

Оригинальные работы

УДК 616-006.441:575.224.23

И.П. НЕСИНА, М.П. ЗАВЕЛЕВИЧ, А.А. ФИЛЬЧЕНКОВ,
Л.З. ПОЛИЩУК, И.А. СМИРНОВА

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

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КЛЕТКАХ ПЕРЕВИВАЕМОЙ ЛИНИИ NAMALWA ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ЛИМФОМЫ ЧЕЛОВЕКА, ИНДУЦИРОВАННЫЕ ИНГИБИТОРАМИ РЕПЛИКАЦИИ И СИНТЕЗА ДНК



Представлены результаты цитогенетического анализа клеток злокачественной лимфомы перевиваемой линии *Namalwa* после их инкубации с субтоксическими дозами ингибиторов репликации и синтеза ДНК – этопозида и флударабина. Модальный класс хромосом в интактных клетках располагался в диплоидной области, доля aberrантных клеток составляла $16,0 \pm 0,5\%$. Воздействие этопозида приводило к повышению содержания клеток с aberrациями хромосом – от $26,1 \pm 2,9$ до $39,8 \pm 1,7\%$ (в зависимости от продолжительности воздействия и дозы химиопрепарата) и увеличению числа полипloidных клеток с сохранением модальной линии в диплоидной области. После культивирования с флударабином уровень клеток с aberrациями хромосом достигал $57,1 \pm 2,9\%$; отмечено два модальных класса в околодиплоидной и полипloidной областях. При действии исследуемых препаратов отмечено повышение числа aberrаций хроматидного типа, чаще всего в хромосомах 1, 2, 5, 6, 7, 11, 13, 14, 16 и 17. Полученные результаты свидетельствуют как о чувствительности клеток линии *Namalwa* к субтоксическим дозам ингибиторов репликации и синтеза ДНК, так и о возможности возникновения новых жизнеспособных клонов, устойчивых к химиопрепаратам.

© И.П. НЕСИНА, М.П. ЗАВЕЛЕВИЧ, А.А. ФИЛЬЧЕНКОВ,
Л.З. ПОЛИЩУК, И.А. СМИРНОВА, 2003

Введение. Несмотря на широкое применение препаратов различных классов в схемах лечения злокачественных лимфом, остаются неизвестными механизмы формирования резистентных клонов при воздействии субтоксических доз этих препаратов, равно как и механизмы их кластогенного влияния на нормальные клетки. Между тем цитогенетические изменения, индуцированные ДНК-повреждающими агентами, могут быть причинно связанны как с индукцией вторичных лейкозов после проведенной химиотерапии, так и с формированием устойчивости оставшихся злокачественных клеток.

Хотя противоопухолевые препараты различаются по механизму действия и химическому строению, большинство из них прямо или опосредованно нарушают репликацию и синтез ДНК [1]. К таким препаратам, в частности, относятся ингибиторы топоизомераз и метаболические ингибиторы синтеза ДНК. Цитотоксический эффект этопозида, относящегося к ингибиторам ДНК-токоизомеразы II, связан со стабилизацией ДНК-токоизомерного комплекса [2]. Есть единичные сведения о том, что ингибиторы ДНК-токоизомеразы II являются мутагенами, вызывающими хромосомные делеции, неравный кроссинговер и анеуплоидию [3]. Флударабин относится к группе пуриновых нуклеозидов и является метаболическим ингибитором ферментов синтеза ДНК, таких как рибонуклеотидредуктаза, ДНК-полимераза, ДНК-праймаза и ДНК-лигаза. Кроме того, флударабин частично ингибирует РНК-полимеразу II, что способствует торможению синтеза белков [4]. Аналоги пуриновых нуклеозидов с антиметаболическим действием также индуцируют образование делеций хромосом [5].

