Метаболическая модуляция противоопухолевого эффекта цитостатиков в эксперименте и клинике

ВЛАДИМИРОВА Л. Ю., АБРАМОВА Н. А., ШИХЛЯРОВА А. И.

Резюме: При экспериментальной внутрибрюшинной химиотерапии циклофосфаном саркомы 45 и перитуморальном введениифакторов, ингибирующих цикл Кребса (дифенгидрамин и АТФ) изучены гистологические, ультрастуктурные и иммуноцитометрические показатели, характеризующие развитие инволютивных процессов опухоли и ее регрессии. Моделирование метаболического микроокружения на фоне проведения системной неоадьювантной химиотерапии у больных раком молочной железы Т 3–4N0–3M0 привело к увеличению непосредственного противоопухолевого эффекта. Оценка ответа опухоли коррелировала с цитохимическими показателями состояния ключевых ферментов цикла Кребса (СДГ, -ГФДГ) в лимфоцитах перитуморальной зоны.

Ключевые слова: саркома 45, рак молочной железы, неоадьювантная химиотерапия, АТФ, дифенгидрамин.

Контактная информация:
Владимирова Любовь Юрьевна, Абрамова Наталья Александровна, Шихлярова Алла Ивановна
VladimirovaLyubovYurievna, AbramovaNataliaAlexandrovna, ShikhliarovaAllaIvanovna
ФГБУ «РНИОИ» Минздрава РФ, г. Ростов-на-Дону, 14 линия 63, 344037, protasovatp@yandex.ru

Стандартная химиотерапия (ХТ) опухолей опирается на применение фармакологических средств с прямым цитостатическим или цитотоксическим действием. Однако ХТ не всегда эффективна в противоопухолевом отношении и далеко не безвредна для организма, что стимулирует поиск новых противоопухолевых средств и метаболических подходов, включая иммуно-, кардио-, нефро-, гепатокоррекцию [3]. Иными словами, лекарственное лечение рака вышло за рамки только ХТ опухолей и стимулировало поиск новых направлений патогенетической терапии, учитывающей перекисный и энергетический метаболизм, процессы пролиферации и дифференцировки, т.е. развитие альтернативных подходов к терапии опухоли [2, 9, 10,12]. Из работ последних лет явствует, что механизмы опухолевой прогрессии лежат в плоскости молекулярно-биологических изменений функции генома и протеома, однако существенную роль при этом играет метаболическое опухолевое микроокружение [9]. Гипоксия, как и повышенная кислотность опухолевой ткани, доминирует в формировании злокачественного фенотипа и всех химических процессов в клетке, однако в проблеме взаимосвязи гипоксии и опухолевого роста имеет место определенный парадокс. С одной стороны, гипоксия как неблагоприятный фактор для клеток и тканей может стимулировать апоптоз и элиминировать погибающие клетки. С другой – многочисленные исследования утверждают, что гипоксия способствует прогрессии злокачественных новообразований. T. G. Graebergи соавт. [19] выявили участие апоптических клеток, соседствующих с гипоксическими очагами в солидных опухолях, происходящих из Р-53-отрицательных клеток у иммунодефицитных мышей. Это указывает на то, что низкий уровень кислорода путем селекции мутантного гена Р-53 может способствовать формированию в опухоли иного фенотипа, а также является прямой причиной мутации Р-53. По данным A. J. Giaccia и соавт. [16], гипоксия создает условия для отбора клеток. Согласно предложенной модели эволюции агрессивных опухолей, происходит экспансия популяций трансформированных клеток со сниженным или утраченным апоптическим потенциалом. Именно такие клетки имеют преимущество выживаемости в условиях эндо- и экзогенного стресса под влиянием различных факторов. Способность опухолевых клеток выживать при неблагоприятных условиях детерминирует усиленную опухолевую прогрессию путем промоции ангиогенеза. А это связано с индукцией проангиогенных белков, прежде всего VEGF, в которой независимо от гипоксии принимает участие и ацидоз [18].

Метаболический ацидоз является атрибутом многих экстремальных физиологических и патологических состояний с нарушением функций митохондрий, недостаточным снабжением тканей кислородом, и проявляется в виде сдвига pH в кислую сторону, накопления различных недоокисленных продуктов энергетического обмена: лактата, пирувата, ацетоновых тел, кислотцикла Кребса и жирных кислот [6,7].

