

Оригінальні статті

УДК 616.831–006.484:612.017:575.113

Химиорезистентность глиом головного мозга как результат реализации их генотипа

Васильева И.Г., Главацкий А.Я., Чопик Н.Г., Олексенко Н.П.,
Цюбко О.И., Галанта Е.С.

Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова АМН Украины, г.Киев

Проведены исследования эффективности применения химиопрепаратов в терапии глиом головного мозга на основе учета жизнеспособности опухолевых клеток и сопоставление полученных результатов с данными генотипирования опухолей по генам глутатионтрансферазы класса тета (GST-T), мью (GST-M) и суммарной активности глутатионтрансфераз, а также уровня экспрессии MDR1. Полученные результаты не обнаружили корреляции функционирования разных систем резистентности клеток с гистологическими особенностями опухоли и степени ее анаплазии, что свидетельствует о необходимости комплексного подхода к лечению больных со злокачественными новообразованиями головного мозга с учетом их химиорезистентности, а также особенностей организма.

Ключевые слова: глиомы, химиорезистентность, глутатионтрансферазы, Р-гликопротеин, MDR1.

Вступление. Дополнительно к таким традиционным приемам, как хирургическое вмешательство и радиотерапия химиотерапия является важным методом в лечении злокачественных опухолей мозга человека. Однако ее эффективность часто снижается из-за резистентности опухолевых клеток к применяемым лекарствам.

Согласно данным экспериментальных и клинических исследований химиорезистентность опухолей может формироваться по отношению как к отдельным цитостатикам, так и к нескольким противоопухолевым препаратам и обычно основывается на изменении генетического аппарата опухолевых клеток с амплификацией генов или увеличением уровня их экспрессии.

Феномен резистентности к химиопрепаратам является мультифакторным и включает [6]: 1) изменения транспорта препарата через плазматическую мембрану, которые приводят к уменьшению накопления цитостатика в клетке; 2) повышенную активность детоксицирующих систем глутатиона и металлотионеина; 3) усиленную репарацию ДНК; 4) изменения уровня экспрессии онкогенов и генных супрессоров и др.

Первым этапом на пути реализации цитотоксического эффекта противоопухолевых препаратов является их взаимодействие с плазматической мембраной опухолевой клетки. Так, часто на поверхности устойчивых к действию химиопрепаратов опухолевых клеток наблюдается гиперэкспрессия АТФ-зависимых транс-

портных белков, которые принимают участие в выведении цитостатиков из клетки; одним из таких белков является трансмембранный Р-гликопротеин (Р-gp) — продукт гена MDR1 [12]. Феномен множественной устойчивости к лекарствам тесно связывают с повышением уровня экспрессии этих генов в опухолевых клетках [18].

Другими, не менее важными, механизмами формирования резистентности являются определенные ферментативные системы защиты организма. Сущность их состоит в утилизации токсических веществ путем превращения в водорастворимую форму, что облегчает их выведение. Главную роль в защите клеток от ксенобиотиков системой глутатиона несомненно играют глутатион-S-трансферазы (GST) [13,14]. Глутатион-S-трансферазы катализируют процесс связывания глутатиона с этими соединениями. В результате реакции образуются конъюгаты, которые являются менее токсичными и легче выводятся из организма. Как следствие, глутатион-S-трансферазы оберегают ДНК, митохондрии и другие жизненно важные центры клетки от вредных веществ и значительно повышают устойчивость клетки и целого организма [8,17].

Глутатион-S-трансферазы — это большая группа ферментов детоксикации. Цитозольные изоформы фермента представляют собой следующие самостоятельные классы: альфа, мью, пи, тета, сигма, каппа и зета, которые кодируются

отдельными родственными генами [10,11,19,23]. Генетические различия в экспрессии и активности метаболизирующих ксенобиотики энзимов, в частности GST, связаны с наличием полиморфных аллелей, кодирующих эти ферменты. Доказано существование пяти полиморфизмов GST: это полные или частичные делеции и/или полиморфизм единичных нуклеотидов в аллелях, кодирующих GSTM1, GSTM3, GSTT1, GSTP1, GSTZ1, которые ассоциируются со снижением энзиматической активности.