В ряде работ были исследованы изменения кариотипа злокачественных клеток при формировании устойчивых клонов в процессе длительного культивирования в присутствии химиопрепараторов [6–8], однако цитогенетические изменения при кратковременном действии субтоксических доз таких препаратов пока изучены недостаточно. В доступной литературе нам не удалось обнаружить публикаций, посвященных анализу цитогенетических изменений при действии этопозида или флударабина на клетки линии *Namalwa*. Такие исследования клеток, полученных из лимфомы Беркитта, представляют несомненный интерес, учитывая их относительную резистентность к ингибиторам ДНК-токоизомеразы II, которую связывают с интеграцией генома вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ) [9].

Целью настоящего исследования было изучение цитогенетических изменений в клетках лимфомы человека линии Namalwa при кратковременном действии субтоксических доз ингибиторов репликации и синтеза ДНК этопозида и флураабина.

Материал и методы. Суспензионная культура перевиваемой В-клеточной лимфомы человека (лимфома Беркитта) — линии Namalwa была получена из банка клеточных культур Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины. Клетки культивировали по стандартной методике при температуре 37 °C в среде RPMI-1640, содержащей 10 % сыворотки эмбрионов коров («Сангва», Украина) и 2 ммоль/л L-глутамина. Для получения метафазных пластинок в культуру клеток, находящихся в фазе активного роста (через 48 ч после пассажа), вначале добавляли на 40 мин колхицин в концентрации 0,03–0,05 мкг/мл, а затем 0,55%-ный раствор KCl (15 мин). Дальнейшую процедуру получения метафазных хромосом проводили по общепринятой методике. Препараты хромосом окрашивали 2%-ным раствором красителя Романовского-Гимза на фосфатном буфере (рН 6,8) или дифференциально для выявления G- и C-полос [10, 11].

В исследовании были использованы этопозид фирмы «Bristol-Myers Squibb SpA» (Италия) и флураабин фосфат фирмы «Schering AG» (США). Диапазон субтоксических доз указанных препаратов для клеток линии Namalwa был установлен нами ранее [12, 13]. Клетки культивировали с различными субтоксическими дозами препарата и исследовали непосредственно через 24 ч инкубации с препаратом (0,2 мкг/мл) либо через 14 сут культивирования после обработки клеток этопозидом в дозах 0,3 и 1,0 мкг/мл в течение 4 ч с последующей инкубацией в среде, не содержащей препарата. Действие флураабина изучали через 72 ч после внесения препарата в дозе 0,3 мкг/мл.

Цитогенетический анализ клеток линии Namalwa включал подсчет числа хромосом и частоты структурных aberrаций хромосом в метафазных пластинках, характеристику типов aberrаций и маркерных хромосом. Для определения модального класса числа хромосом анализировали не менее 100 рутинно окрашенных метафазных пластинок. Анализ кариотипа клеточной куль-

туры проводили на окрашенных по G-методу метафазах (30–100 клеток). Митотический индекс (МИ) оценивали по содержанию метафаз на 1000 клеток и выражали в процентах. Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики.

Результаты исследований и их обсуждение. При изучении митотической активности в интактных клетках линии Namalwa до и после воздействия этопозида и флураабина в различных режимах было установлено, что в контрольных клетках Namalwa МИ составлял $2,2 \pm 0,2\%$. После воздействия субтоксических доз ингибиторов репликации и синтеза ДНК отмечено преходящее снижение значений показателя МИ. Практически полное восстановление пролиферативной активности отмечалось через 14 сут культивирования клеток в среде без препарата при начальной дозе этопозида в 0,3 мкг/мл:

Контроль	$2,2 \pm 0,2$
Этопозид 0,2 мкг/мл, 24 ч	$0,7 \pm 0,1$
Этопозид 0,3 мкг/мл, 4 ч + 14 сут без препарата	$2,7 \pm 0,3$
Этопозид 1,0 мкг/мл, 4 ч + 14 сут без препарата	$1,1 \pm 0,2$
Флураабин 0,3 мкг/мл, 72 ч	$0,4 \pm 0,1$

