

УДК 616-006.482-085.2/.3.015.44:578.826

И.В. Уласов^{1,2}, Н.В. Каверина², З.Г. Кадагидзе², А.Ю. Барышников²**ИНГИБИРОВАНИЕ АКТИВНОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ТРАНСПОРТЕРОВ ГЛИОБЛАСТОМ СЕНСИБИЛИЗИРУЕТ КЛЕТКИ-МИШЕНИ К ИНФЕКЦИИ ОНКОЛИТИЧЕСКИМ ВЕКТОРОМ В ПРИСУТСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ**¹Центр опухолей головного мозга, Шведский медицинский центр, Сиэтл, США²ФГБНУ «РОНЦ им Н.Н. Блохина», Москва**Контактная информация**

Уласов Илья Валентинович, к.б.н., ведущий сотрудник центра лечения опухолей головного мозга

адрес: 550 17th Avenue, suite 570, Seattle, Wa, 98122, USA; тел. +1-206-991-2053

e-mail: ulasov75@yahoo.com

Статья поступила 03.10.2014, принята к печати 27.04.2015.

Резюме

Известно, что цитотоксический химиопрепарат верапамил ингибирует экспрессию Pgp в клетках опухолей головного мозга – медуллобластомах человека. Цель настоящего исследования заключалась в оценке чувствительности клеток глиобластом к верапамилу и к его комбинации с онколитическим аденовирусом CRAd-S-pK7. Были получены *in vitro* данные, позволяющие оценить возможности терапевтической комбинации верапамил-CRAd-S-pK7 против клеточных линий глиобластом человека (U87 и U251). Оказалось, что верапамил существенно усиливал активность онколитического вектора в присутствии ионизирующего излучения, что выразилось в большем ингибировании роста опухолевых клеток линии U251.

Ключевые слова: глиобластома человека, аденовирус, онколитический вектор, верапамил.I.V. Ulasov^{1,2}, N.V. Kaverina², Z.G. Kadagidze, A.Yu. Baryshnikov²**SUPPRESSION OF GLIOBLASTOMA CELLULAR TRANSPORTERS SENSITIZES TARGET CELLS TO INFECTION WITH ONCOLYTIC VIRUS IN THE PRESENCE OF IONIZING RADIATION**¹The Center for Advanced Brain Tumor Treatment, Swedish Medial Center, Seattle, USA²FSBSI «N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center», Moscow**Abstract**

It is already established that verapamil inhibits Pgp expression in the brain tumor cancer cells such as medulloblastoma.

The aim of this study is to investigate the sensitivity of glioblastoma cancer cells to verapamil and its combination with oncolytic adenoviral victor CRAd-S-pK7. *In vitro* using U87 and U251 human glioblastoma cell lines, we obtained experimental data suggesting a therapeutic effect of verapamil and CRAd-S-pK7. Moreover, we established that verapamil improves anti-glioma effect of oncolytic adenoviral vector in the presence of ionizing radiation, which results into more suppression of U251 cancer cells via inhibition of their proliferation.

Key words: glioblastoma multiforme, adenovirus, oncolityc vector, verapamil.**Введение**

Биотерапия является перспективным направлением в лечении опухолей различных локализаций [1–5; 7; 11–18; 23]. Виротерапия – одно из альтернативных направлений в лечении глиом [20; 21]. В основе этого метода лежит применение либо природного лизирующего вируса, либо использование модифицированного вируса дикого типа, который после генно-инженерных манипуляций способен лизировать опухолевые клетки-мишени. Высвобождение вирусных частиц из инфицируемой клетки путем разрушения опухолевой клетки и последующая инфекция соседних клеток опухоли опосредуют противоопухолевый эффект, вызываемый

мый онколитическим вектором.