Уместно отметить, что большинство предложений применять методы снижения pH опухоли базируются на том, что достигнутый pH должен быть ниже того критического уровня, который оптимален для опухолевых клеток, т.е. ниже 6,5–6,0, при котором даже приспособившаяся к «кислым условиям» злокачественная опухоль не сможет, вероятно, существовать [15].

Интересны в этом плане исследования, в которых предлагается применять ингибиторы клеточных насосов, обеспечивающих выход ионов водорода из клетки, для снижения внутриклеточного pH. Так, I. J. Stratfordи соавт. [24] продемонстрировали, что ионофор нигерицин, индуцирующий обмен внутриклеточного К+ на внеклеточный Н+ и тем самым снижающий pH, существенно усиливал противоопухолевое действие мелфалана в опытах invitrouinvivo. Интересна работа E. Miragliaи соавт.

[21], в которой показано, что активность и экспрессия Na+/H+-антипорта, участвующего в поддержаниивнутриклеточного pH, увеличивается в доксорубицинрезистентных опухолевых клетках. Обработка клеток амилоридом, ингибитором Na+/H+-антипорта, значительно уменьшала pH, и повышала внутриклеточное накопление доксорубицина, снижая уровень резистентности.

Представляется также целесообразным привести данные исследования, в котором снижение внеклеточного pH сопровождалось появлением противоопухолевого эффекта у цитостатика, к которому была индуцирована резистентность у исследуемой опухоли. Эксперимент заключался в том, что крысамс устойчивым к тиофосфамидуподштаммом карциномы Геренатиофосфамидвводилина фоне внутривенной инфузии 20%-го раствора глюкозы, которая сопровождаласьснижением pH опухоли в среднем на 0,8 [23]. В другом исследовании установлено, что ДНК-связывающая активность цисплатины в системе invitro заметно возрастала при кислых условиях. Применение ингибитора водородного насоса бафиломицина, способствующего снижению pH опухолевых клеток, повышало цитотоксичностьцисплатины [22]. Таким образом, имеются экспериментальные данные о возможности усиления эффекта цитостатиков в условиях кислой среды и предпосылки для использования метаболического ацидоза в целях повышения эффективности химиотерапии.

Известны работы по применению искусственной гипергликемии, основной целью которой является снижение внеклеточного pH, не только в эксперименте, но и в клинике. Снижение pH опухолис помощью внутривенной инфузии раствора глюкозы в среднем на 0,7–0,9 и 0,4–0,6 в опухолях экспериментальных животных и человека соответственно, сочеталось с химиотерапиейи/или лучевой терапией и вряде протоколов – с общей гипертермией, что привело к улучшению показателей выживаемостибольных с опухолями головы и шеи, рака легкого, грудной железы, прямой кишки, меланомы в 1,5–2 раза [1, 4, 8, 14]. Представлены даже попытки и приблизительная схеманецитостатической лекарственной терапии опухолей, основным компонентом которой является глюкозная терапия в сочетании с блокаторами системы удаления водородных ионов из клетки, а для достижения гипоксии – метод управляемой общей гипотонии и механическое сдавливание сосудов опухоли там, где позволяет ее анатомическое расположение [11]. Вместе с тем, системное применение инфузии глюкозы и целого комплекса препаратов с определенным, но не противоопухолевым действием, в особенности в условиях общей гипотонии, отнюдь не безвредно для организма пациента, не поддается контролю и не может быть рекомендовано для широкого клинического применения.

Представляется целесообразным поиск методов локального воздействия на кислотно-основное состояние в зоне опухоли. Известно, что перитуморальная зона является буферной между опухолевой и здоровой тканью. Происходящие в ней процессы не вполне однозначны: с одной стороны, она отделяет здоровую ткань от опухоли, ограничивая – или не ограничивая ее рост, инвазию и метастазирование, но и обеспечивает последней комфортное существование, микроокружение и кровоснабжение. Именно по периферии опухоли локализуется активно пролиферирующий пул клеток. Представляется вероятным, что нарушение микроокружения опухоли, т.е. изменение условий в перитуморальной зоне, будет влиять на состояние опухоли и ее реакцию на противоопухолевую терапию.

Цель работы

Повышение эффективности противоопухолевого влияния цитостатиков путем моделирования нарушений энергетического метаболизма микроокружения перитуморальной зоны.

