

Режим однократной инъекции препарата двуцепочечной ДНК после каждой инъекции циклофосфана, приводящий к эрадикации первичного асцита Кребс-2

Е.А. Поттер¹, Е.В. Долгова¹, А.М. Минкевич¹, В.П. Николин¹, Н.А. Попова^{1,2}, Я.Р. Ефремов^{1,2},
С.И. Байбородин^{1,2}, В.А. Рогачев¹, А.С. Проскурина¹, О.С. Таранов³, Е.И. Верещагин⁴, А.А. Останин⁵,
Е.Р. Черных⁵, Н.А. Колчанов¹, С.С. Богачев¹ ✉

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

³ Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия

⁴ Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Новосибирск, Россия

⁵ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия

В наших предыдущих работах был разработан режим элиминации первичного асцита на модели мышинной опухоли Кребс-2. В основе режима лежат многократные инъекции препаратов двуцепочечной ДНК, приходящиеся как на фазу NER, так и на фазу гомологической рекомбинации процесса репарации межцепочечных швов после обработки животных циклофосфаном. Развивающийся вторичный асцит у обработанных таким образом животных свидетельствовал о том, что при такой обработке стволовые иницирующие раковые клетки не полностью элиминируются и впоследствии дают рецидив заболевания. Характерный симптомокомплекс системной воспалительной реакции предполагал токсическое воздействие многократных инъекций препарата ДНК. На основании этих фактов был разработан технологически простой режим синергичного действия цитостатика циклофосфана и препарата двуцепочечной ДНК, позволяющий полностью элиминировать первичный развитый асцит опухоли Кребс-2, со снижением уровня токсического воздействия на экспериментальных животных. В отличие от обсуждавшегося ранее режима, в настоящей разработке многократные инъекции препаратов двуцепочечной ДНК сведены к одной инъекции в точку демаркации фаз репарации NER и гомологической рекомбинации в каждом репаративном цикле. В результате такой обработки также удалось достичь 8-суточной ремиссии асцита Кребс-2 у всех животных в группе, что было показано при режиме многократных инъекций препаратов двуцепочечной ДНК. Средняя продолжительность жизни экспериментальных животных при однократных инъекциях увеличилась, что свидетельствует об уменьшении токсического воздействия терапии на животных.

Ключевые слова: двуцепочечная ДНК; циклофосфан; асцит Кребс-2; стволовые иницирующие раковые клетки; репарация; ремиссия; NER; гомологическая рекомбинация; системная воспалительная реакция; полиорганная недостаточность.

Eradication of Krebs-2 primary ascites via a single-injection regimen of cyclophosphamide and double-stranded DNA

E.A. Potter¹, E.V. Dolgova¹, A.M. Minkevich¹,
V.P. Nikolin¹, N.A. Popova^{1,2}, Ya.R. Efremov^{1,2},
S.I. Baiborodin^{1,2}, V.A. Rogachev¹, A.S. Proskurina¹,
O.S. Taranov³, E.I. Vereschagin⁴, A.A. Ostanin⁵,
E.R. Chernykh⁵, N.A. Kolchanov¹, S.S. Bogachev¹ ✉

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ The State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Novosibirsk region, Russia

⁴ Novosibirsk State Medical Academy, Novosibirsk, Russia

⁵ Scientific Research Institute of Clinical Immunology, SB RAMS, Novosibirsk, Russia

Previously, we reported on the development of a therapeutic regimen allowing eradication of primary murine Krebs-2 ascites transplants. This protocol involved multiple injections of dsDNA preparations administered during the NER and HR phases of repair of interstrand DNA cross-links induced by prior cyclophosphamide treatments. Mice treated under this protocol frequently developed secondary ascites, which indicated that some tumor-inducing cancer stem cells could survive the treatment and caused relapse. Further, we observed that animals receiving multiple dsDNA injections developed pronounced systemic inflammatory response. This prompted us to develop a more straightforward treatment regimen based on the synergistic activity of cyclophosphamide and dsDNA preparations, which would allow complete eradication of established primary Krebs-2 ascites and also be less toxic for the treated animals. This protocol relies on a precisely timed single injection of dsDNA during the NER/HR transition period of each repair cycle. Under this protocol, 8-day remission of Krebs-2 engrafted mice was achieved, which was similar to the

results of the multiple-injection treatment schedule. We observed an increase in the average life span of Krebs-2-transplanted mice on a single-injection regimen, which was consistent with reduced toxicity of such treatment.

Key words: double-stranded DNA; cyclophosphamide; Krebs-2 ascites; tumor-initiating cancer stem cells; repair; remission; NER; homologous recombination; systemic inflammatory reaction; multiple organ failure.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Поттер Е.А., Долгова Е.В., Минкевич А.М., Николин В.П., Попова Н.А., Ефремов Я.Р., Байбородин С.И., Рогачев В.А., Проскурина А.С., Таранов О.С., Верещагин Е.И., Останин А.А., Черных Е.Р., Колчанов Н.А., Богачев С.С. Режим однократной инъекции препарата двуцепочечной ДНК после каждой инъекции циклофосфана, приводящий к эрадикации первичного асцита Кребс-2. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(5):716-722. DOI 10.18699/VJ16.161