Ген глутатион-S-трансфераз класса мью (GSTM1) проявляет полиморфизм посредством существования трех аллельных форм: GSTM1⁰ с частичной или полной делецией гена, GSTM1^A и GSTM1^B, которые отличаются по одной аминокислоте. Каталитически активные энзимы кодируются GSTM1^A или GSTM1^B, отсутствие ферментативной активности связано с нулевым геном [21].

Генетический полиморфизм глутатион-S-трансфераз класса тета (GSTT1) — результат делеции гена. Поэтому в человеческой популяции встречаются два различных генотипа: GSTT1-положительный с активной формой фермента и GSTT1⁰ — нулевой с отсутствием экспрессии [20].

Уровень экспрессии и состав глутатион-S-трансфераз в различных тканях определяют, с одной стороны, чувствительность к химическому карциногенезу, с другой — ответ на химиотерапию. Гиперэкспрессию изоэнзимов GST при онкозаболеваниях связывают с неэффективной химиотерапией и низкой выживаемостью. Так, исследование глиом человека выявило четкую корреляцию повышения уровня экспрессии GST-пи с ростом агрессивности опухоли и снижением выживаемости пациентов [7,29], а также общего уровня активности глутатионтрансфераз с клиническим течением заболевания [28]. При изучении глиом у детей было обнаружено значительное повышение экспрессии пи-класса глутатионтрансфераз в анапластических астроцитомах (III степень анаплазии) и глиобластомах (IV степень), тогда как в астроцитомах I и II степени анаплазии уровень экспрессии этих ферментов был низким [16]. При сопоставлении случаев с низкоккачественными (I–II степень анаплазии) и высококкачественными (III–IV степень анаплазии) глиомами обнаружена статистически достоверная тенденция к преобладанию GSTM1⁰ генотипов у последних [3]. Возрастание уровня экспрессии GSTM1 и GSTM3 было показано для высококкачественной астроцитомы человека [15]. В отличие от этих данных, другие авторы [9,22] не обнаружили корреляции между активностью глутатионтрансфераз и степенью злокачественности

глиом: самый высокий уровень ферментативной активности среди астроцитом был в опухолях II степени злокачественности; среди всех опухолей мозга самый высокий уровень экспрессии GST продемонстрировали менингиомы и невриномы.

Таким образом, в связи с вышесказанным, становится понятным значение индивидуального подбора эффективных противоопухолевых препаратов в терапии глиом на основе учета жизнеспособности опухолевых клеток и сопоставление ее эффективности с генотипами опухолей относительно генов резистентности.

Целью данной работы было изучение состояния основных факторов химиорезистентности в опухолях головного мозга, а именно: экспрессии гена MDR1, суммарной активности глутатион-S-трансфераз, генотипирования глутатион-S-трансфераз классов мью и тета и их сравнение с количеством живых клеток в ткани опухолей головного мозга после применения химиопрепаратов.

Материалы и методы. В ходе работы мы исследовали 14 образцов глиом головного мозга разной степени злокачественности на чувствительность к различным химиопрепаратам.

Материал для исследования брали непосредственно во время операции. В течение 1 ч после удаления ткань опухоли отмывали от крови и суспендировали в среде Игла. Полученную суспензию, содержащую, как правило, $1-4 \cdot 10^6$ клеток в 1 мл, подвергали воздействию химиопрепаратов на протяжении 24 ч, после чего проводили подсчет живых клеток.

Концентрации препаратов в питательной среде рассчитывали из максимально возможного их содержания в плазме крови. Для доxorубина концентрация составляла 1,37 мкг/мл, цисплатина — 3,8 мкг/мл, дакарбазина — 5,9 мкг/мл, метотрексата — 295 мкг/мл, кампто — 13,7 мкг/мл, таксотера — 7,8 мкг/мл, темодала — 7,8 мкг/мл [4].