Согласно данным цитогенетического анализа число хромосом в интактных клетках линии Namalwa находилось в пределах от 40 до 280; большинство клеток содержало 45–47 хромосом (модальное число 46 хромосом) (рис. 1); Y-хромосома отсутствовала, а в $56,7 \pm 3,2\%$ клеток имелась транслокация t(8;14) с образованием маркерной хромосомы 14q+. При анализе препаратов, окрашенных по C-методу, в 70 % клеток был обнаружен характерный для этой линии маркер — большой гетерохроматиновый блок на деривате хромосомы 2 (2q22,24) [14]. Доля клеток с aberrациями хромосом составила $16,1 \pm 0,6\%$. При этом число aberrаций на одну aberrантную клетку составило 1,5. Около 90% всех aberrаций были представлены aberrациями хромосомного типа (рис. 2), в том числе парными ацентрическими фрагментами (63 %) и дицентрическими хромосомами (27 %). Хроматидные aberrации в интактных клетках линии Namalwa были представлены только одиночными ацентрическими фрагментами хромосом (10 %). Помимо характерных для клеток этой линии aberrаций в хромосомах 3 (3p12) и 6 (6p22) [14], нами также отмечены повреждения в хромосомах 1 (1q21; 1q23; 1q42) и 2 (2p23–24;

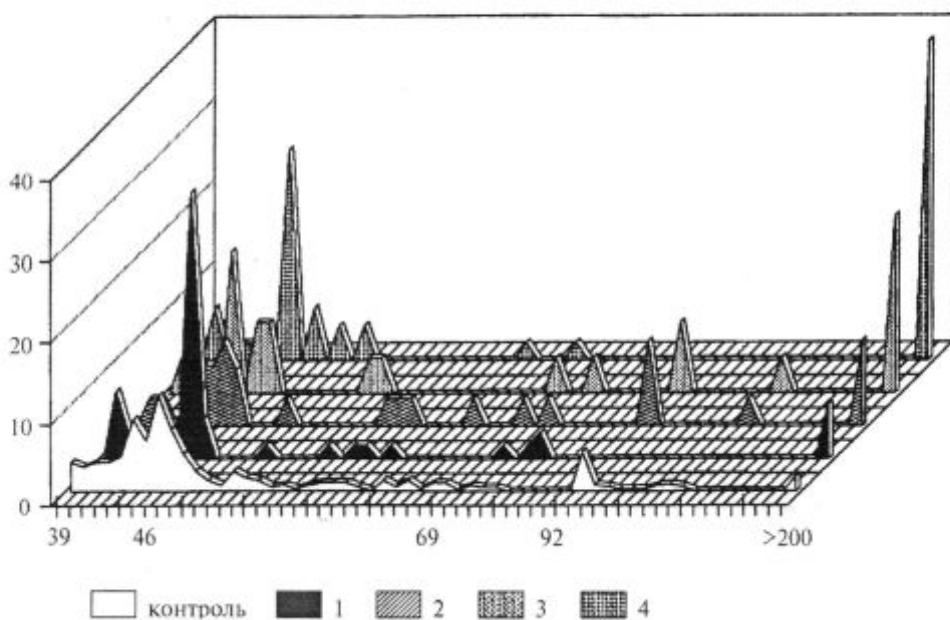


Рис. 1. Распределение клеток линии Namalwa по числу хромосом после их обработки этопозидом или флударабином: 1 — этопозид 0,2 мкг/мл, 24 ч; 2 — этопозид 0,3 мкг/мл, 4 ч + 14 сут без препарата; 3 — этопозид 1,0 мкг/мл, 4 ч + 14 сут без препарата; 4 — флударабин 0,3 мкг/мл, 72 ч; по вертикали — процент метафаз с данным числом хромосом; по горизонтали — число хромосом в метафазе