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Potter E.A., Dolgova E.V., Minkevich A.M., Nikolin V.P., Popova N.A., Efremov Ya.R., Baiborodin S.I., Rogachev V.A., Proskurina A.S., Taranov O.S., Vereschagin E.I., Ostanin A.A., Chernykh E.R., Kolchanov N.A., Bogachev S.S. Eradication of Krebs-2 primary ascites via a single-injection regimen of cyclophosphamide and double-stranded DNA. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(5):716-722. DOI 10.18699/VJ16.161

В предыдущих статьях представленного цикла исследований были приведены результаты двух основополагающих экспериментов. В первом эксперименте мышам с развитым асцитом через 18 ч после введения циклофосфана (ЦФ) инъекцировали препарат двуцепочечной ДНК (дцДНК) человека однократно, и обработанный таким образом асцит перевивали интактным мышам в количестве $0,3 \times 10^6$ клеток в виде солидных внутримышечных трансплантатов (Dolgova et al., 2014; Поттер и др., 2016а, рис. 2, в2). В результате эксперимента у трех из пяти мышей внутримышечный трансплантат не прижился.

Во втором эксперименте мышам-асцитоносам вводили нативную ДНК человека (hDNA) в режиме 1–18 ч и смесь нативной и модифицированной ДНК лосося (ssDNA/ICL-ssDNA mix) в режиме 18–30 ч после инъекции ЦФ (Поттер и др., 2016б, рис. 4, б). В этом случае у всей группы мышей на 3-и сутки после первой инъекции ЦФ (7-е сутки после прививки) первичный асцит резорбировался. Время ремиссии у 100 % животных составило 9 суток. Развившийся вторичный асцит имел геморрагические характеристики. Патоморфологический анализ мышей с развитым вторичным асцитом, забитых в агонистической стадии болезни, показал, что у мышей, длительно обрабатываемых дцДНК, была индуцирована системная воспалительная реакция (СВР), развившаяся в полиорганную недостаточность (ПОН). Одной из главных характеристик ПОН является катастрофическая эрозия кишечного эпителия и связанное с этим разрушение барьерной функции кишечника (Alyamkina et al., 2015; Поттер и др., 2016а, б).

Согласно этим фактам, а также данным, полученным в наших предыдущих работах (Dolgova et al., 2014; Поттер и др., 2016а), точка 18 ч после введения ЦФ является пограничной точкой, разделяющей две фазы процесса репарации межцепочечных швов (МЦС). До 18 ч идет и завершается стадия NER, а с 18 до 30 ч идет и завершается стадия гомологичной рекомбинации (ГР). Нативная дцДНК человека интерферирует NER, тогда как «исковерканная» ICL-ssDNA интерферирует стадию ГР. Однократная инъекция ДНК в точку 18 ч после введения ЦФ может полностью разрушить перевивочный потенциал солидного трансплантата (Dolgova et al., 2014; Поттер

и др., 2016а, рис. 2, в2). На основании этих фактов была разработана компиляция, которую можно сформулировать следующим образом. Если через 18 ч после введения ЦФ ввести препарат дцДНК, состоящий из смеси нативной hDNA и ssDNAmix в определенной пропорции, то фрагменты нативной ДНК будут губительно для стволовых иницирующих раковых клеток (СИРК) интерферировать конечные этапы NER, а «исковерканные» фрагменты ДНК спермы лосося будут губительно для СИРК интерферировать начальные этапы ГР. Таким образом можно полностью перекрыть все возможности для СИРК корректно завершить репарацию МЦС или изменить их раковый статус и тем самым элиминировать из асцита опухолевое начало опухоли. Повторение аналогичной процедуры в фазу клеточного цикла (через 36 ч после первой инъекции ЦФ), когда остаточные раковые клетки, находившиеся при первой обработке в нечувствительной для них фазе клеточного цикла (G2-M), будут доступными (в следующей по порядку после первой обработки фазе G1-S) для действия препаратов и одновременно произойдет повторное запираение в S-фазе готовящихся выйти из нее клеток первой очереди воздействия, позволит окончательно завершить деструкцию раковых клеток, свободно расположенных в асцитном бульоне. Трехкратное повторение такой процедуры с большой долей вероятности охватит всю популяцию СИРК и должно привести к полной потере графтом опухолевого потенциала, что проявится в резорбции первичного асцита, как это показано для режима многократных инъекций препаратов ДНК.

Материалы и методы

Подробная информация об экспериментальных животных, опухолевой модели, получении препарата ДНК человека и лосося (препарат ДНК лосося выделяли аналогичным образом из молок лосося), подготовке кросс-линкированного нитроген-мустардом препарата ДНК представлена в статье (Alyamkina et al., 2015).

Методы статистической обработки данных описаны в статье (Поттер и др., 2016а). Методики введения препаратов циклофосфана, экзогенной ДНК и антибиотика гентамицина, активации адаптивного иммунитета, пересадки клеток костного мозга, оценки ремиссии асцитной опухоли Кребс-2 детально изложены в работе (Поттер и др., 2016б).

