc inhibition in a Lewis lung carcinoma murine model // *Anticancer Drugs.* — 2003. — 14, № 1. — P. 39—47.
14. Andrews P.A., Albrigth K.D. Mitochondrial defects in cis-diaminedichloroplatinum(II) resistant human ovarian carcinoma cells // *Cancer Res.* — 1992. — 52. — P. 1895—1901.
15. Bublej G.J., Kupiec N., Sanders D. et al. Effect of DNA conformation on cisplatin adduct formation // *Biochem. Pharmacol.* — 1996. — 51. — P. 717—721.
16. Garcia-Sang M., Simon-Marin R., Hilario E. Morphological characterization of Lewis lung carcinoma (3LL). A light and electron microscopic study // *Tumori.* — 1989. — 75, № 1. — P. 23—27.
17. Paku S., Timar J., Lapis K. Ultrastructure of invasion in different tissue types by Lewis lung tumor variants // *Virchows Arch. Pathol. Anat. Histopathology.* — 1990. — 417, № 5. — P. 435—442.
18. Sato T., Takusagawa K., Asoo N. et al. Ultrastructure of the Lewis lung carcinoma // *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* — 1982. — 18, № 4. — P. 369—376.
19. Мамаев Н.Н., Мамаева С.Е. Структура и функции ядрышкоорганизующих хромосом : молекулярные, цитологические и клинические аспекты // *Цитология.* — 1992. — 34, № 10. — С. 3—12.
20. Исакова Л.М., Джевадова И.В. Структурно-функциональные особенности ядрышкообразующих районов интерфазных ядер клеток при гемобластозах // *Цитология и генетика.* — 2001. — 36, № 10. — С. 3—12.
21. Decaudin D., Geley S., Hirsh T. et al. Bcl-2 and Bcl-X1 antagonize the mitochondrial dysfunction preceding nuclear apoptosis induced by chemotherapeutic agents // *Cancer Res.* — 1977. — 57. — P. 62—67.
22. Вахтин Ю.В., Пинчук В.Г., Швембергер И.Н., Бутенко З.А. Клонально-селективная концепция опухолевого роста. — Киев : Наук. думка, 1987. — 217 с.

Поступила 24.06.05