Подсчет количества клеток осуществляли с помощью светового микроскопа и камеры Горяева [1]. 50 мкл клеточной суспензии разводили в 5 раз 0,2 % раствором трипанового синего и ставили в термостат на 3–5 мин при температуре 37°C. Суспензию тщательно перемешивали и вводили в камеру гемоцитометра. Под микроскопом подсчитывали клетки в 25 больших квадратах камеры. Расчет осуществляли по формуле:

$$X = N \cdot S \cdot 10\,000,$$

где X — количество клеток в 1 см³ суспензии, N — количество клеток в 25 больших квадратах, S — кратность разведения суспензии красителем, 10 000 — постоянное значение. Процентное содержание живых клеток определяли по формуле:

$$\frac{(n_o - n_m) \cdot 100}{n_o},$$

где n_o — общее количество клеток, n_m — количество мертвых клеток.

Выделение ДНК. Геномную ДНК выделяли из образцов опухолей мозга с использованием наборов для выделения ДНК ("ДНК-сорб В", "Амплисенс", Россия). Метод базируется на применении гуанидин-изотиоцианатного лизирующего буфера с последующим связыванием нуклеиновых кислот с оксидом кремния. Экстракт нуклеиновых кислот использовали в реакции амплификации.

Выделение РНК. Принцип метода состоит в том, что выделение РНК достигается фенольной обработкой гомогената в присутствии детергентов и ингибиторов нуклеаз [1]. Выход и чистоту препарата РНК оценивали за поглощением пробы при 260 и 280 нм.

Реакция обратной транскрипции (синтез кДНК). кДНК синтезировали с использованием 1–2 мкг РНК и 100 нг олиго(дТ)12–18 в 10 мкл раствора, состоящего из 50 ммоль/л Трис-НСl, рН 8,3, 75 ммоль/л КСl, 3 ммоль/л MgCl₂, 50 ммоль/л дитиотрейтола, смеси (дезоксид-нуклеотидтрифосфатов) дНТФ (1 ммоль/л каждого) и 200 ед M-Mlv обратной транскриптазы (рекомбинантной). Смесь инкубировали на протяжении 1 ч при температуре 37°C. 5 мкл кДНК использовали в реакции амплификации.

Определение экспрессии MDR1. ПЦР-реакцию проводили с использованием праймеров (5'-CCCATCATGCAATAGCAGG-3' и 5'-GTTCAAACCTTCTGCTCCTGA-3' [25]. Каждая смесь объемом 50 мкл содержала кДНК, полученную из 50 нг геномной ДНК, 10 ммоль/л Трис-НСl (рН 8,3), 50 ммоль/л КСl, 2 ммоль/л MgCl₂, 200 мкмоль/л дНТФ (каждого), по 10 пмоль каждого праймера. Амплификацию осуществляли по программе: денатурация — 5 мин при температуре 94°C, 30 циклов амплификации (30 с при 94°C, 1 мин при 55°C, 2 мин при 72°C), конечный цикл — 10 мин при температуре 72°C. Продукт амплификации составлял 167 п.н.

Генотипирование по GSTM1 и GSTT1. Генотипирование выполняли посредством полимеразной цепной реакции (ПЦР) по выявлению генов GSTT1 и GSTM1. Амплификацию проводили с использованием праймеров 5'-GAGATGAAGTCCTTCAGA-3' и 5'-GCTTCACGTGTTATGGAGGTT-3' — для GSTM1, 5'-ATGTGACCCTGCAGTTGC-3' и 5'-GAGATGTGAGCACCAAGTAAGGAA-3' — для GSTT1 [27]. Каждая реакционная смесь объемом 50 мкл содержала 10 ммоль/л Трис-НСl (рН 8,3), 50 ммоль/л КСl, 1,5 ммоль/л MgCl₂, 100 мкмоль/л дНТФ (каждого). 40 циклов амплифи-

кации выполняли при температуре отжига 58°C. Визуализацию продукта (151 п.н. для GSTM1 и 70 п.н. для GSTT1) осуществляли при помощи электрофореза в 2% агарозном геле.

Отсутствие ампликона свидетельствовало о делеции исследуемого гена.

Определение активности глутатионтрансфераз. Активность глутатионтрансфераз определяли по известному методу [14].