Материал и методы

Экспериментальный фрагмент работы был выполнен на крысах-самцах и самках (разводка питомника «Рапполово») с перевитой под кожу саркомой 45 (штамм опухоли предоставлен Институтом канцерогенеза ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» РАМН. Работа с животными осуществлялась в соответствии с регламентирующими условиями содержания, использования и принципами гуманного отношения [5]. Циклофосфан (ЦФ) вводили внутрибрюшинно дважды с интервалом 5 дней в дозе 5 мкг/кг. Ампульный 1% раствор АТФ или 1% раствор дифенгидрамина (димедрол) инфузировали по 0,25 мл перитуморально в 4-х точках, расположенных по периметру опухоли на равном расстоянии.

Применение метода в клинических условиях осуществлялось после получения добровольного согласия пациентов и положительного заключения Этического комитета ФГБУ «РНИОИ» Минздрава РФ. Лечению подвергались первичные больные с цитологическим верифицированным диагнозом локального рака молочной железы (РМЖ) T 3–4N0–3M0, которым проводилось 2 курса неоадювантнойполихимиотерапии по схеме CMFA, включающей на курс ЦФ в дозе 800 мг/м^2, метотрексат – 30 мг/м^2, фторурацил– 2000мг/м^2, доксорубицин – 80 мг/м^2, на фоне внутримаммарного введения 2 мл 1% раствора дифенгидрамина (Д) или 1% раствора АТФ в перитуморальнуюзону по 0,5 мл в 4 различные точки, которые перед очередными инфузиями менялись с тем, чтобы за курс ХТ охватить воздействием весь периметр опухоли. ВведениеД или АТФ осуществляли за 30 минут до инфузиицитостатиков.

Для регистрации объективного противоопухолевого эффекта производили замер опухоли, а также осуществляли морфологическое, ультраструктурное, иммуноцитометрическое, цитохимическое исследования опухоли и клеточного содержимого перитуморальной зоны. Микроскопическое изучение опухоли проводили после фиксации материала в 10% нейтральном формалине, заливки в парафин, микротомии и окраски гистологических препаратов гематоксилином-эозином с оценкой степени лечебного патоморфоза.Съемку проводили на микроскопе LeicaDM 4000 ВскамеройLeicaDFC 490 при помощи программного обеспеченияImageScope.

Материал для электронно-микроскопического исследования последовательно фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида, 1% OsO4 и после всех общепринятых

этапов обработки заливали в Эпон-812. Ультратонкие срезы контрастировали цитратом свинца и оценивали в электронном микроскопе FEITecnai 12 Spiritпри ускоряющем напряжении 80 kV.

Для анализа ДНК в тканях опухоли использовали проточныйцитометрCicleTESTTMPLUSDNAReagentKit (kat. № 340242, BectonDickinson). Подготовка ткани опухоли для цитометрического анализа осуществлялась с использованием дезагрегирующего устройства BDMedimachine. Оценивали степень анеуплоидии и диплоидии опухолевых клеток с определением индекса ДНК (ИДНК). Полученные данные обрабатывали статистическими методами с использованием пакета компьютерных программ Microsoft Excel.

Результаты исследования. В опытах на крысах-самцах (n=60) с перевитой саркомой 45 после проведения лечения, включающего перитуморальное введение АТФ или Д с последующей внутрибрюшинной ХТ циклофосфаном, были отмечены следующие гисто- и ультраструктурные преобразования опухоли. Во-первых, по периферии опухоли в подкапсульной зоне, как кайма, широким фронтом развивалась послойно организованная соединительнотканая структура с обилием клеточных элементов: эритроцитов, лимфоцитов, фибробластов, гистиоцитов. Именно на периферийных участках опухоли, где всегда характерен плотный рост опухоли, наблюдалось значительное разряжение опухолевых клеток, дегенерация, расплавление цитоплазмы. Во-вторых, фиксировались крупные очаговые скопления лимфоидных элементов. В некоторых опухолевых узлах наблюдалось полное замещение соединительной тканью.На электронноограммах со всей очевидностью выступает на первый план опухолево-клеточная деградация: сжатие и уменьшение обьема клеток, уплотнение и разрывы шнуровидного эндоплазматического ретикулума, набухание и разрушение митохондрий (рис. 1).