Интерес к использованию онколитических противоопухолевых векторов обусловлен недавно начавшимися клиническими испытаниями [24]. В ходе предварительных доклинических исследований выяснилось, что клетки глиобластом обладают различной чувствительностью к аденовирусной инфекции. Известно, что экспрессия поверхностных аденовирусных рецепторов, таких как Коксаки-аденовирусный рецептор (CAR), гепаран-сульфаты: Синдекан 1 и Перлекан, а также интерлейкин $\alpha_v\beta_3$ и $\alpha_v\beta_5$, является важным обеспечением высокой инфекции клеток-мишеней [26; 44]. К сожалению, присутствие высокой концентрации поверхностных аденовирусных рецепторов, а также

высокая активность промотора аденовирусной транскрипции гена сурвивина, не всегда обеспечивает высокую вирусную инфекцию онколитического вируса, содержащего промотор гена сурвивина [43]. В таком случае, применение противоопухолевого химиопрепарата, сенсibiliзирующего клетки опухоли к инфекции вирусным онколитическим вектором, может многократно усилить цитотоксический эффект самого онколитического вектора.

Последние несколько декад, метилирующие агенты кармустин, араноза и лизомустин, применяемые для лечения меланом [8; 10; 19; 25; 34], были широко используемыми химиопрепаратами для лечения неопластических глиобластом и медуллобластом [25; 34]. Цитотоксичность этих агентов была основана на способности генерировать алкирующие радикалы, повреждающие клеточную ДНК. К сожалению, невосприимчивость и приобретенная резистентность клеток рака мозга, ограничивала их чувствительность к терапии данными агентами [38].

Одним из путей резистентности является повышение активности клеточных транспортеров, в основном, АТФ-зависимых (ABC) транспортеров [6; 9; 22; 31; 32; 37; 39; 40; 41]. Это семейство насчитывает более 50 видов разных молекул, регулирующих перенос субстратов через мембрану клеток. Недавние результаты, представленные Lin T. et al. [30] и Golebiewska A. et al. [27], подтверждают роль ABC транспортеров в ответе стволовых клеток опухолей человека на внешние раздражители и в поддержании внутреннего гомеостаза стволовых клеток. Таким образом, установлена связь между активностью ABC регуляторов и чувствительностью опухоли к внешним раздражителям и химиопрепаратам.

В настоящее время получен ряд ингибиторов ABC транспортеров. Верапамил – один из ингибиторов Pgp, ингибирующий связывание Pgp с субстратом и позволяющий усиливать транспорт лекарственных веществ *in vitro* и *in vivo* [35]. Последние данные показывают, что комбинация верапамила с другими агентами вызывала увеличение чувствительности клеток-мишеней и последующую токсичность. Так, в частности, комбинация верапамила с инфекцией перевиваемых опухолевых клеток онколитическим вирусом *in vitro* и *in vivo* [29; 28], показала свою значимость и создала предпосылки для наших экспериментов. Таким образом, целью нашей работы являлось изучение на клетках глиобластом человека влияния верапамила на репликативную и цитотоксическую активности онколитического агента CRAd-S-pK7.

Материалы и методы

Клетки и клеточные линии

Эмбриональные клетки почки эмбриона человека HEK293, клетки глиобластомы U251 и U87 человека, и клетки аденокарциномы человека A549 были получены из американской коллекции клеточных линий (ATCC, Manassas, США). Клетки

были выращены в Дульбеко модифицированной среде Игла (DMEM; Life Technologies, США) содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки (GIBCO-Life Technologies, США), L-глутамин (2мМ), пенициллин (100 IU/мл), стрептомицин (50 м/мл) в 5% CO₂ при 37 °C.

Химические реагенты и аденовирусные вектора

Верапамил был получен из Sigma-Aldrich (St Luis, Mo, США). В качестве растворителя для верапамила использовали диметилсульфоксид (ДМСО). Для тестов *in vitro* использовали стоковый раствор, из которого готовили ряд десятикратных разведений в среде ДМЕМ.

Постоянно реплицирующийся компетентный аденовектор, CRAd-S-pK7 был получен путем гомологической рекомбинации с SpeI-обработанной плазмидой, кодирующей полноразмерный геном аденовируса, содержащего 7 аминокислотных остатков поли-лизин, вклонированных в С-терминальный конец гена полноразмерного белка фибера типа 5 аденовирусов, с E1-pSurvivin шаттл плазмидой. Полученная вирусная конструкция была получена путем трансфекции HEK293 клеток плазмидой. CRAd-S-pK7 вирус был наработан в A549 клетках и тестирован, используя Adeno Titer X kit (Clontech, Mountain View, Ca, USA).