Инкубационная смесь состояла из цитозоля опухолевой ткани в 0,1 ммоль/л калий-фосфатном буфере, рН 7,0 (1:10, масса:объем), восстановленного глутатиона (1 ммоль/л) и 1-Cl-2,4-динитробензола (1-Cl-2,4-DNB) в этиловом спирте (1 ммоль/л). Образование окрашенного продукта трансферазной реакции регистрировали против контроля на спектрофотометре СФ-26 при длине волны 346 нм. Расчет активности фермента производили, исходя из величины коэффициента молярной экстинкции.

Результаты и их обсуждение. Индивидуальная чувствительность к химиопрепаратам является важным фактором, который необходимо учитывать при разработке стратегии химиотерапии. Чувствительность к химиопрепаратам определяется генетически детерминированной активностью систем резистентности клеток к токсичным молекулам. На сегодняшний день четко установлены основные системы детоксикации, вовлекаемые в формирование резистентности опухолей к химиопрепаратам. Поэтому при подборе эффективной терапии новообразований должны быть учтены все этапы транспорта препарата к опухолевым клеткам и особенности его метаболизма, а значит — все факторы, которые предотвращают действие химиопрепарата [21,26,29].

Если в нормальной клетке функционирование систем резистентности защищает ее от токсичных веществ, то высокая активность данных ферментов в опухолевой клетке делает ее нечувствительной к химиотерапии. Таким образом, данные исследования дают возможность выявления стойких или, наоборот, чувствительных форм глиом к тем или иным лекарственным средствам.

Для решения проблемы подбора эффективной терапии опухолей головного мозга мы исследовали генетические детерминанты и активность основных систем резистентности: экспрессию MDR1, активность GST и генотипирование по GSTM и GSTT. Результаты этих исследований представлены в табл. 1.

Полученные данные пока не дали однозначного ответа относительно зависимости функционирования разных систем резистентности клеток от гистологических особенностей опухолей и степени ее анаплазии. Так, экспрессия

Таблица 1. Результаты исследования систем резистентности к химиопрепаратам в клетках опухолей головного мозга

№ образца	Вид опухоли	Активность GST, ммоль/(г ткани·мин)	Генотип GSTT	Генотип GSTM	MDR1, у.е./мкг РНК
56	Глиобластома (IV степень анаплазии)	–	+	0	4
59	Глиобластома (IV степень анаплазии)	–	+	+	400
65	Глиобластома (IV степень анаплазии)	0,50	+	0	–
66	Глиобластома (IV степень анаплазии)	0,42	0	0	820
72	Глиобластома (IV степень анаплазии)	1,06	+	+	742
60	Глиобластома (IV степень анаплазии)	–	+	+	44721
68	Глиобластома (IV степень анаплазии)	0,80	+	+	1048
57	Астроцитомы анапластическая (III степень анаплазии)	0,38	0	+	14
61	Астроцитомы анапластическая (III степень анаплазии)	–	+	0	136
69	Астроцитомы анапластическая (III степень анаплазии)	0,29	+	+	455
62	Астроцитомы анапластическая (III степень анаплазии)	–	+	+	375
71	Астроцитомы анапластическая (III степень анаплазии)	0,04	+	+	1534
67	Астроцитомы фибриллярно-проtoplазматическая (II степень анаплазии)	0,35	+	+	193
58	Олигодендроастроцитомы (II–III степень анаплазии)	–	+	0	47

Примечание: "–" — определение активности не производили.

гена MDR1 и активность глутатионтрансфераз в опухолях головного мозга представлены разными уровнями, независимо от гистологии и злокачественности опухоли; наличие полиморфных генов GSTM1 и GSTT1 мы обнаружили также в группах гистологически различных опухолей головного мозга.

Применение ряда химиопрепаратов для исследования жизнеспособности клеток опухолей головного мозга (табл.2) выявило высокую их устойчивость (снижение жизнедеятельности менее чем на 20%) к кампто, таксотеру, дакарбазину, цисплатину (за исключением одного случая), доксорубицину (за исключением одного случая) почти во всех исследованных образцах. Из 14 образцов, исследованных на чувствительность к темодалу, лишь в 5 обнаружили снижение жизнеспособности на 20–27% (причем эти опухоли имели различную гистоструктуру и разную степень анаплазии).