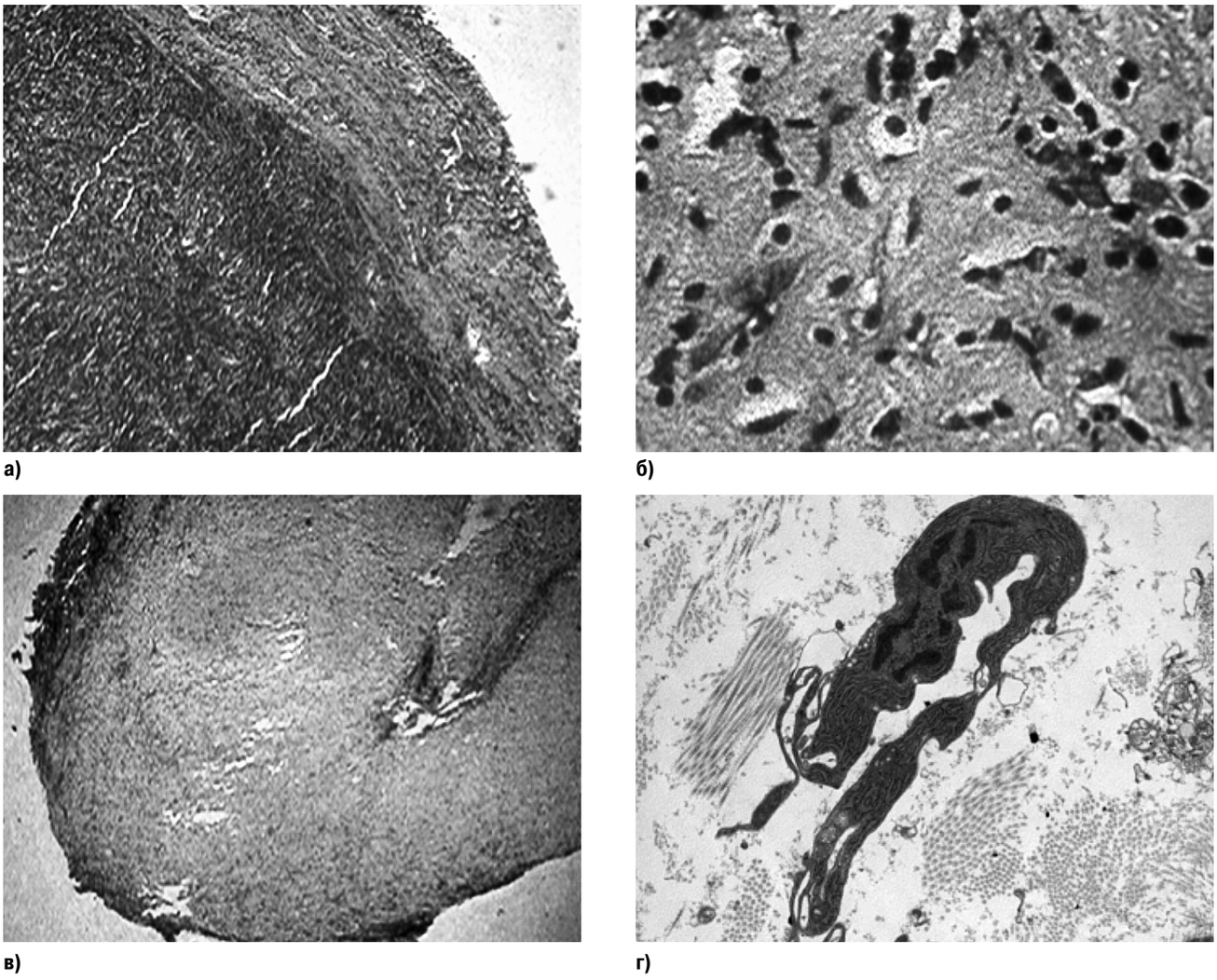

Рисунок 1. **Саркома 45. Регрессия опухоли при химиотерапии в условиях перифокального ацидоза: а) формирование зоны ацидоза по краю опухоли; б) разряжение и инволютивные изменения опухолевых клеток; в) скопление лимфоидных элементов вокруг опухолевых клеток; г) саморазборка опухолевых клеток с элементами отшнуровывания фрагментов, конденсация хроматина.Окр. гемат.– эоз. Ув. ×40. Эл микр. Ув. 23×8200**

Известно, что первые события апоптоза связаны с ядром. Наше внимание привлеклитакие особенности, как: 1) гиперконденсация хроматина с расщеплением ядерного материала;2) формирование осьмиофильных скоплений, прилежащих к ядерной мембране;3) отшнуровывание фрагментов ядра и других органоидов.Фактически это напоминало процесс саморазборки клетки, элементы которой быстро фагоцитируются.