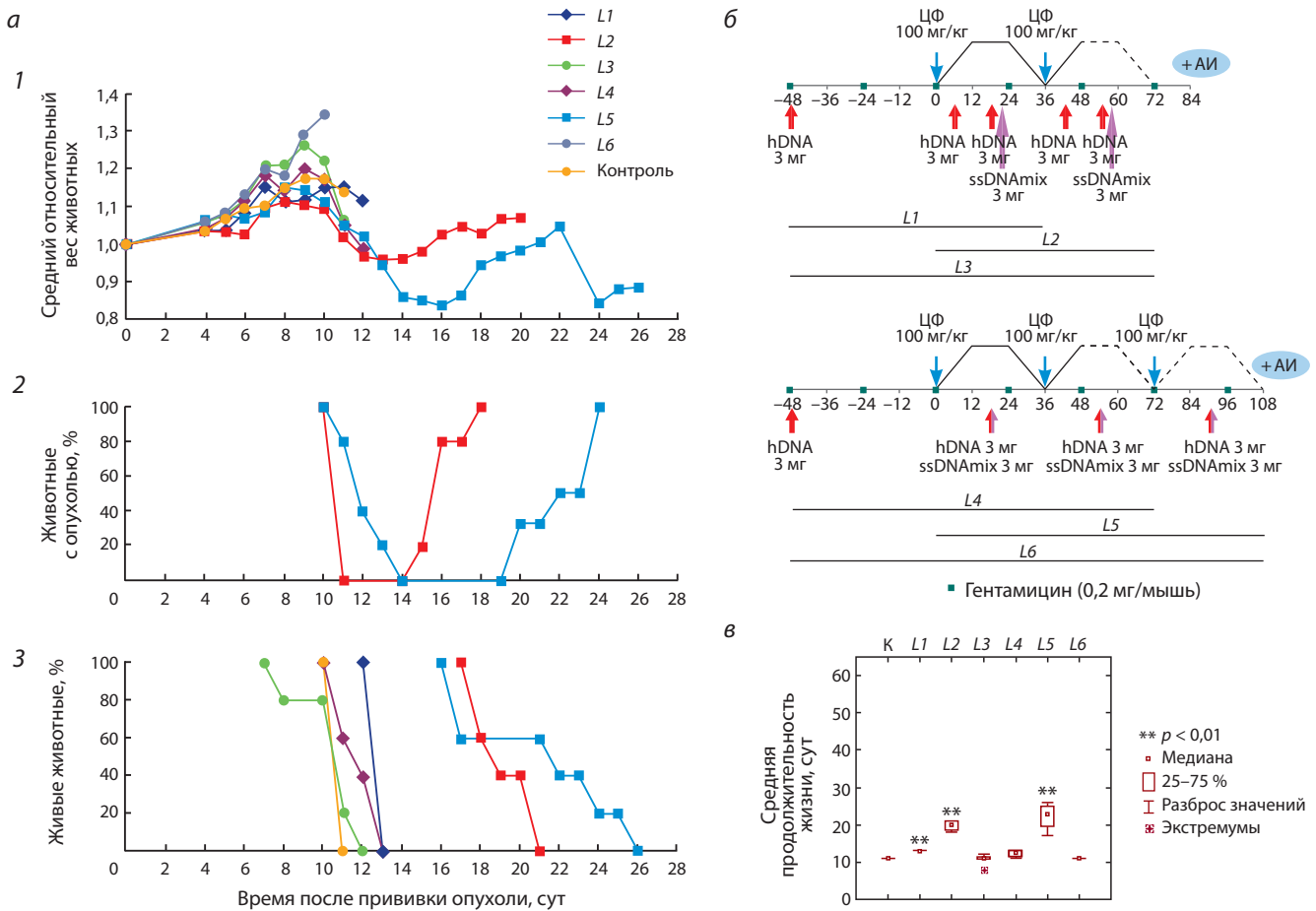


Рис. 1. Анализ синергического действия цитостатика ЦФ и препаратов дцДНК человека (hDNA) и лосося (ssDNAmix) на асцитную форму развита опухоли Кребс-2 (I) совместно с применением дополнительного терапевтического режима – активации адаптивного иммунитета (АИ), по (Alyamkina et al., 2009, 2010a–c).

а – состояние экспериментальных животных: 1 – изменение веса (значение в каждой точке нормировано на значение в момент начала эксперимента), 2 – динамика регрессии асцита в экспериментальных группах, 3 – динамика гибели животных; б – схемы терапевтических инъекций для групп L1–L6, линии под схемами обозначают границы проводимой терапии для каждой группы; в – средняя продолжительность жизни животных в группах, оценена при помощи U-критерия Вилкоксона–Манна–Уитни (K – контроль).

Результаты

Для оценки эффективности воздействия на асцит Кребс-2 режима единичной инъекции комплексной дцДНК через 18 ч после введения ЦФ и повтора процедуры еще два раза, были проведены три эксперимента, в которых анализировалось состояние обработанных мышей-асцитоносов на протяжении времени эксперимента. В проведенной серии экспериментов охарактеризован также режим, в котором оценивали терапевтическое действие препарата дцДНК при его введении в различные временные интервалы до инъекции ЦФ. Дополнительно охарактеризована группа, в которой введение двух препаратов ДНК было разнесено по времени. Первоначально вводили hDNA (18 ч после введения ЦФ), а затем ICL-ssDNA (21 ч после введения ЦФ). Также оценивался режим «наложенных на зону ремиссии обработок, аналогичных первой», проведенной в середине временного отрезка ремиссии, которая приводила к полному исчезновению асцита. Все схемы были дополнены введением антибиотика гентамицина для купирования бактериального заражения животных.