При подборе химиопрепаратов важное значение имеет учет механизма их действия в сопоставлении с механизмами функциониро-

вания систем защиты клетки. Среди рассматриваемых нами препаратов — алкилирующие соединения, антиметаболиты, антибиотики.

Темодал — это алкилирующее соединение, применение которого вызывает повреждение жизненно важных молекул, что в конечном итоге может приводить к смерти клетки. Резистентность к темодалу, как и к другим алкилирующим соединениям, возникает при высоком содержании веществ, богатых сульфгидрильными группами, в частности, глутатиона. Как показывают наши данные, чувствительность к темодалу в большей или меньшей степени действительно проявляется в образцах с низкой активностью GST (<1 ммоль/(г ткани·мин)), хотя имеются и противоположные данные.

Дакарбазин представляет собой антиметаболит пуринов и также обладает алкилирующим эффектом [4]. Попадание в клетку приводит к встраиванию его вместо пуринов в молекулу ДНК и образованию дефектных молекул. Нарушение метаболизма нуклеиновых кислот тормозит не только процессы реп-

ликация, но и транскрипции. Таким образом, применение дакарбазина нарушает деление и белковый синтез в клетке, что в конечном итоге также может вызывать смерть клетки. Исследованная нами жизнеспособность клеток опухолей головного мозга (3 образца) при применении дакарбазина выявили высокую их устойчивость к данному препарату (лишь в одном случае жизнеспособность опухолевых клеток снижалась на 14%). Примечательно, что во всех образцах отмечался "+"-генотип по генам глутатионтрансферазы класса мью и тета, которые играют важную роль в детоксикации алкилирующих агентов.

Метотрексат является антиметаболитом, аналогом фолиевой кислоты. Это соединение включается во все метаболические пути вместо фолиевой кислоты и ее производных, в частности, в синтез нуклеотидов *de novo*, в результате чего блокируется синтез ДНК, РНК и белков. Как свидетельствуют наши данные, приведенные в табл.1,2, реакция клеток опухоли

на метотрексат в 4 из 6 случаев отрицательна (снижение жизнеспособности клеток опухолей менее чем 10%) и лишь клетки одной анапластической астроцитомы (снижение количества живых клеток на 27%) и двух глиобластом (снижение количества живых клеток на 13% и 14%) оказались относительно чувствительными к этому препарату.

Доксорубицин относится к классу антибиотиков. Это соединение содержит антрациклиновое ядро, способное интеркалировать с двойной спиралью, после чего участки ДНК клетки становятся недоступными для транскрипции. Если такое нарушение возникает в участках, кодирующих жизненно важные белки клетки, то она становится нежизнеспособной. Чувствительность к доксорубицину коррелировала в большинстве случаев с чувствительностью к антиметаболитам, но в целом была не высокой ($\approx 10\%$). Возможно, она зависит от активности процессов синтеза в клетке опухоли в момент исследования.

Таблица 2. Исследование цитотоксичности химиопрепаратов в краткосрочной суспензии культуры клеток

№ образца	Вид опухоли	Процент живых клеток							
		Конт-роль	Темодал	Доксорубицин	Дакарбазин	Цисплатин	Метотрексат	Таксотер	Кампто
56	Глиобластома (IV степень анаплазии)	63	64	—	—	—	—	—	—
59	Глиобластома (IV степень анаплазии)	74	52	—	—	—	—	—	—
60	Глиобластома (IV степень анаплазии)	88	75	—	—	—	—	—	—
65	Глиобластома (IV степень анаплазии)	90	83	—	—	—	—	—	—
68	Глиобластома (IV степень анаплазии)	90	68	79	—	74	82	—	72
66	Глиобластома (IV степень анаплазии)	88	76	77	—	68	75	—	—
72	Глиобластома (IV степень анаплазии)	83	77	71	75	83	69	76	82
57	Анапластическая астроцитома (III степень анаплазии)	34	33	—	—	—	—	—	—
61	Анапластическая астроцитома (III степень анаплазии)	75	48	—	—	—	—	—	—
62	Анапластическая астроцитома (III степень анаплазии)	80	76	—	—	—	—	—	—
69	Анапластическая астроцитома (III степень анаплазии)	69	60	59	55	59	42	52	59
71	Анапластическая астроцитома (III степень анаплазии)	75	66	55	77	54	69	57	77
67	Астроцитома фибриллярно-протоплазматическая (III степень анаплазии)	93	66	86	—	79	88	—	—
58	Олигодендроастроцитома (II-III степень анаплазии)	82	62	—	—	—	—	—	—