Как уже было отмечено нами, у животных, подвергнутых воздействиям АТФ или Д и последующей химиотерапии ЦФ, наблюдалась значительная инфильтрация ткани опухоли клеточными элементами: лимфоцитами, макрофагами, плазмоцитами, тканевыми базофилами. На препаратах был отчетливо виден линейный или кольцевой тип окружения лимфоидными клетками мелких групп или единичных опухолевых клеток. Это свидетельствовало о важной роли иммунокомпетентных клеток в межклеточных взаимодействиях, в увеличении контактов клеток. Какие же типы иммунных клеток были обнаружены в ткани опухоли?

Методом иммунофенотипирования было установлено, что при использовании в качестве ингибитора энергопроцессов димедрола ткань опухоли была инфильтрована преимущественно СД3 клетками (Т-лф). В контроле (без воздействий) в ткани опухоли в наибольшем количестве встречались клетки СД45А (В-лф). Известно, что выживаемость активированных В-лф прямо связана с экспрессией белка Вс1–2, который локализуется на наружной мембране митохондрий и причастен к регуляции трансмембранного потенциала, т.е. определяет устойчивость к индукции апоптоза [13]. Наибольший интерес вызвал факт удвоения содержания СД161а (NK-клетки) при сочетании ингибиторов энергетики с химиотерапией ЦФ.

При ДНК-цитометрическом исследовании опухолевых клеток было установлено, что у животных с использованием перитуморального введения АТФ или Д