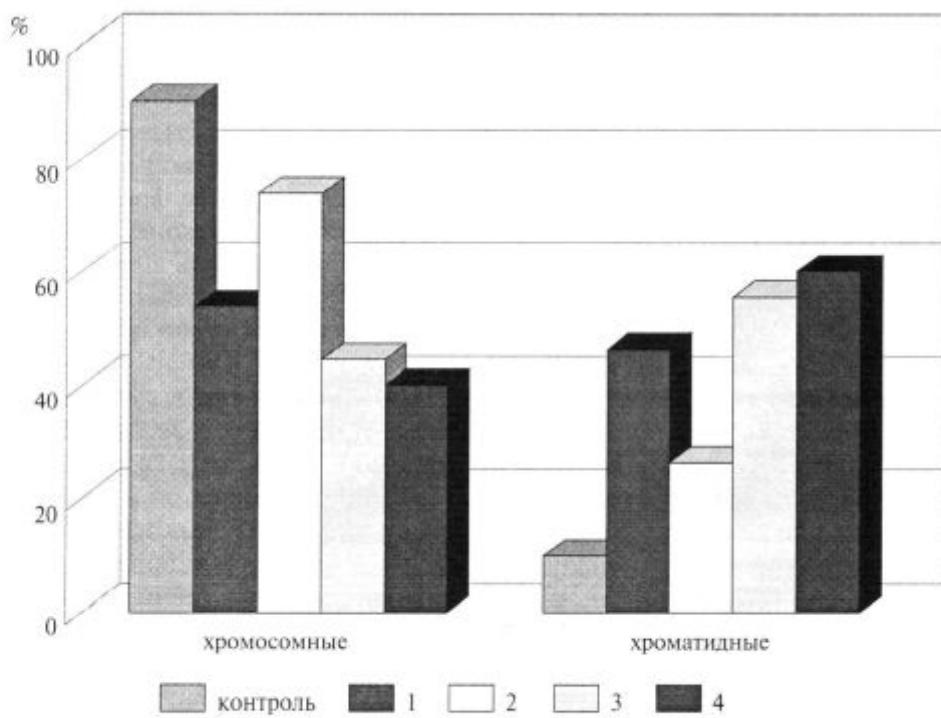


Рис. 2. Распределение аберраций хромосом по типам в клетках линии Namalwa после их обработки этопозидом или флударабином: 1 — этопозид 0,2 мкг/мл, 24 ч; 2 — этопозид 0,3 мкг/мл, 4 ч + 14 сут без препарата; 3 — этопозид 1,0 мкг/мл, 4 ч + 14 сут без препарата; 4 — флударабин 0,3 мкг/мл, 72 ч

2q11; 2q14; 2q21–31), а также в хромосомах 5, 10, 12 и 13.

При инкубации клеток линии Namalwa в присутствии субтоксических доз этопозида и флуорадабина наблюдалась изменения как числа хромосом в метафазных пластинках, так и количества структурных аберраций хромосом (рис. 1 и 2). Так,

после культивирования клеток исследуемой линии в течение 24 ч в среде, содержащей 0,2 мкг/мл этопозида, число хромосом в метафазах соответствовало аналогичному показателю в интактных клетках при небольшом повышении числа полиплоидных клеток (рис. 1). Исследование модального класса через 14 сут после 4-часового

воздействия этопозида (в дозе 0,3 мкг/мл) выявило еще большую гетерогенность количественного состава хромосом в сторону полиплоидизации (увеличилась частота околотетрапloidных и полипloidных клеток), которая повышалась с увеличением дозы препарата (до 1,0 мкг/мл), при этом модальный класс все же располагался в околодипloidной области. При действии флударабина в клетках линии Namalwa появлялось два модальных класса в дипloidной и полипloidной областях.

Анализ частоты структурных аберраций хромосом в клетках линии Namalwa при действии этопозида и флударабина показал, что уровень клеток с аберрациями хромосом после 24 ч инкубации в среде, содержащей 0,2 мкг/мл этопозида, повышался более чем в два раза — до $39,8 \pm 1,7\%$, при частоте аберраций на одну аберрантную клетку в пределах контроля — 1,6. Однако по сравнению с контролем значительно изменилось соотношение числа аберраций хроматидного и хромосомного типов (рис. 2). Доля аберраций хроматидного типа увеличилась до 46,3 % (по сравнению 10 % в контроле) за счет большого числа хроматидных разрывов с одночными фрагментами и появления межхромосомных хроматидо-хроматидных обменов. Среди аберраций хромосомного типа увеличивалось число парных ацентрических фрагментов с образованием кольцевых, ди- и трицентрических хромосом, а также сверхдлинных перестроенных хромосом. Чаще других повреждались хромосомы 1 (1p12), 2 (2p21; 2q22), 5 (5q21), 6 (6p22), 11 (11p13), 13 (13q11), 16 (16p21) и 17 (17q12).