Тест для определения пролиферации клеток (MTT)

Опухолевые клетки культивировали при температуре 37 °C в присутствии 5% CO₂ в среде ДМЕМ, содержащей 2 мМ L-глутамин и 10% фетальной бычьей сыворотки («Atlanta Bio», Atlanta, США). Клетки, достигшие логарифмической фазы роста, пересаживали в плоскодонные 96-луночные микропланшеты («Costar») по 5 000–6 000 клеток на лунку и преинкубировали в указанных выше условиях в течение 24 ч перед добавлением тестируемого вещества. Для определения клеточной цитотоксичности клеточные линии были выращены в 96 луночном планшете, инфицированы CRAd-S-pK7 вектором в разной множественности инфекции. Через 72 ч после инфекции в каждую лунку добавили 3-(4,5-диметилтиазолил-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид (MTT), спустя 4 часа после инкубации при 5% CO₂ и 37° C в каждую лунку добавили 100 мкл ДМСО для ингибирования метаболической реакции и разрушения кристаллов формазана. Оптическое поглощение было измерено при длине волны 540 нм.

Жизнеспособность клеток производили по исключению красителя трипанового синего (Fisher Scientific США).

Облучение клеток в присутствии верапамила, онколитического вектора или их комбинации осуществлялось в установке «Phillips» в дозах 2 Гр при помощи дозы 1 Гр/мин.

Статистический анализ

Результаты представлены в виде стандартно-

го значения \pm стандартное отклонение. Статистический анализ был выполнен с использованием теста Стьюдента (SPSS 13.0, Чикаго, Иллинойс, США). Разница меньше 0,05 означала существенное различие.

Результаты и обсуждение

Чувствительность клеток U87 и U251 к химиопрепарату верапамил

На первом этапе наших исследований мы оценивали чувствительность клеток U251 и U87 к верапамилу. Под действием верапамила на 5 суток роста скорость клеточной пролиферации значительно снижалась для обоих видов клеток в зависимости от концентрации химиопрепарата. Оказалось, что в двух независимо повторенных экспериментах почти 100 % ингибирование клеточной пролиферации U251 и U87 наблюдалось при концентрации 14,2 мМ и 1,42 мМ верапамила соответственно (рис. 1). В дальнейшем, при уменьшении концентрации верапамила с 14,2 мМ до 14,2 мкМ, уровень пролиферации U87 оставался на прежнем уровне (~80 % от контроля). В противоположность к этому, клетки U251 оказались более резистентны к снижению концентрации верапамила. Ингибирующую концентрацию (ИК50) рассчитывали по стандартной методике, представленной в материалах и методах.

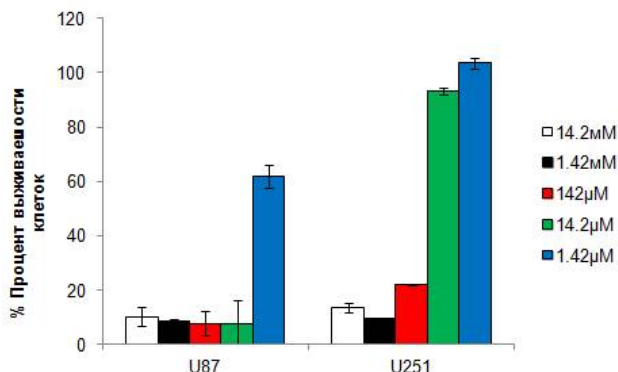


Рис. 1. Чувствительность клеток глиобластом к терапии верапамил. МТТ-тест, эксперимент повторен дважды, в 4 х репликатах, результаты представлены как среднее значение \pm стандартное отклонение.