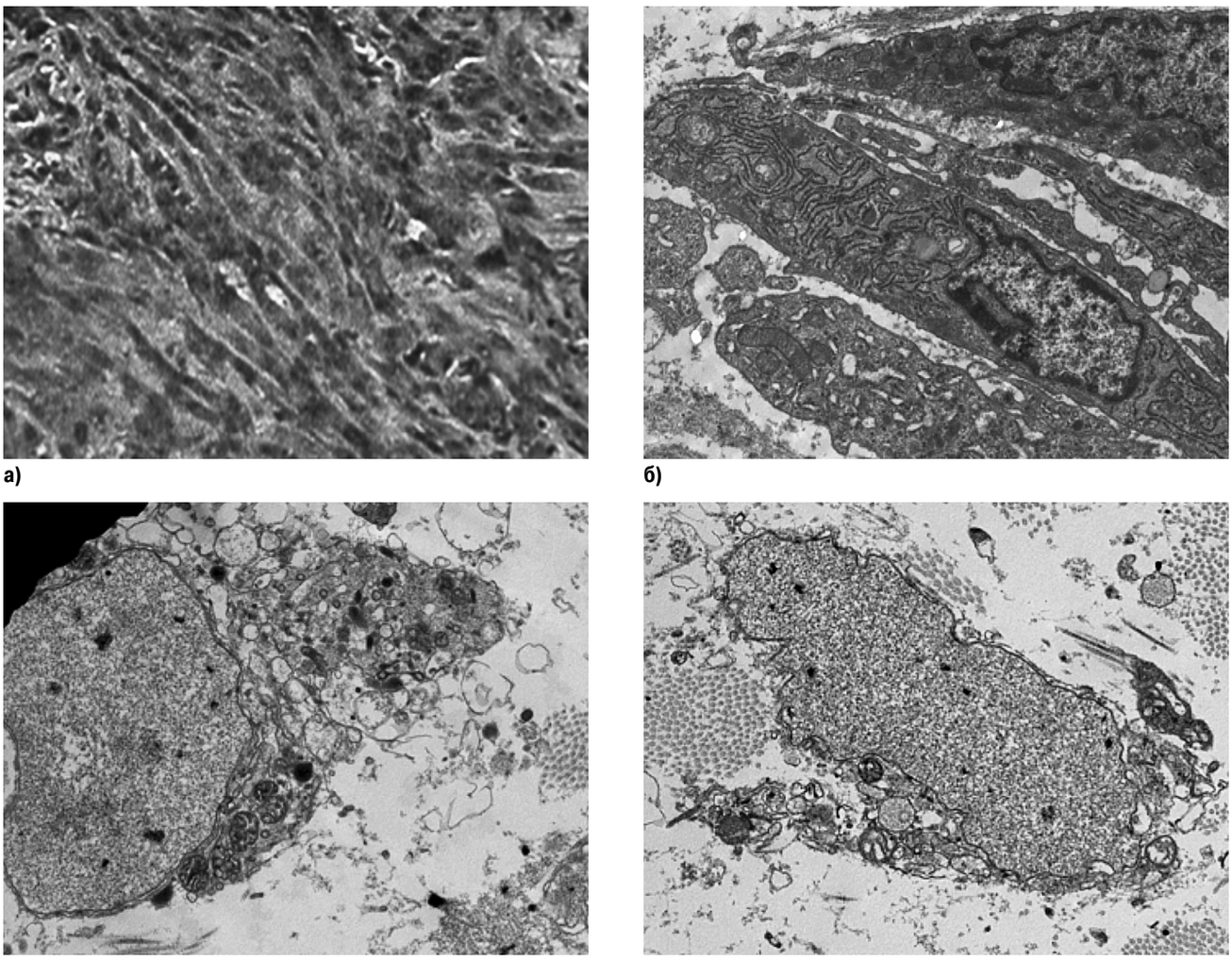

Рисунок 2. **Саркома 45. Рост опухоли в контроле: а) клетки опухоли образуют плотные вихреобразные пучки с преобладанием веретеновидных форм. Окр. гемат.– эоз. Ув. ×40; б) ультраструктура клеток растущей С-45. Эл микр. Ув. ×8200; в), г) ультраструктура клеток С-45 при химиотерапии циклофосфаном. Эл микр. Ув. ×9900**

в сочетании с ЦФ наблюдалось доминирование моноклональныхдиплоидных опухолевых клеток. Очевидность трансформирующего плоидность влияния преобразованной АТФ или Д биохимической среды микроокружения опухоли подтверждалась гетерогенностью опухолевых клеток при монотерапии ЦФ: частота содержания диплоидного типа клеток (52,7%) практически уравновешивалась частотой содержания анеуплоидных (43,7%), которая связана с уровнем патологических митозов. Максимальное содержание анеуплоидных клеток (более 60%) наблюдалось у контрольных животных, не подвергавшихся воздействиям. При этом в контроле выявлялось два клона анеуплоидных клеток: анеуплоид 1 (32,61%) и анеуплоид 2 (27,56%), что свидетельствовало о высокой степени злокачественности опухоли.

На микропрепаратах С-45 у таких животных хорошо был выражен полиморфизм клеток С-45 с преобладанием веретеновидных форм. По краю опухоли клетки плотно упакованы в вихреобразные пучки, определяются множественные фигуры патологического митоза.Ультраструктурная картина характеризовалась целостностью клеточных мембран и ядер, ядра содержали крупно и мелкодисперсный хроматин. Цитоплазма богата органоидами, особенно митохондриями. В ней были густо упакованы петли эндоплазматической сети с полирибосомами. Вытянутые митохондрии с четко определяемой двуслойной мембраной, образующей многочисленные кристы, служили показателем обеспечения энергопродукции.

На препаратах опухоли без применения перитуморального введения АТФ или Д и ограниченного только ХТ, отмечался некроз с характерным набуханием ядра, распылением хроматина, нарушением целостности мембран, лизосом гранул, деградацией органоидов, образованием детрита. Эти изменения клеток опухоли существенно отличались от структуры клеток в ситуации метаболического опухолевого окружения (АТФ, Д), которое, по-видимому, влияет на кинетику пролиферативных процессов в опухоли (рис. 2).

Сопоставляя морфо- и ультраструктурные изменения С-45 при прогрессии опухоли в контроле и ее ингибировании при дополнительном метаболическом воздействии в условиях ХТ, выявленные различия позволяют предположить следующее. В результате местного введения ингибиторов процессов энергообеспечения, например, АТФ, создается избыток макроэргического субстрата, что по принципу обратной связи тормозит поток электронов дыхательной цепи цитохромов. Наступает разобщение процессов дыхания и окислительного фосфорилирования, падение аэробного ресинтеза АТФ. Как следствие увеличивается скорость освобождения водорода и восстановление пиридиннуклеотидовНАД и НАДФ до 100%. При достижении кислородного нуля и избытке конечного продукта наступает остановка цикла Кребса, развивается метаболический ацидоз.

Данная экспериментальная разработка послужила обоснованием для применения метода в клинических условиях в комплексном лечении рака молочной железы в условиях метаболического ацидоза в перитуморальной зоне.

Лечению подверглись 60 пациенток, больных РМЖТ 3–4N0–3M0, с узловой или узловой с вторичным отеком формой заболевания. В группу А (n=30) с проведением неоадьювантнойХТ входило 2 подгруппы: АТФ и Д, в группу В (n=30) – проведение ХТ без дополнительного метаболического воздействия. В результате только в группе А была достигнута полная регрессия опухоли в 16,7% (p=0,014) случаев (при АТФ – 14,2%, Д – 18,8%), частичная регрессия наступила в 71,5% случаев (при АТФ – 62,5%, при Д – 66,6% соответственно), что не отличалось от показателей группы В. Стабилизация процесса наблюдалась у 14,2% пациенток при АТФ и у 18,8% – при Д, что в среднем составило16,7% против 30% в группе В (p=0,019). Прогрессия опухоли отмечалась только в группе В и составляла 3,4%. Морфологическое исследование удаленных опухолей в случаях регистрации объективного противоопухолевого эффекта у тех пациенток, которые прошли хирургический этап комплексного лечения с перитуморальным введением АТФ и Д, выявило 3–4 степень лечебного патоморфоза.