После 4 ч инкубации клеток Namalwa с этопозидом в дозе 0,3 мкг/мл с последующим 14-суточным культивированием в среде без препарата количество клеток с аберрациями хромосом оставалось достаточно высоким и было в два раза выше, чем в контроле — $32,1 \pm 2,8\%$, при возрастании количества аберраций на одну аберрантную клетку — до 1,9 и частоты аберраций хроматидного типа — до 26,3 %, а аберраций хромосомного типа — до 73,3 %. Спектр повреждений был примерно таким, как и в опыте при изучении непосредственного генотоксического эффекта этопозида, за исключением хроматидо-хроматидных обменов. Кроме перечисленных ранее, повреждались хромосомы 7 (7p11; 7q32) и из группы D (13q и 14q). С увеличением дозы

этопозида до 1,0 мкг/мл при сохранении того же режима культивирования содержание клеток с аберрациями несколько снижалось и составляло $26,1 \pm 2,9\%$ при числе аберраций на одну аберрантную клетку — 1,3. Изменялось также соотношение аберраций хроматидного и хромосомного типов — 55,6 и 44,5 % соответственно при сохранении спектра повреждений хромосом, как и в предыдущих опытах, а именно: повреждение хромосом 2 (2q34) и 5 (5q22), а также в группе D (13p22 и 14q32). Во всех трех опытах с этопозидом наблюдались метафазы с явлением пульверизации хромосом.

Аналогичный спектр количественных и структурных изменений хромосом наблюдали другие исследователи при получении устойчивых к этопозиду клонов клеток хронического промиелоцитарного лейкоза человека линии K-562 [7].

Значительные изменения кариотипа клеток Namalwa наблюдались после их 72-часового культивирования с 0,3 мкг/мл флударабина. Уровень клеток со структурными аберрациями хромосом повышался до $57,1 \pm 2,9\%$ с числом аберраций на одну аберрантную клетку 1,1. Преобладали аберрации хроматидного типа (рис. 2) — до 60 % (только одиночные ацентрические фрагменты), а аберрации хромосомного типа (до 40 %) были представлены в основном парными ацентрическими фрагментами (30 %) и единичными (по 3,3 %) дицентрическими, кольцевыми и перестроенными хромосомами.

Аберрации идентифицированы в хромосомах 2, 4, 5, 7, 11, 14, 16 и 17 (в локусах 2p24; 2q22; 2q31; 4q34; 5q34; 7q13; 7q15; 7q11; 7q21; 7q35; 11q24; 14p13; 14q21; 16p13 и 17p11). При этом наблюдаемые при действии этопозида хроматидо-хроматидные обмены и явление пульверизации хромосом в случае применения флударабина нами не обнаружены, что согласуется с данными Гонсалес-Сид с соавт. [15].

Проведенное исследование показало, что при действии субтоксических доз этопозида и флударабина в клетках линии Namalwa происходит краткосрочное снижение пролиферативной активности, которая через некоторое время после культивирования обработанных клеток в среде, не содержащей препарата, восстанавливается до исходных значений. Однако цитогенетический анализ этих же культур показал, что субтоксические дозы этопозида и флударабина даже при

кратковременном воздействии вызывают в клетках Namalwa длительно сохраняющиеся генетические изменения, которые свидетельствуют об их чувствительности к этим препаратам в дозах, не вызывающих немедленной гибели клеток и не препятствующих их пролиферации на протяжении, по крайней мере, нескольких генераций.

Цитогенетические изменения заключались прежде всего в увеличении доли полиплоидных клеток, особенно при действии флуударабина, что, как свидетельствуют данные литературы, является результатом генотоксического действия и способствует возникновению устойчивости клеток к противоопухолевым препаратам [12]. Кроме того, даже при непродолжительном действии ингибиторов репликации и синтеза ДНК в субтоксических дозах увеличивалось количество структурных аберраций хромосом с появлением новых их типов, не наблюдавшихся в контроле, которые сохранялись при последующем культивировании в среде, не содержащей данного селективного агента. Уменьшение доли измененных клеток и числа поврежденных хромосом при повышении дозы химиопрепарата, по-видимому, связано с гибелю части клеток в процессе дальнейшего их культивирования без препарата.