Верапамил увеличивал клеточную токсичность онколитического вируса

Способность химиопрепарата верапамила влиять на пролиферативную активность клеток глиобластом в присутствии онколитического вектора (ОВ) мы также определяли в реакции пролиферации. Показано, что на 5 день выживаемость U251 и U87 клеток не изменялась или не значительно снижалась в случае комбинации верапамила (ИК50) и онколитического вируса (рис. 2). Для уве-

личения цитотоксической способности онколитического вектора мы облучали однократно ионизирующей радиацией клетки, инфицированные вирусом ОВ. В таком случае, аддитивный цитотоксический эффект между онколитическим вирусом, верапамилем и ионизирующей радиацией приводил к 90 % гибели опухолевых клеток линии U251. Причем концентрация онколитического вируса (100 или 10 инфекционных частиц на клетку) не влияла на итоговую высокую токсичность для злокачественных клеток этой линии (рис. 3).

Дальнейшее снижение дозы онколитического вируса снижало аддитивный эффект от комбинации с верапамилем и ионизирующей радиацией. В отличие от клеток линии U251, в клетках глиобластомы линии U87 инфекция онколитическим вирусом в присутствии ионизирующей радиации и верапамила не приводила к аддитивной токсичности. Полученные результаты подтверждают данные Pezuk J. et al., что в сравнении с U87, U251 клетки являются высоко чувствительными к ионизирующему излучению [33].

Высокая радиационная чувствительность U251 обеспечивает высокую токсичность комбинации ОВ+верапамил

Одним из логических объяснений нашим результатам, представленным на рис. 3, может служить тот факт, что ионизирующая радиация способна активировать цитотоксические свойства онколитического вируса.

В связи с этим, мы оценили способность онколитического вируса нарабатывать вирусные частицы в присутствии или отсутствии ионизирующей радиации и верапамила. С этой целью обработанные клетки линий U87 и U251, собранные через 1, 3 и 5 дней после вирусной инфекции, были последовательно разрушены и затем добавлены в серийном разведении к клеткам НЕК293. Через 48 часов после инфекции, клетки окрашивали антителами, узнающими аденовирусный гексон, и подсчитывали титр вируса по предложенной методике (рис. 4). Оказалось, что в отсутствии ионизирующего излучения, верапамил незначительно увеличивал выделение вирусных частиц опухолями после инфекции аденовирусом ($p > 0,05$). В присутствии радиации увеличенная продукция вирусных частиц наблюдалась в клетках U251, что связано с высоким уровнем активности промотора сурвивина [36; 42] и коротким репликационным циклом CRAd-S-pK7 вируса. Эти данные коррелируют с результатами теста на пролиферацию, показывающими высокую ингибирующую активность комбинации онколитического вируса, верапамила и ионизирующей радиации именно в клетках линии U251.

Заключение

В реакциях клеточной пролиферации и окраске клеточного монослоя с использованием трипанового синего было выявлено достоверное снижение выживаемости клеток глиобластом человека на

40 – 60 % по сравнению с активностью онколити-

ческого вектора или верапамила в отдельности.

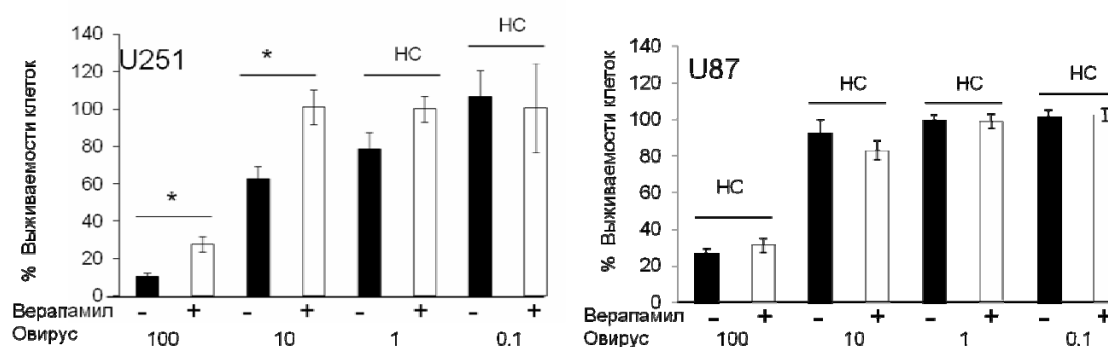


Рис. 2. U251 демонстрирует сниженную пролиферацию клеток в случае терапии верапамилом и онколитическим вектором (ОВ). Процент выживаемости клеток был получен по отношению к ДМСО терапии. Mean \pm стандартное отклонение. НС-разница статистически недостоверна, “*” $p < 0.05$.