Примечание. "—" — цитотоксичность не определяли.

Цисплатин представляет собой соединение, содержащее платину. Цитотоксический эффект данного препарата основан на образовании комплексами платины с цис-расположением атомов галогенов устойчивых хелатов с пуринами и пиримидинами, в результате чего на ДНК образуются микроузлы и она не может служить матрицей. Данная реакция является необратимой и репарация ДНК в данном случае не происходит. Аналогично, хотя и в меньшей степени, цисплатин подавляет синтез РНК и белков. Поэтому цисплатин является токсичным для опухолевых клеток на всех стадиях клеточного цикла. В рассмотренных нами образцах опухолевых культур чувствительность к цисплатину наблюдалась в разной степени во всех случаях и полностью отсутствовала в одном образце, проявившем относительно высокую активность GST — (1,06 ммоль/(г ткани·мин)).

Таксотер, в основе которого находится токсическое вещество растительного происхождения таксан, останавливает веретено деления, связывая тубулин. В результате клетки, находящиеся в фазе расхождения хромосом в митозе, оказываются блокированы в этом состоянии и не могут осуществлять жизненно важные функции. Этот препарат особенно действенен для активно растущих опухолей с большим количеством делящихся клеток. На чувствительность к данному препарату мы исследовали 3 образца глиом и в двух из них наблюдали цитотоксический эффект (на 17–18%).

Кампто — действие препарата основано на ингибировании фермента, отвечающего за пространственную структуру ДНК-топоизомеразы I. Нарушение структуры приводит к изменению функционирования, что, как и в предыдущих случаях, может приводить к потере жизнеспособности. Мы наблюдали такой эффект в 2 из 4 исследованных образцов (на 10 и 18%), в двух других — чувствительность к кампто полностью отсутствовала.

Анализируя полученные результаты и данные литературы относительно факторов формирования резистентности опухолей головного мозга к химиопрепаратам, следует отметить, что напряженность работы детоксикационных ферментативных систем защиты организма в каждом отдельном случае бывает разной; очевидно, это связано, прежде всего, с индивидуальными особенностями организма. Поэтому успех в проведении химиотерапии при лечении злокачественных глиом головного мозга зависит от детального индивидуального учета возможных механизмов резистентности организма для каждого пациента.

Итак, существует ряд экспериментальных и клинических данных относительно корреля-

ции показателей клеточной резистентности и применения тех или иных химиопрепаратов, известны субстраты для большинства ферментов детоксикации. Для P-gp, продукта гена MDR1, субстратами являются винбластин, винкристин, колхицин, доксорубин, этопозид, таксол, актиномицин D, пуромицин, грамицидин D, дактиномицин; не метаболизируются при участии P-gp метотрексат, 5-флуороурацил, цисплатин, гентамицин и др. Функционирование системы глутатиона коррелирует с чувствительностью к доксорубину, винкристину, VP-16, активность MGMT — основного фермента репарации повреждения ДНК — с темодалом, ACNU, CCNU [24].

Таким образом, анализ научно-литературных и экспериментально-клинических данных свидетельствует о необходимости комплексного подхода к лечению больных со злокачественными новообразованиями головного мозга с учетом их химиорезистентности, а также индивидуальных особенностей организма.