Увеличение количества аберраций хромосом и повышение числа полиплоидных клеток сви-

детельствуют о повышении степени нестабильности генома клеток Namalwa при кратковременном действии субтоксических доз этопозида, что совпадает с данными, полученными при исследованиях этого препарата на перевиваемой линии HL60 клеток промиелоцитарного лейкоза человека [16].

В ряде исследований показано лейкемогенное действие этопозида и флуударабина [17, 18]. Механизм развития вторичных лейкозов при лечении лимфопролиферативных заболеваний этопозидом состоит в сайт-специфическом действии малых доз этого препарата на лейкозоассоциированные гены [19]. Интересно отметить, что локализация некоторых из обнаруженных нами структурных аберраций в клетках линии Namalwa после их культивирования с флуударабином (4q34, 5q34 и 7q11-21) частично совпадает с локализацией цитогенетических изменений, выявленных в клетках костного мозга у больной неходжкинской лимфомой с миелодиспластическим синдромом, который развился после лечения флуударабином (46XX, t(4;11)(q23-24;q13), del(5q), del(7)(q22), + mar) [17].

Все это, по-видимому, свидетельствует о неслучайном характере наблюдаемых изменений кариотипа клеток линии Namalwa при действии этопозида и флуударабина, однако требует дополнительного изучения.

Сопоставление участков интеграции ВЭБ в хромосомы человека с расположением сайтов повышенной ломкости хромосом (данные литературы) и локализацией аберраций хромосом в клетках линии Namalwa при действии этопозида и флуударабина

Места интеграции ВЭБ в хромосомы человека	Локализация близлежащего ломкого сайта на хромосомах человека	Выявленные аберрации хромосом в клетках Namalwa		
		без воздействия	+ этопозид	+ флуударабин
1p32	FRA1B – 1p32	—	1p12	—
1p31.2	FRA1C – 1p31.2	—	—	—
1q31	FRA1K – 1q32	1q21; 1q23; 1q42	—	—
2q32.1	FRA2H – 2q32.1	2q31	2q22; 2q34	2q22; 2q31
3q13	FRA3D – 3q25	—	—	—
5q21	FRA5F – 5q21	5q21	5q15	5q34
6q24	FRA6E – 6q26,	—	—	—
	FRA6F – 6q21	—	—	—
7q31.2	FRA7G – 7q31.2	—	7q32	7q11-21; 7q35
13q21	FRA13B – 13q21	13q13	13q11	—
16p13.11	FRA16A – 6p13.11	—	16p21	16p13

Сопоставление локализации некоторых идентифицированных нами повреждений хромосом в клетках линии Namalwa с расположением близлежащих сайтов повышенной ломкости хромосом человека [20] показало их частичное совпадение. Кроме того, локализация некоторых из выявленных нами аберраций хромосом как в интактных клетках Namalwa, так и при действии химиопрепараторов (2q32; 5q21; 16p13) соответствовала местам интеграции ВЭБ в хромосомы клеток лимфомы Беркитта (таблица) [9].

Таким образом, проведенное исследование показало, что при действии субтоксических доз этопозида и флударарабина в клетках перевиваемой линии лимфомы Namalwa возникают значительные изменения генотипа, фиксируемые на уровне кариотипа. Эти изменения более выражены непосредственно после воздействия препаратов, в процессе дальнейшего культивирования клеток происходит перераспределение повреждений хромосом. На цитогенетическом уровне выявлены принципиальные различия действия этопозида и флударарабина. Этопозид в большей степени индуцировал образование межхромосомных хроматидо-хроматидных обменов, кольцевых и поликентрических хромосом, а флударабин в основном способствовал возникновению одиночных и парных ацентрических фрагментов, а также нарушению митотического деления с последующей полиплоидизацией клеток линии Namalwa. Характерные изменения кариотипа злокачественных клеток, по-видимому, могут свидетельствовать не только об их чувствительности к ингибиторам репликации и синтеза ДНК, но и о возникновении новых жизнеспособных клонов, которые могут приобретать селективное преимущество, что, очевидно, связано и с механизмами приобретения устойчивости к химиопрепаратам.