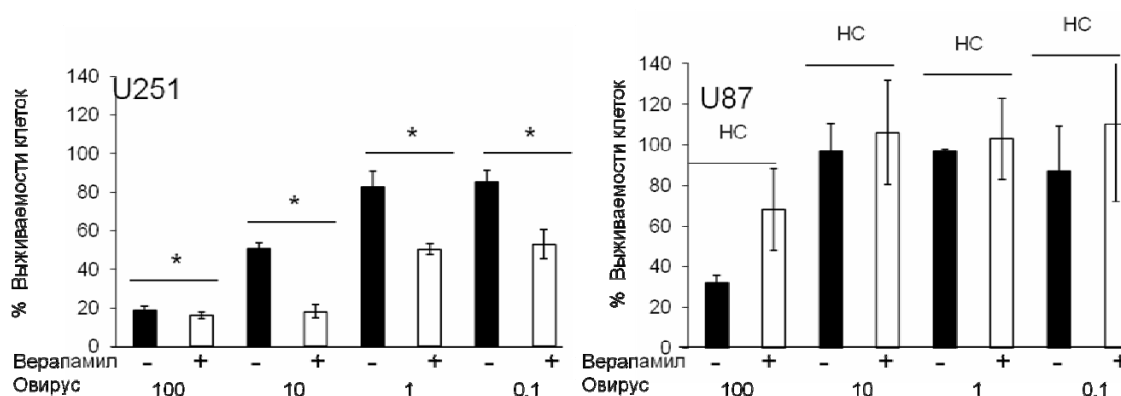


Рис. 3. Ионизирующая радиация усиливала токсичность комбинации онколитический вектор-верапамил на клетках глиобластом. Процент пролиферирующих клеток определялся в реакции МТТ после инкубации с верапамилом и после инфекции онколитическим вирусом. НС-разница статистически недостоверна, * $p < 0.05$.

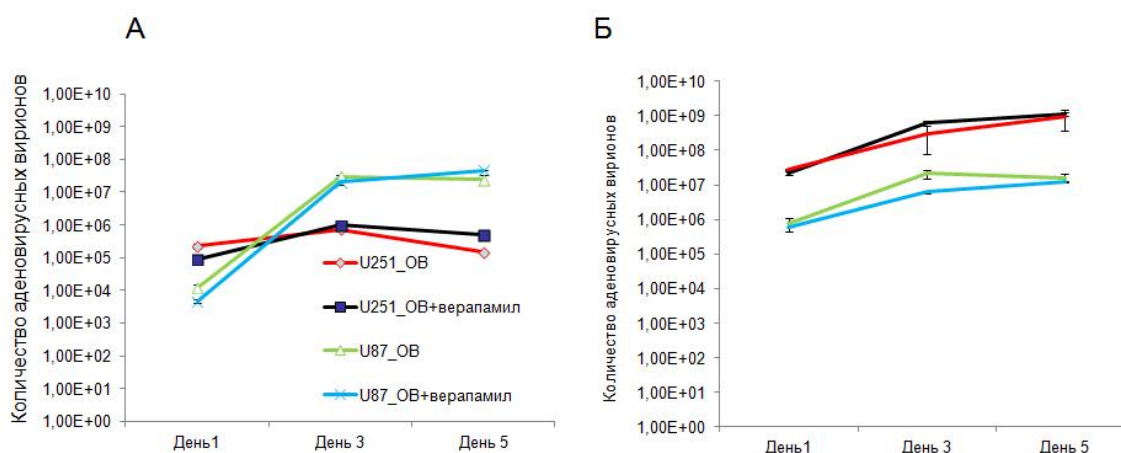


Рис. 4. Лучевая терапия в комбинации с верапамилом активировала репликацию онколитического вектора. Детекция вирусных вирионов в присутствии верапамила (А) и комбинации верапамил+ однократное облучение в дозе 2 Грей (Б). Титрование было предано в соответствии с рекомендациями Clontech (США) и представлены Mean \pm стандартное отклонение для каждой группы клеток. НС-разница статистически недостоверна, “*”

$p < 0.05$.