В некоторых схемах дополнительно выполнена активация адаптивного иммунитета (АИ) (Alyamkina et al., 2010a–c) и трансплантация клеток костного мозга (ККМ). Результаты экспериментов представлены на рис. 1–3.

Для основного режима «ЦФ+ДНК через 18 ч» трехкратно в 0, 36 и 72 ч на 4-е сутки от перевивки асцита получены следующие основные результаты. Четырехсуточный асцит продолжал расти и увеличиваться в объеме до 10–12 суток после введения ЦФ либо останавливался в росте через 1–2 суток после обработки (см. рис. 1, a1 и рис. 2, a1). Далее наблюдался синхронный, катастрофически быстрый уход асцитной жидкости у всей группы экспериментальных животных. Одновременно уменьшался вес животных (в среднем по 1,5–2 г в сутки) и формировались «рубцы беременности». Мыши имели внешний вид животных с полным отсутствием асцита. Вторичный асцит развивался в 100 % случаев через 5–7 дней после полной ремиссии у всей группы животных (см. рис. 1, a2 и рис. 2, a2, кривые L4, L6). Его объем и внешний вид значительно отличались от первичного ас-

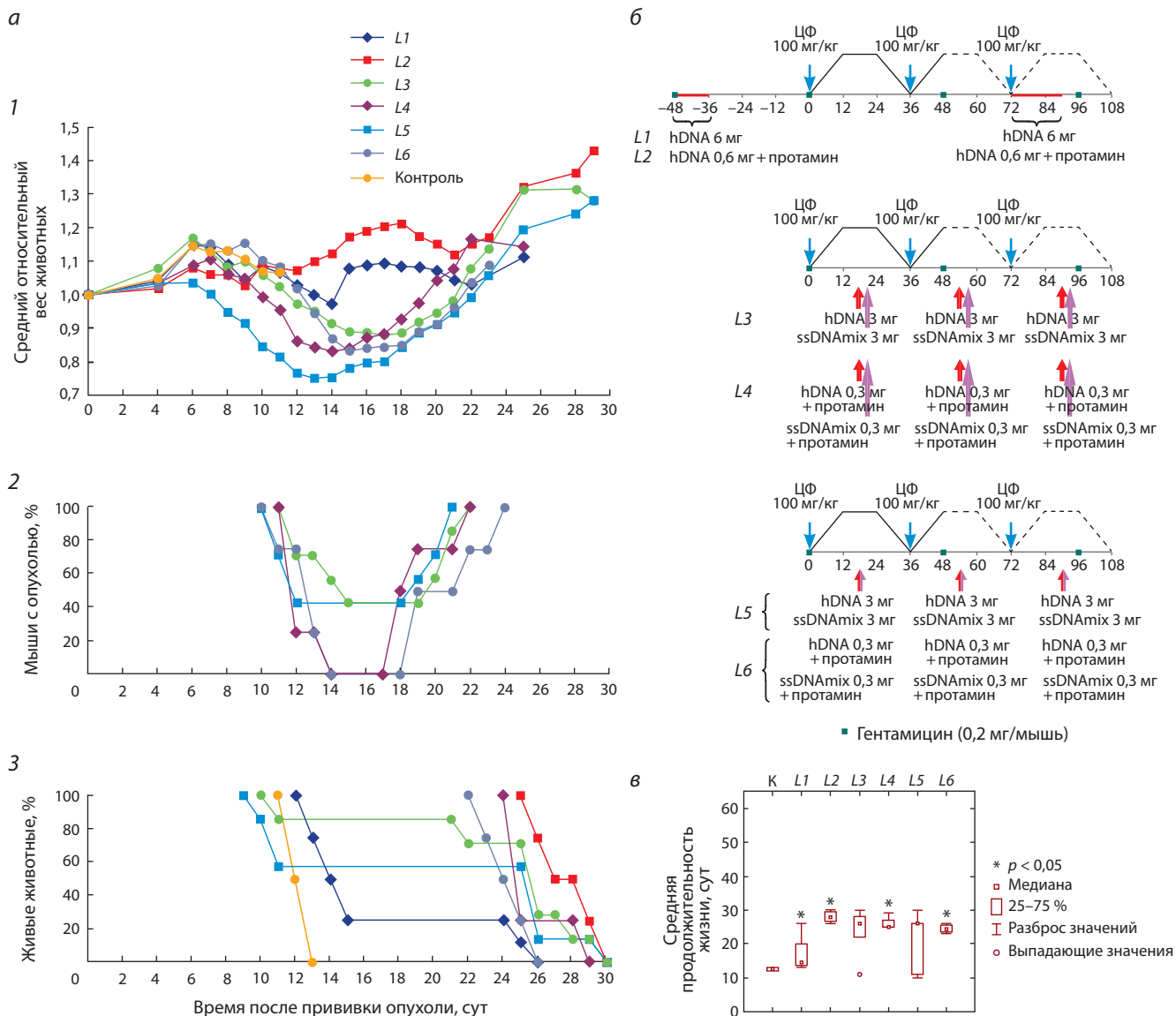


Рис. 2. Анализ синергического действия цитостатика ЦФ и препаратов дцДНК человека (hDNA) и лосося (ssDNAmix) на асцитную форму развитой опухоли Krebs-2 (II).