SUMMARY. Namalwa cells originating from the malignant human lymphoma have been analyzed cytogenetically upon short-time exposure to subtoxic doses of inhibitors of DNA replication and synthesis, either etoposide or fludarabine. The intact cells were characterized by the modal class of the chromosomes within the diploid range with the proportion of the aberrant cells amounting to $16,0 \pm 0,5\%$. Upon exposure to etoposide the percentage of the aberrant cells increased amounting to $26,1 \pm 2,9$ through $39,8 \pm 1,7\%$ depending on the duration of the exposure and the dose of the drug. At the same time the number of the polyploid cells increased but the modal class retained within the diploid range. Upon exposure

to fludarabine the percentage of the cells with the aberrant chromosomes increased to $57,1 \pm 2,9\%$. Two modal classes appeared — the first approaching the diploid number and the second being polyploid. The exposure to either etoposide or fludarabine resulted in increasing number of the chromatide aberrations with more frequent involvement of #1, #2, #5, #6, #7, #11, #13, #14, #16 and #17 chromosomes. The data obtained have shown the susceptibility of Namalwa cells to the subtoxic concentrations of the inhibitors of DNA synthesis and replication used in the study resulting in the survival of the novel clones resistant to the drugs.

РЕЗЮМЕ. Представлено результати цитогенетичного аналізу клітин злокачисткої лімфоми людини перевіщлюваної лінії Namalwa після її інкубації із субтоксичними дозами інгібіторів реплікації та синтезу ДНК — етопозиду і флударабіну. Модальний клас хромосом у інтактних клітинах розташувався в диплойдній області; частка аберантних клітин дорівнювала $16,0 \pm 0,5\%$. Під впливом етопозиду підвищувався вміст клітин з аберраціями хромосом — від $26,1 \pm 2,9$ до $39,8 \pm 1,7\%$ (в залежності від тривалості впливу і дози хіміопрепаратору) та збільшувалась кількість поліпloidічних клітин із збереженням модальної лінії у диплойдній області. Після культивування з флударабіном рівень клітин з аберраціями хромосом досягав $57,1 \pm 2,9\%$; відзначено два модальних класи у білядиплойдні та поліпloidні областях. При дії досліджуваних препаратів відзначено підвищення числа аберрацій хроматидного типу, найчастіше у хромосомах 1, 2, 5, 6, 7, 11, 13, 14, 16 і 17. Отримані результати свідчать про чутливість клітин лінії Namalwa до субтоксичних концентрацій інгібіторів реплікації і синтезу ДНК та про можливість виникнення нових життєздатних клонів, стійких до дії хіміопрепаратів.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бычков М.Б. Химиотерапия злокачественных опухолей // Арх. патологии. — 1996. — 4. — С. 15–17.
2. Филов В.А., Гершанович М.Л., Акимов М.А., Акимов А.А. Проблемы онкологической фармакологии // Вопр. онкологии. — 1998. — 44. — С. 651–617.
3. Ferguson L.R. Inhibitors of topoisomerase II enzymes: a unique group of environmental mutagens and carcinogens // Mutat. Res. — 1998. — 400. — С. 271–278.
4. Астрелина Т.А. Механизмы действия антилейкемических препаратов при лечении острых нейлимфобластных лейкозов // Гематол. трансфузiol. — 2000. — 45. — С. 34–39.
5. Huang P., Siciliano M.J., Plunkett W. Gene deletion, a mechanism of induced mutation by arabinosyl nucleosides // Mutat. Res. — 1989. — 210. — Р. 291–301.
6. Гринчук Т.М., Павленко М.А., Арцибашева И.В., Меликсяян М.Б., Алексеенко Л.Л., Пуговкина Н.А. Плейотропные изменения структуры кариотипа фибробластов китайского хомячка линии CHL V-79 RJK в связи с приобретением ими устойчивости к этопозиду — индуктору апоптоза // Цитология. — 1999. — 41. — С. 190–199.
7. Меликсяян М.Б., Березкина Е.Б., Павленко М.А., Гринчук Т.М. Исследование механизмов лекарственной