Незначительное снижение наблюдалось в клетках глиобластом, обработанных онколитическим вирусом и верапамилом.

Динамика вирусной амплификации, определенная с помощью реакции титрования на переливаемой культуре клеток почки эмбриона человека в присутствии верапамила и ионизирующей радиации, также свидетельствовала о высокой

продукции вирусных вирионов в клетках U251. Полученные данные свидетельствуют о способности верапамила вызывать ингибирование клеточной пролиферации и усиливать анти-глиомный эффект, вызываемый экспериментальной генно-инженерной вакциной на основе генома аденовируса человека серотипа 5.

Литература

1. Афанасьева Д.А., Барышникова М.А., Соколова З.А., Косоруков В.С. Разработка липосомальной конструкции, содержащей лизат опухолевых клеток // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – Т. 12, № 2. – С. 5.
2. Бармашов А.Е., Чкадуа Г.З., Михайлова И.Н. и др. Оценка противоопухолевого иммунитета методом ELISPOT у больных, получающих дендритноклеточную вакцину // Российский биотерапевтический журнал. – 2012. – Т. 11, № 3. – С. 47–51.
3. Барышников А.Ю. Взаимодействие опухоли и иммунной системы организма // Практическая онкология. – 2003. – Т. 4, №3. – С. 127–30.
4. Барышников А.Ю. Принципы и практика вакцинотерапии рака // Бюллетень Сибирского отделения РАМН. – 2004. – № 2. – С. 59–63.
5. Барышников А.Ю., Демидов Л.В., Михайлова И.Н., Петенко Н.Н. Современные проблемы биотерапии опухолей // Вестник Московского Онкологического Общества. – 2008. – № 1. – С. 6–10.
6. Блохин Д.Ю., Власенкова Н.К., Герасимова Г.К. и др. Поиск молекулярных механизмов обеспечения множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – Т. 12, № 2. – С. 10.
7. Голубцова Н.В., Степанова Е.В., Бармашов А.В. и др. Определение специфических противоопухолевых антител у больных диссеминированной меланомой в процессе вакцинотерапии // Российский биотерапевтический журнал. – 2012. – Т. 11, № 3. – С. 25–8.
8. Горбунова В.А., Манзюк Л.В., Демидов Л.В., Харкевич Г.Ю. Лизомустин – отечественный препарат из группы производных нитрозоомочевина в лечении меланомы кожи // Российский биотерапевтический журнал. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 55–6.
9. Карапетян В.Г., Степанова Е.В., Барышников А.Ю. и др. Экспрессия маркеров апоптоза (p53, BCL-2, BAX) и их прогностическое значение при эпителиальных новообразованиях яичников ранних стадий // Российский биотерапевтический журнал. – 2011. – Т. 10, № 2. – С. 45–9.
10. Лихванцева В.Г., Оборотова Н.А., Когония Л.М. и др. Первый опыт применения аранозы для лечения увеальной меланомы // Российский биотерапевтический журнал. – 2005. – Т. 4, № 3. – С. 34–9.
11. Манина И.В., Перетолчина Н.М., Сапрыкина Н.С. и др. Доклинические исследования иммунотерапии меланомы кожи с помощью цельноклеточных противоопухолевых вакцин, секретирующих GM-CSF // Российский биотерапевтический журнал. – 2010. – Т. 9, № 3. – С. 47–50.
12. Манина И.В., Сапрыкина Н.М., Козлов А. М. и др. Повышение эффективности цельноклеточной GM-CSF секретирующей противоопухолевой вакцины путем преинкубации с цитокинами // Российский биотерапевтический журнал. – 2011. – Т. 10, № 3. – С. 61–6.
13. Мисюрин В.А., Мисюрин А.В., Лукина А.А. и др. Профили экспрессии раково-тестикулярных антигенов в клеточных линиях меланомы // Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии. – 2014. – Т. 31, № 2. – С. 104.
14. Михайлова И.Н., Лукашина М.И., Барышников А.Ю. и др. Клеточные линии меланоиды – основа для создания противоопухолевых вакцин // Вестник РАМН. – 2005. – № 7. – С. 37–40.
15. Михайлова Т.В., Барышникова М.А., Клименко О.В. и др. Разработка липосомальной формы противоопухолевой вакцины // Российский биотерапевтический журнал. – 2011. – Т. 10, № 4. – С. 62–6.
16. Михайлова Т.В., Барышникова М.А., Багирова Н.С. и др. Стерилизация многослойных протеолипосом // Российский биотерапевтический журнал. – 2012. – Т. 11, № 1. – С. 13–8.
17. Михайлова Т.В., Барышникова М.А., Бурова О.С. и др. Сравнение уровня экспрессии hsp70 на клеточных линиях меланомы // Российский биотерапевтический журнал. – 2010. – Т. 9, № 1. – С. 43–8.
18. Никитин К.Д., Рубцова М.А., Утяшев И.А., Барышников А.Ю. Противоопухолевые вакцины на основе дендридом // Российский онкологический журнал. – 2010. – Т. 9, № 2. – С. 48–53.
19. Оборотова Н.А. Основные проблемы создания лекарственных форм противоопухолевых препаратов для внутривенного введения // Российский онкологический журнал. – 2003. – Т. 2, № 2. – С. 27–31.
20. Уласов И.В., Каверина Н.В., Кадагидзе З.Г., Барышников А.Ю. Антиглиомная аденовирусная виротерапия: механизм, регуляция и клинические перспективы // Российский биотерапевтический журнал. – 2014. – Т.