а – состояние экспериментальных животных: 1 – изменение веса (значение в каждой точке нормировано на значение в момент начала эксперимента), 2 – динамика регрессии асцита в экспериментальных группах, 3 – динамика гибели животных; б – схемы терапевтических инъекций для групп L1–L6; в – средняя продолжительность жизни животных в группах, оценена при помощи U-критерия Вилкоксона–Манна–Уитни (К – контроль).

цита. Вторичный асцит носил признаки геморрагического разложения. Дополнительно в группе с аналогичной обработкой использовался в качестве протектора ДНК белок протамин. Оказалось, что для достижения одинакового терапевтического эффекта при использовании протамина требуется в 10 раз меньшее количество препарата дцДНК (см. рис. 2, а, б, кривые L2, L4, L6).

В проведенных экспериментах параллельно с основным терапевтическим режимом нами протестированы режимы введения препарата дцДНК до обработки ЦФ (см. рис. 1, а, б, кривые L1, L3, L4, L6; рис. 2, а, б, кривые L1, L2) и режим разнесенного во времени введения двух составляющих комбинированной формы ДНК (см. рис. 1, а, б, кривые L1–L3, рис. 2, а, б, кривые L3, L4). Также опробо-

ван режим инъекций препарата ДНК человека каждые два часа после третьей инъекции цитостатика (см. рис. 2, а, б, кривые L1, L2). Полученные результаты позволили констатировать, что режимы предварительного введения комбинированной ДНК и введения двух составляющих комбинированной формы ДНК, разнесенного во времени, в определенных комбинациях имеют достоверный противораковый эффект по сравнению с контролем (см. рис. 1, а, б, кривые L1, L2; рис. 2, а, б, кривые L1, L2, L4).

Дополнительно были разработаны и проведены эксперименты, в которых использовался подход наложения на зону ремиссии повторных обработок в режиме «ЦФ+ДНК через 18 ч» на 11-е сутки после первой инъекции ЦФ (на 15-е сутки после прививки асцита). Доза цитостатика при