- устойчивости двух клеточных линий хронического промиелолейкоза человека линии K562, резистентных к ингибиторам ДНК-топоизомеразы и адриамицину и этопозиду // Цитология. — 1999. — **41**. — С. 615–621.
8. Mansson E., Spasokoukotskaja T., Sallstrom J., Eriksson S., Albertoni F. Molecular and biochemical mechanisms of fludarabine and cladribine resistance in a human promyelocytic cell line // Cancer Res. — 1999. — **59**. — P. 5956–5963.
 9. Takasaka N., Tajima M., Okinaga K., Satoh Y., Hoshikawa Y., Katsumoto T., Kurata T., Sairenji T. Productive infection of Epstein-Barr virus (EBV) in EBV-genome-positive epithelial cell lines (GT38 and GT39) derived from gastric tissues // Virology. — 1998. — **247**. — P. 152–159.
 10. Seabright M. The use of proteolytic enzymes for the mapping of structural rearrangements in the chromosomes of man // Chromosoma. — 1972. — **36**. — P. 204–210.
 11. Sumner A.T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin // Exp. Cell Res. — 1972. — **75**. — P. 303–306.
 12. Фильченков А.А., Завелевич М.П., Бутенко З.А. Индукция апоптоза в злокачественных лимфоидных клетках человека ДНК-повреждающими препаратами с различным механизмом действия // Эксперим. онкология. — 2001. — **23**. — С. 170–174.
 13. Butenko Z.A., Zavelevich M.P., Smirnova I.A., Khaetsky I.K., Phylchenkov A.A., Kishinskaya E.G., Baranovskaya L.N. Different etoposide-induced apoptotic response of human malignant lymphoid cell lines // Exp. Oncol. — 2000. — **22**. — P. 26–31.
 14. Мамаева С.Е. Атлас хромосом постоянных клеточных культур человека и животных. — М.: Науч. мир, 2002. — 235 с.
 15. Gonzalez-Cid M., Fundia A.F., Cuello M.T., Larripa I. Correlation between chromosome damage and apoptosis induced by fludarabine and idarubicin in normal human lymphocytes // Toxicology. — 2002. — **171**. — P. 215–222.
 16. Liu W.M., Oakley P.R., Joel S.P. Exposure to low concentrations of etoposide reduces the apoptotic capability of leukaemic cell lines // Leukemia. — 2002. — **16**. — P. 1705–1712.
 17. Misgeld E., Germing U., Aul C., Gattermann N. Secondary myelodysplastic syndrome after fludarabine therapy of a low-grade non-Hodgkin's lymphoma // Leuk. Res. — 2001. — **25**. — P. 95–98.
 18. Blanco J.G., Dervieux T., Edick M.J., Mehta P.K., Rubnitz J.E., Shurtleff S., Raimondi S.C., Behm F.G., Pui C.H., Relling M.V. Molecular emergence of acute myeloid leukemia during treatment for acute lymphoblastic leukemia // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2001. — **98**. — P. 10338–10343.
 19. Broeker P.L., Super H.G., Thirman M.J., Pomykala H., Yonebayashi Y., Tanabe S., Zeleznik-Le N., Rowley J.D. Distribution of 11q23 breakpoints within the MLL breakpoint cluster region in de novo acute leukemia and in treatment-related acute myeloid leukemia: correlation with scaffold attachment regions and topoisomerase II consensus binding sites // Blood. — 1996. — **87**. — P. 1912–1922.
 20. McAlpine P.J., Shows T.B., Boucheix C., Huebner M., Anderson W.A. The 1991 catalog of mapped genes and the nomenclature committee // Cytogen. Cell Genet. — 1991. — **58**. — P. 5–102.

Поступила 21.01.03