Список литературы

1. Клеменс М. Выделение эукариотической матричной РНК (мРНК) // Транскрипция и трансляция. Методы: Пер.с англ./ Под ред.Б.Хеймса и С.Хиггинса. — М.:Мир, 1987. — 275с.
2. Кондратьева Т.В., Имянитов Е.Н., Того А.В., Зайцева О.А., Яцук О.С., Берснев В.П., Хансон К.П. Полиморфизм генов L-МУС и GST M1 у больных с глиомами головного мозга //Вопр.онкологии. — 1999. — Т.45(5). — С.523–527.
3. Культура животных клеток: Методы/ Под. ред. Р. Фрешни. — М.: Мир. 1989. — 302с.
4. Олийниченко П.И., Булкина З.П., Синиборова Т.И. Справочник по химиотерапии опухолей. — К.: Здоров'я, 2000. — 295 с.
5. Руководство по культивированию нервной ткани: Методы. Техника. Проблемы/ Божкова В.П., Брезестовский П.Д., Буравлев В.П. и др. — М.: Наука, 1988. — 315с.
6. Чехун В.Ф., Шишова Ю.В. Современные взгляды на механизмы формирования лекарственной устойчивости опухолей // Онкология. — 2000. — Т.2(1). — С.11–15.
7. Ali-Osman F., Brunner J.M., Kutluk T.M., Hess K. Prognostic significance of glutathion S-transferase pi expression and subcellular localisation in human gliomas// Clin.Cancer.Res. — 1997. — V.12(Pt.1). — P.2253–2261.
8. Autrap H. Genetic polymorphisms in human xenobiotica metabolizing enzymes as susceptibility factors in toxic response// Mutat Res. — 2000. — V.464. — P.65–76.
9. Beale P.J., Rogers P., Boxall F. et al. BCL-2 family protein expression and platinum drug resistance in ovarian carcinoma//Brit.J.Cancer. — 2000. — V.82. — P.436–440.
10. Blackburn A.C., Tzeng H.F., Anders M.V., Board P.G. Discovery of a functional polymorphism in human glutathione tranferase zeta by expressed sequence