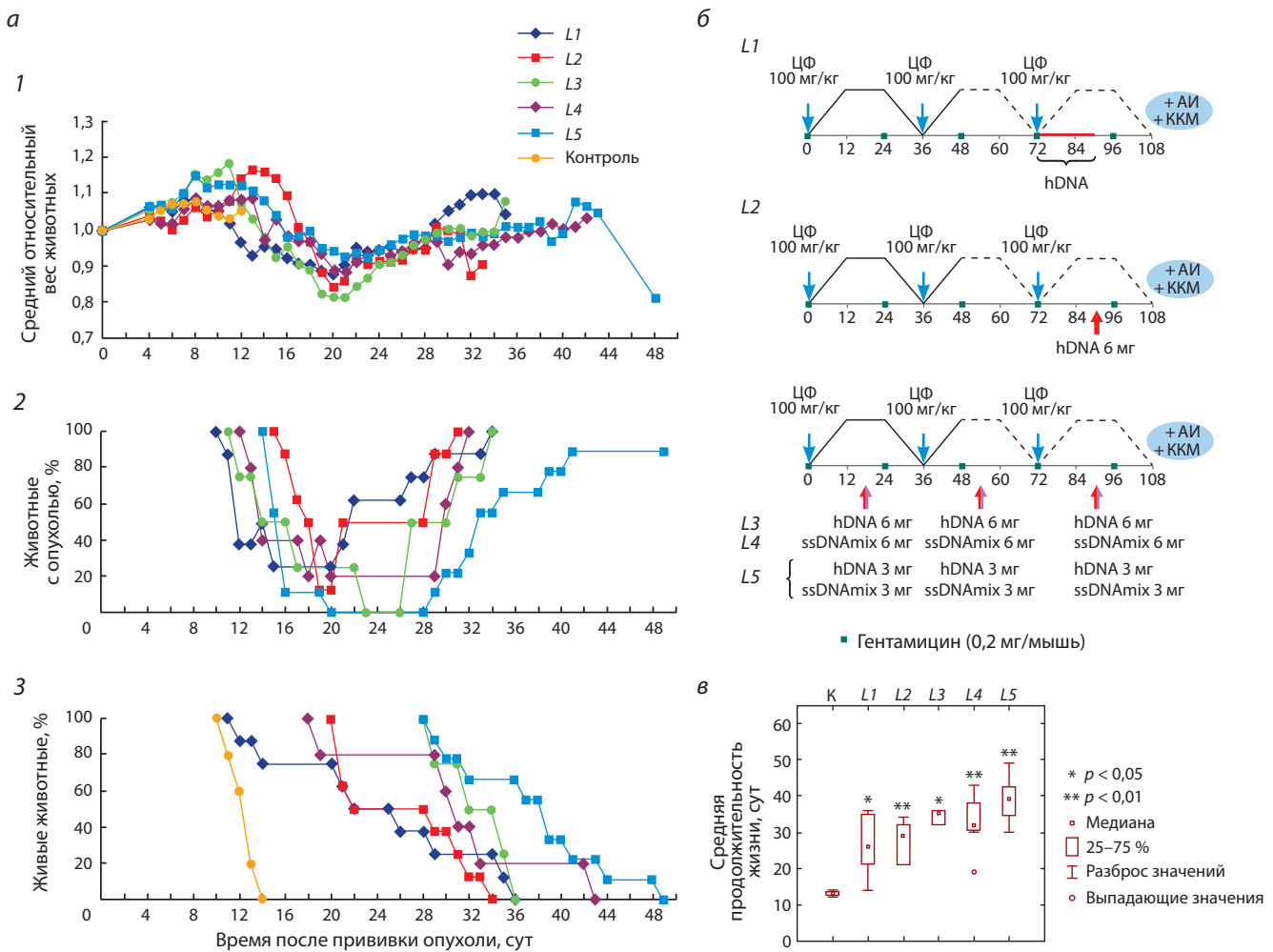


Рис. 3. Анализ синергического действия цитостатика ЦФ и препаратов дцДНК человека (hDNA) и лосося (ssDNAmix) на асцитную форму развитой опухоли Кребс-2 (III) совместно с применением дополнительных терапевтических режимов – активации АИ (Alyamkina et al., 2009, 2010a–c) и трансплантации ККМ через 15 дней после прививки опухоли (500 тыс. кл./мышь).

а – состояние экспериментальных животных: 1 – изменение веса (значение в каждой точке нормировано на значение в момент начала эксперимента), 2 – динамика регрессии асцита в экспериментальных группах, 3 – динамика гибели животных; б – схемы терапевтических инъекций для групп L1–L5; в – средняя продолжительность жизни животных в группах, оценена при помощи U-критерия Вилкоксона–Манна–Уитни (К – контроль).

повторной обработке была уменьшена со 100 до 50 мг/кг. Результаты экспериментов представлены на рис. 3 и 4.

Оказалось, что при таком экспериментальном решении участок ремиссии, обнаруженный в первых экспериментах, был смещен в сторону от инъекции ЦФ на 6–10 суток в отличие от основного режима («ЦФ + ДНК через 18 ч», повторенный трижды с интервалом 36 ч между инъекциями ЦФ) и продолжался 8 суток в отличие от 5-ти для основного режима. Мыши погибли в 100 % случаев. Асцит носил признаки геморрагического разложения.

Обсуждение

В более ранних статьях (Поттер и др., 2016а, б) и в настоящем исследовании были проведены многочисленные эксперименты по характеристике наиболее эффективных режимов терапии экспериментальных мышей, несущих асцитный трансплантат Кребс-2, препаратами дцДНК в синергизме с цитостатиком ЦФ. Получены результаты,

свидетельствующие о вылечивании мышей от первичного ракового асцита. Наиболее эффективный режим, приводящий к элиминации первичного асцита, состоял из трех инъекций цитостатика ЦФ с интервалом 36 ч (в конечные точки каждого репаративного цикла) и дополнительных инъекций сложного композиционного препарата дцДНК через 18 ч после каждой инъекции ЦФ (в точку демаркации двух фаз – NER и ГР репарации МЦС, индуцированных ЦФ).

Однако через 5–9 дней полной ремиссии у всей группы животных, излечившихся от первичного асцита, формировался вторичный асцит. Его развитие сопровождалось характерным симптомокомплексом, описанным в наших предыдущих работах (Alyamkina et al., 2015; Поттер и др., 2016б), и мыши погибали. Вторичный асцит имел другие клеточные характеристики и никогда не развивался до размеров первичного ракового асцита. Результаты патоморфологического анализа органов и тканей мышей