Чтобы сопоставить ответ опухоли и направленность процессов окислительного фосфорилирования в перитуморальной зоне под влияние АТФ и Д, была оценена ферментативная активность лимфоцитов с помощью тестирования ключевых ферментов цикла Кребса и гликолиза – СДГ и -ГФДГ, соответственно перед инъекцией и через 30 мин. после инъекции АТФ или Д. Было констатировано подавление активности СДГ посредством АТФ на 62% (p=0,021) и Д – на 57,9% (p=0,024). Реципрокно увеличилась активность -ГФДГ при АТФ и Д на 154,7% (p=0,022).

Обобщая полученные данные, можно убедиться в парадоксальности эффектов гипоксии и метаболического ацидоза, что согласуется с представлениями о причинной связи метаболического микроокружения опухоли с разнонаправленной динамикой ее развития [9]. Предметом дискуссии при этом является вопрос о про- и антиапоптотической роли гипоксии и ацидоза. В одном случае клетки опухоли, в окружении которой существует дефицит кислорода, блокада аэробных энергодающих процессов, погибают путем включения программы апоптоза. В другом вариантеклетки выживают и опухоль прогрессирует через активацию ангиогенеза и гликолиза. В настоящее время признано, что гликолитический фенотип является почти универсальным феноменом опухолей человека [10]. Авторы постулируют один из возможных механизмов участия гликолитического фенотипа опухоли в инвазии: протоны диффундируют из опухоли в прилегающие нормальные ткани, воздействуя на нетрансформированные клетки, прилегающие к краям опухоли, и способствуют снижению внеклеточного pH. Дальнейший путь характеризуется деградацией интерстициального матрикса, потерей межклеточного сцепления, ингибиции иммунных реакций. Подчеркивается роль митохондрий, как сенсоров и активных «участников» апоптоза и синтеза АТФ с участием β-каталитической субъединицы H+-АТФ-синтетазы [17].Гипотетически можно предположитьобратный алгоритм событий при перитуморальном введении АТФ или Д, когда в результате разобщения дыхания и окислительного фосфорилирования, как следствие, увеличивается скорость высвобождения протонов водорода, которые могут диффундировать из прилегающих тканей в опухоль, воздействуя прежде всего на ее края, что нашло морфологическое отражение при исследова-

нии С-45. Вместо плотно организованного клеточного слоя отмечалась значительная разрозненность клеток и окружение их лимфоцитами. Необходимо учесть и роль внеклеточного pH, которое может влиять на эффект химиотерапии. В работах TeicherB.A. [25], MatthewsJ.B. [20] отмечена четкая зависимость от кислорода препаратов циклофосфамид, карбоплатин, доксорубицин как invitro, так iinvivo, а в условиях гипоксии отмечено усиление почти в 2,5 раза цитотоксического эффекта цисплатины, возрастание ее накопления и связывание с ДНК. Эта особенность также могла повлиять на эффекты терапии и С-45, и РМЖ. Заключая, необходимо подчеркнуть важность поисков факторов патогенетической терапии и механизмов «давления» на опухоль, среди которых гипоксия и ацидоз открывают новые аспекты старой проблемы.

Литература:

1. Александров Н. Н., Савченко Н. Е., Фрадкин С. З., Жаврид Э. А. Применение гипертермии и гипергликемии при лечении злокачественных опухолей.– М.: Медицина, 1980.– 256 с.
2. Белоусова А. К. Молекулярно-биологические подходы к терапии опухолей. М., ВИНИТИ, 1993.– 302 с.
3. Гершанович М. Л., Филов В. А., Акимов М. А., Акимов А. А. Введение в фармакотерапию злокачественных опухолей. С-Пб: Сотис, 1999.– 152 с.
4. Жаврид Э. А., Осинский С. П., Фрадкин С. З. Гипертермия и гипергликемия в онкологии.– Киев: Наукова думка, 1987.– 256 с.
5. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Страсбург. 1986. ETS № 123.
6. Лукьянова Л. Д. Митохондриальные дисфункции при гипоксии – типовой патологический процесс.// Митохондрии в патологии. Материалы всероссийского рабочего совещания.– Пущино, 2001.– С. 66–67.
7. Маевский Е. И., Розенфельд А. С., Гришина Е. В., Кондрашова М. Н. Коррекция метаболического ацидоза путем поддержания функций митохондрий.– Пущино, 2001.– 135 с.
8. Мосин А. Ф., Габай В. Л., Григорьев А. Н. Способ создания гипергликемии при лечении опухолевых заболеваний. Патент РФ RU № 2090206, 1997.
9. Осинский С., Ваупель П. Микрофизиология опухолей. Киев, Наукова думка. 2009.– 256 с.
10. Осинский С. П., Глузман Д. Ф., Клифф Й., Гизе Н. А., Фрисс Г. Молекулярная диагностика опухолей. Киев: «ДІА». 2007.– 246 с.
11. Раевский П. М. Нецитостатическая терапия злокачественных опухолей (попытка гипотетического рассмотрения). Рос.хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева), 2002, т. XLVI, № 3.– С 90–95.
12. Ялкут С. И., Потебня Г. П. Биотерапия опухолей. Киев, Книга Плюс. 2010.– 470 с.
13. Ярилин А. А. Апоптоз. Природа феномена и его роль в целостном организме // Патол. физиол. и эксперим. терапия. 1998. № 2.– С. 38–47.
14. Лунгу В. І. Селективна внутрішньоартеріальна поліхіміотерапія і штучна регіонарнагіперглікемія, як перший етап комплексного лікуванняхворих на рак слизовоїоболонкипорожнини рота: Дис… канд. мед. наук: 14.01.07 / АМН України; Інститутонкології.– К., 2001.– 137 арк.– Бібліогр.: арк. 109–137.
15. Brent P. Mahoney, NatarajanRaghunand*, Brenda Baggett, Robert J. Gillies.Tumor acidity, ion trapping and chemotherapeutics.Biochemical Pharmacology 66 (2003) 1207–1218 Rotin D. e.a. Cancer Res., 1982, v.1/2, № 5, p. 1505.
16. Ciaccia A. G., Koumenis C., Denko N. The influence of tumor hypoxia on malignant progression // Tumor hypoxia: pathophysiology, clinical significance and therapeutic perspectives / Eds P. Vaupel, D. Kelleher. Stuttgart: Wiss enschaftlicheVerlagsgesellchaft. 1999. P. 115–124.
17. Cuezwa J. M., Kraejewska M., de Heredia M. L. et al. The bioenergetics signature of cancer: a market of tumor progression. Cancer Res. 2002, 62:6674–81.
18. Fukumura D., Xu L., Chen Y. et al. Hypoxia and acidisis independently upregulate vascular endothelial grovth factor trauscription in brain tumors in vivo // Cancer Res., 2001, 61. P. 6020–6024.
19. Graeber T. G., OsmanianC., Jacks T. et al. Hipoxia-mediated selection of cells with diminished potential in solid tumors // Nature, 1996. 379. P. 88–91.
20. Matthews J. B., Adoma T. H., Akov K. A. The effect of hypoxia on cytotoxicity, accumulation and DNA binding of cisplatin in Chinese hamster ovary cells//Anticancer Drugs, 1993,4. P.463–470.
21. Miraglia E. et al. Na+/H+ exchanger activity is increased in doxorubicin-resistant human colon cancer cells and its modulation modifies the sensitivity of the cells to doxorubicin. Int J Cancer. 2005 Jul 20;115 (6):924–9.
22. Murakami T et al. Elevated expression of vacuolar proton pump genes and cellular PH in cisplatin resistance.Int J Cancer. 2001 Sep;93 (6):869–74.
23. Osinsky S. et al..Tumour pH under induced hyperglycemia and efficacy of chemotherapy.1987 Mar-Apr;7 (2):199–201.
24. Stratford I. J. Reduction of tumour intracellular pH and enhancement of melphalan cytotoxicity by the ionophoreNigericin. International Journal of Cancer. 02/1995; 60 (2): 264–8. DOI: 10,1002.
25. Teicher B. A., Holden S. A., Al-Achi A., Herman T. S. Classification of antineoplastic treatments by their differential toxicity toward putative oxygenated and hypoxic tumor subpopulations in vivo in the FSa || murine fibrosarcoma // Cancer Res., 1990. 50. P. 3339–3344.