- 13, № 2. – С. 11–8.
21. Уласов И.В., Тусон А., Барышников А.Ю. Белок фибера аденовируса человека обеспечивает стабильность вирусных капсидов // Российский биотерапевтический журнал. – 2014. – Т. 13, № 2. – С. 51 – 55.
 22. Шушанов С.С., Кравцова Т.А., Ставровская А.А. IGF-1-зависимая экспрессия МРНК гена *MRP1* и *LRP* в линиях клеток множественной миеломы человека // Российский биотерапевтический журнал. – 2014. – Т. 13, № 1. – С. 17–23.
 23. Чкадуа Г.З., Заботина Т.Н., Буркова А.А. и др. Адаптирование методики культивирования дендритных клеток человека из моноцитов периферической крови для клинического применения // Российский биотерапевтический журнал. – 2002. – Т. 1, № 3. – С. 55–61.
 24. Ahmed A.U., Thaci B., Tobias A.L. et al. A preclinical evaluation of neural stem cell-based cell carrier for targeted antiglioma oncolytic virotherapy // J Natl Cancer Inst. – 2013. – 105(13). – P. 968–77.
 25. Beranek D.T. Distribution of methyl and ethyl adducts following alkylation with monofunctional alkylating agents // Mutat Res. – 1990. – 231(1). – P. 11–30.
 26. Fuxe J., Liu L., Malin S. et al. Expression of the coxsackie and adenovirus receptor in human astrocytic tumors and xenografts // Int J Cancer. – 2003. – 103(6). – P. 723–9.
 27. Golebiewska A., Brons N.H., Bjerkvig R., Niclou S.P. Critical appraisal of the side population assay in stem cell and cancer stem cell research // Cell Stem Cell. – 2011. – 8(2). – P. 136–47.
 28. Gros A., Puig C., Guedan S. et al. Verapamil enhances the antitumoral efficacy of oncolytic adenoviruses // Mol Ther. – 2010. – 18(5). – P. 903–11.
 29. Koski A., Raki M., Nokisalmi P. et al. Verapamil results in increased blood levels of oncolytic adenovirus in treatment of patients with advanced cancer // Mol Ther. – 2012. – 20(1). – P. 221–9.
 30. Lin T., Islam O., Heese K. ABC transporters, neural stem cells and neurogenesis – a different perspective // Cell Res. – 2006. – 16(11). – P. 857–71.
 31. Michailova I.N., Morozova L.Ph., Golubeva V.A. et al. Cancer/testis genes expression in human melanoma cell lines // Melanoma Research. – 2008. – 5. – P. 303–13.
 32. Morrison R., Schleicher S.M., Sun Y. et al. Targeting the mechanisms of resistance to chemotherapy and radiotherapy with the cancer stem cell hypothesis // J Oncol. – 2011. – P. 941876.
 33. Pezuk J.A., Brassesco M.S., Morales A.G. et al. Inhibition of polo-like kinase 1 induces cell cycle arrest and sensitizes glioblastoma cells to ionizing radiation // Cancer Biother Radiopharm. – 2013. – 28(7). – P. 516–22.