- tag database analysis// Pharmacogenetics. — 2000. — V.1. — P.49–57.
11. DeJong J.L., Morgenstern R., Jornvall H., DePierre G. et al. Gene expression of rat and human microsomal glutathion S-transferases// J.Biol.Chem. — 1988. — V.263. — P.8430–8436.
 12. Duhem C., Ries F., Dicato M. What does Multidrug Resistance (MDR) Expression Mean in the Clinic?// Oncologist. — 1996. — V.1(3). — P.151–158.
 13. Gonzales F.J., Gelboin H.V. Role of human cytochrome P450 in the metabolic activation of chemical carcinogens and toxins// Drug Metab.Rev. — 1994. — V.26. — P.165–183.
 14. Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B. Glutathione S-Transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation// J.Biol.Chem. — 1974. — V. 22. — P.7130–7139.
 15. Hand P.A., Inskip A. et al Allelism at the glutathione S-transferase GST M3 locus — interactions with GST M1 and GST T1 as risk factors for astrocitoma // Carcinogenesis. — 1996. — V.17 (9). — P.1919–1922.
 16. Hara A., Sakai N., Yamada H., Niikawa S. et al. Expression of the placental form of glutathion S-transferase in pediatric gliomas// Childs Nerv. Syst. — 1993. — V.9 (3). — P.142–146.
 17. Hayes J. D., Pulford D. J. Genetic polymorphisms in human xenobiotica metabolizing enzymes // Crit. Rev. Biochem. Molec. Biol. — 1995. — V.30. — P. 445–600.
 18. Hoffmeyer H., Burk O., von Richter O. et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: Multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo //Proc. Natl. Acad. Sci.USA. — 2000. — V. — 97(7). — P. 3473–3478.
 19. Ishii T., Matsuse T., Teramoto S., Matsui H. et al. Glutathione S-transferase P1 (GSTP1) polymorphism in patients with chronic obstructive pulmonary disease// Thorax. — 1999. — V.54. — P.693–696.
 20. Kelsey K.T., Spitz M.R., Zuo Z.-F., Wiencke J.K. Polymorphism in the glutathion S-transferase class mu and theta genes interact and increase susceptibility to lung cancer in monitoritu populations (Texas, United States)// Cancer Causes Control. — 1997. — V.8—P.554–559.
 21. Lemos M.C., Cabrita F.J., Silva H.A., Vivan M. et al. Genetic polymorphism of CYP2D6, GSTM1 and NAT2 and susceptibility to hematological neoplasias// Carcinogenesis. — 1999. — V. 20. — P.1225–1229.
 22. Matsumoto Y., Sasaoka N., Tsuchida T., Fujiwara T., Nagao S. Quantitative analysis of glutathione S-transferase in human brain tumors, C6 rat glioma cells and drug resistant C6cells// No Shinkei Geka. — 1992. — V.20 (10). — P.1069–1074.
 23. Nacamura M., Tsunoda S., Watable Y., Shimomura T. et al. Immunohistochemical study of placental form of glutathion S-transferase in human brain tumors and fetal brains// No to Shinkei. — 1990. — V.42(10). — P.965–970.
 24. Nagane M., Asai A., Shibui S., Oyama H., et al. Expression Pattern of Chemoresistance-related Genes in Human Malignant Brain Tumors: a Working Knowledge for Proper Selection of Anticancer // Jap.J. Clin. Oncol. — 1999. — V.29. — 527–534.
 25. Noonan KE, Beck C, Holzmayer TA, et al. Quantitative Analysis of MDR1 (Multidrug Resistance) Gene Expression in Human Tumors by Polymerase Chain Reaction // Proc. Natl. Acad.Sci.USA. — 1990. — V. 87. — P.7160–7164.
 26. Pegg A.E. Mammalian O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase: regulation and importance in response to alkylating carcinogenic and therapeutic agents// Cancer Res. — 1990. — V.50. — P.6119–6129.
 27. Stella M.D. Glutathion S-Transferase Polymorphisms in Children with Myeloid Leukemia: A Children's Cancer Group Study// Cancer Epidemiol.Biomark. —2000. — V.9. — P.563–566.
 28. Von Bossanyi P., Diets S., Dietzmann K., Warich-Kirches M., Kirches E. Immunohistochemical expression and glutathion S-transferases in cerebral gliomas and response to chemotherapy// Acta Neuropathology. — 1997. — V.94(6). — P.605–611.
 29. Zhu B.T A novel hypothesis for the mechanism of action of P-glycoprotein as a multidrug transporter// Molec. carcinogenesis. — 1999. — V. 25. — P.1–13.
- Хіміорезистентність гліом головного мозку як результат реалізації їх генотипу**
Васильєва І.Г., Главацький О.Я., Чопік Н.Г., Олексенко Н.П., Цюбко О.І., Галанта О.С.
- Проведені дослідження ефективності застосування хіміопрепаратів у терапії гліом головного мозку на основі врахування життєздатності пухлинних клітин і зіставлення одержаних результатів із даними генотипування пухлин по генах глутатіонтрансфераз класу тета (GST-T), м'ю (GST-м) і сумарної активності глутатіонтрансфераз, а також рівня експресії MDR1. Одержані результати не виявили кореляції функціонування різних систем резистентності клітин з гістологічними особливостями пухлини і ступенем її анаплазії, що свідчить про необхідність комплексного підходу до лікування хворих зі злякисними новоутвореннями головного мозку з урахуванням їхньої хіміорезистентності, а також особливостей організму.
- Chemoresistance of brain glioma as a result of their genotype**
Vasilyeva I.G., Glavatskiy A.Ya., Chopick N.G., Olexenko N.P., Tsyubko O.I., Galanta E.S.
- The effectiveness of malignant brain tumors chemotherapy on the base of determination of tumor's genotype (glutathion S-transferases theta GST-T and mu GST-M) and phenotype (glutathion S-transferase activity) was investigated. No correlation between malignant grade of brain tumors and expression level of examined genes in them has been found. Our data indicate the need of further investigation of this problem and of the detail accounting of all mechanisms of tumor cell resistance.