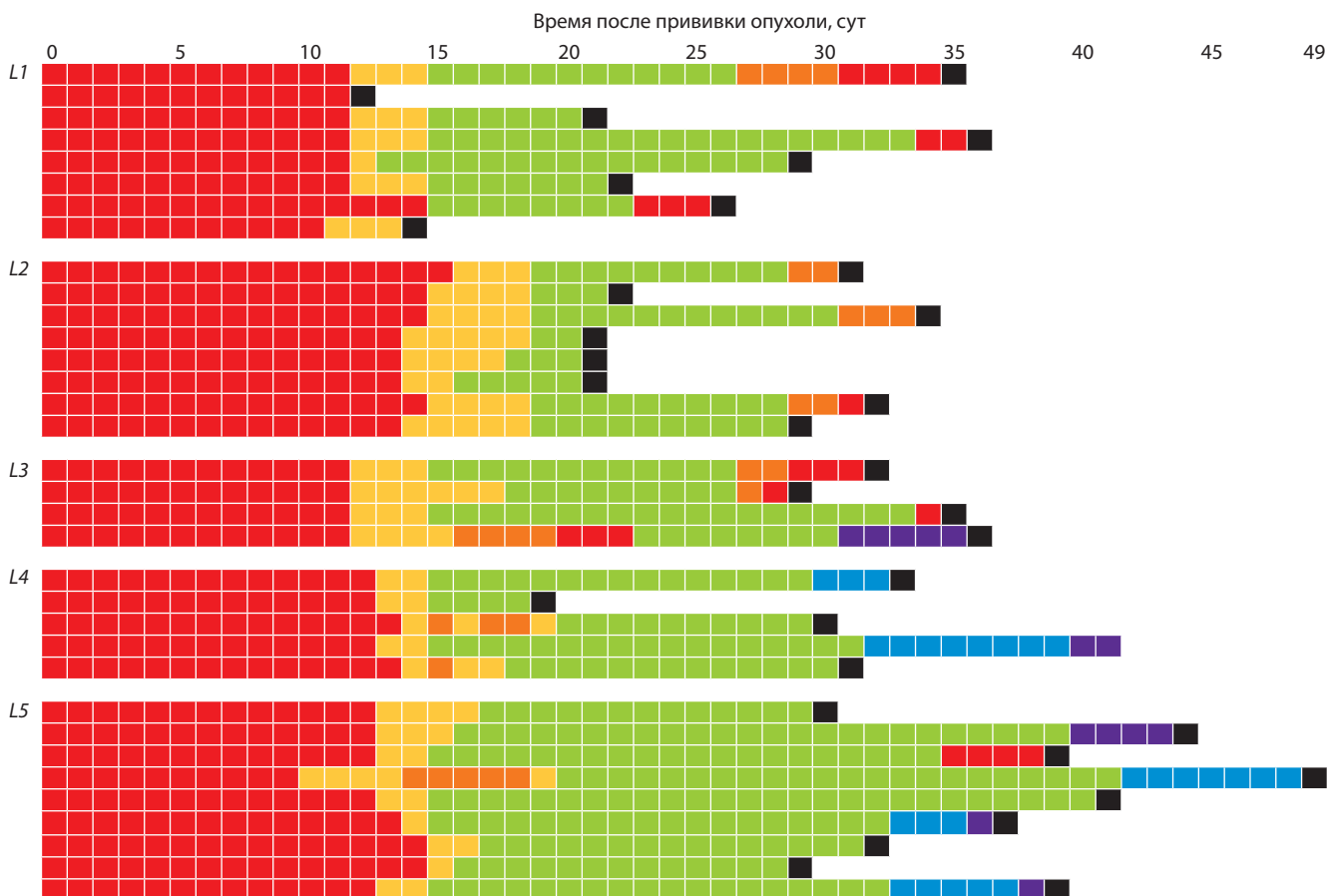


Рис. 4. Динамика развития асцитной опухоли Krebs-2 в экспериментальных группах животных.

Красный цвет – развитый асцит, желтый – уменьшение асцита, зеленый – отсутствие опухоли, оранжевый – повторный рост асцитной опухоли, синий – без асцита с солидной опухолью, фиолетовый – с асцитом и солидной опухолью, черный цвет – гибель животного. Группы L1–L5 соответствуют схемам на рис. 3, 6.

в агонистической фазе симптомокомплекса (Alyamkina et al., 2015; Поттер и др., 2016) свидетельствовали о том, что в организме животных развивается полиорганная недостаточность (ПОН). По-видимому, именно разрушение основных функциональных систем организма является конечной причиной гибели животных.

В современной экспериментальной и клинической практике известно такое понятие, как метрономная терапия (Scharovsky et al., 2009). В основном этот подход используется для удаления Трег-лимфоцитов. Метрономность, или частая обработка небольшими дозами, может иметь следующий принципиальный смысл: появляется большая вероятность попадания в один из неопределенных (физиологических, молекулярных или временных) причинных факторов симптома. Повторяемость такого случайного, но обязательного попадания становится определяющим фактором успешной терапии заболевания. Принцип «часто, но помалу, и обязательно попадешь» является принципиальным в разрабатываемом нами подходе в терапии экспериментального рака Krebs-2. В этой связи первоначально используемый нами подход с применением многократных инъекций препарата ДНК в течение одного репаративного цикла можно было классифицировать как метрономную обработку экспериментальных мышей.

Результаты исследований показали, что метрономность воздействия в экспериментах в своей основе связана с неопределенностью мишени воздействия проводимой терапии.

Глубокий анализ, проведенный нами по всей совокупности результатов исследований, позволяет предполагать, что в терапии опухоли Krebs-2 существуют несколько принципиальных моментов, опирающихся на биологические явления, найденные в лаборатории и составляющие основу разрабатываемого терапевтического подхода, который на первых этапах генеза можно было рассматривать как удачную метрономную терапию. Найденные принципиальные факторы и их применение объединяются в следующую стратегию воздействия на асцитную опухоль на примере экспериментальной опухоли Krebs-2.

Базовые феномены

1. СИРК интернализируют фрагменты дцДНК (Dolgova et al., 2014);
2. Фрагменты дцДНК, доставленные во внутриклеточное пространство СИРК, при репарации МЦС интерферируют процесс таким образом, что СИРК или погибают, или лишаются своего опухолевого статуса (Dolgova et al., 2014).