 34. Prados M.D., Larson D.A., Lamborn K. et al. Radiation therapy and hydroxyurea followed by the combination of 6-thioguanine and BCNU for the treatment of primary malignant brain tumors // Int J Radiat Oncol Biol Phys. – 1998. – 40(1). – P. 57–63.
 35. Schmidt W.F., Huber K.R., Ettinger R.S., Neuberg R.W. Antiproliferative effect of verapamil alone on brain tumor cells in vitro // Cancer Res. – 1988. – 48(13). – P. 3617–21.
 36. Siegelin M.D. The flavonoid kaempferol sensitizes human glioma cells to TRAIL-mediated apoptosis by proteasomal degradation of survivin // Mol Cancer Ther. – 2008. – 7(11). – P. 3566–74.
 37. Stavrovskaya A.A., Sedyakhina N.P., Stromskaya T. et al. Prognostic value of P-glycoprotein and correlation with CD34 antigen // British J. Haematology. – 1998. – 28(5–6). – C. 469–82.
 38. Tseng S.H., Bobola M.S., Berger M.S., Silber J.R. Characterization of paclitaxel (Taxol) sensitivity in human glioma- and medulloblastoma-derived cell lines // Neuro Oncol. – 1999. – 1(2). – P. 101–8.
 39. Turkina A.G., Baryshnikov A.Y., Sedyakhina N.P. et al. Studies of P-glycoprotein in chronic myelogenous leukemia patients: Expression, activity and correlations with CD34 antigen // British Journal of Haematology. – 1996. – 92. – P. 88–96.
 40. Turkina A.G., Zabolina T.N., Kusnetzov S.V. et al. Studies of some mechanisms of drug resistance in chronic myeloid leukemia (CML) // Advances in Experimental Medicine and Biology. – 1999. – 457. – P. 477–88.
 41. Turkina A.G., Logacheva N.P., Stromskaya T.P. et al. Studies of some mechanisms of drug resistance in chronic myeloid leukemia (CML) // Book Editor(s): Kaspers, G.J.L.; Pieters, R.; Veerman, A.J.P. Conference: 3rd International Symposium on Drug Resistance in Leukemia and Lymphoma III Book Series: Advances in Experimental Medicine and Biology. – 1999. – 457. – P. 477–88.
 42. Uchida H., Tanaka T., Sasaki K. et al. Adenovirus-mediated transfer of siRNA against survivin induced apoptosis and attenuated tumor cell growth in vitro and in vivo // Mol Ther. – 2004. – 10(1). – P. 162–71.
 43. Ulasov I.V. Survivin-driven and fiber-modified oncolytic adenovirus exhibits potent antitumor activity in established intracranial glioma // Hum Gene Ther. – 2007. – 18(7). – P. 589–602.
 44. Zheng S., Ulasov I.V., Han Y. et al. Fiber-knob modifications enhance adenoviral tropism and gene transfer in malignant glioma // J Gene Med. – 2007. – 9(3). – P. 151–60.