Основные факторы успешной терапии первичного асцита Кребс-2

1. Повторяемость инъекций ЦФ. Первые три инъекции ЦФ одна за другой уменьшают количество клеток, остающихся не подверженными воздействию ЦФ. Каждый раз при введении ЦФ через 36 ч после предыдущей инъекции новая обработка попадает на время, когда часть популяции интернализирующих TAMRA-меченый ДНК-зонд клеток, находившихся в G2-M-фазе клеточного цикла и не чувствительных к ЦФ, переходит в G1-S-фазу и становится чувствительной к обработке цитостатиком. Одновременно повторная обработка запирает уже обработанные асцитные клетки в той же S-фазе (Поттер и др., 2016б).
2. При добавлении в реакцию сложнокомпонентной ДНК (hDNA + ssDNAmix) в точку демаркации NER и ГР (через 18 ч после каждой инъекции ЦФ) происходит одновременная интерференция репаративного процесса по двум векторам – NER и ГР. В ходе трех обработок подавляющая часть популяции СИРК погибает, опухоль в значительной степени теряет туморогенное начало (настоящее исследование).
3. Композиция ДНК при ассоциации с протамином понижает терапевтическую дозу препарата в 10 раз и снижает токсический эффект обработки, что проявляется в снижении частоты возникновения симптомов ПОН у экспериментальных мышей (Долгова и др., 2009; настоящее исследование).
4. В схемах применения эффективного режима в обязательном порядке должны присутствовать антибиотиковая терапия на протяжении всего времени лечения, а также особая диета, используемая при лечении сепсиса (Peshkova et al., 2015).
5. Для купирования последствий масштабного одновременного разрушения асцитных раковых клеток необходимо проводить предлагаемые в пунктах 1, 2, 6 терапевтические процедуры при развитии асцита, характеризующегося объемом 1/10 от веса тела мыши, в котором содержится 200–300 млн асцитных раковых клеток (Поттер и др., 2016а).
6. Доза единичной инъекции вводимого сложнокомпонентного препарата ДНК должна составлять 6 мг препарата на мышь (настоящее исследование).

Благодарности

Работа выполнена в рамках государственного задания (проект № 0324-2015-0003) и поддержана грантом РФФИ (№ 16-34-00191).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Долгова Е.В., Рогачев В.А., Николин В.П., Попова Н.А., Лихачева А.С., Алямкина Е.А., Себелева Т.Е., Черных Е.Р., Гельфгат Е.Л., Богачев С.С., Шурдов М.А. Лейкостимулирующее действие фрагментов экзогенной ДНК, защищенных протамином, при вызванной циклофосфаном миелосупрессии мышей. *Вопр. онкологии*. 2009;55(6):761-764.
- Поттер Е.А., Долгова Е.В., Минкевич А.М., Ефремов Я.Р., Таранов О.С., Омигов В.В., Николин В.П., Попова Н.А., Проскурина

- на А.С., Верещагин Е.И., Козел А.В., Рогачев В.А., Петров Д.Б., Останин А.А., Черных Е.Р., Колчанов Н.А., Богачев С.С. Терапевтические эффекты воздействия циклофосфана, препаратов двуцепочечной ДНК и их сочетания на раковые клетки асцита Кребс-2 и различные формы трансплантатов. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016а;20(1):96-107. DOI 10.18699/VJ15.116.
- Поттер Е.А., Долгова Е.В., Минкевич А.М., Николин В.П., Попова Н.А., Ефремов Я.Р., Байбородин С.И., Рогачев В.А., Проскурина А.С., Козел А.В., Таранов О.С., Омигов В.В., Верещагин Е.И., Петров Д.Б., Останин А.А., Черных Е.Р., Колчанов Н.А., Богачев С.С. Характеристика режимов терапевтического воздействия циклофосфана и препаратов двуцепочечной ДНК на опухоль Кребс-2, растущую в асцитной форме, приводящих к эрадикации первичного асцита. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2016б;20(1):108-124. DOI 10.18699/VJ15.117.
- Alyamkina E.A., Dolgova E.V., Likhacheva A.S., Rogachev V.A., Sebeleva T.E., Nikolin V.P., Popova N.A., Orishchenko K.E., Strunkin D.N., Chernykh E.R., Zagrebelniy S.N., Bogachev S.S., Shurdov M.A. Combined therapy with cyclophosphamide and DNA preparation inhibits the tumor growth in mice. *Genet Vaccines Ther*. 2009;7(1):12. DOI 10.1186/1479-0556-7-12.
- Alyamkina E.A., Dolgova E.V., Likhacheva A.S., Rogachev V.A., Sebeleva T.E., Nikolin V.P., Popova N.A., Kiseleva E.V., Orishchenko K.E., Sakhno L.V., Gel'fgat E.L., Ostanin A.A., Chernykh E.R., Zagrebelniy S.N., Bogachev S.S., Shurdov M.A. Exogenous allogenic fragmented double-stranded DNA is internalized into human dendritic cells and enhances their allostimulatory activity. *Cell. Immunol*. 2010a;262(2):120-126.
- Alyamkina E.A., Leplina O.Y., Sakhno L.V., Chernykh E.R., Ostanin A.A., Efremov Y.R., Shilov A.G., Proskurina A.S., Orishchenko K.E., Dolgova E.V., Rogachev V.A., Nikolin V.P., Popova N.A., Zagrebelniy S.N., Bogachev S.S., Shurdov M.A. Effect of double-stranded DNA on maturation of dendritic cells *in vitro*. *Cell. Immunol*. 2010b;266(1):46-51.
- Alyamkina E.A., Nikolin V.P., Popova N.A., Dolgova E.V., Proskurina A.S., Orishchenko K.E., Efremov Y.R., Chernykh E.R., Ostanin A.A., Sidorov S.V., Ponomarenko D.M., Zagrebelniy S.N., Bogachev S.S., Shurdov M.A. A strategy of tumor treatment in mice with doxorubicin-cyclophosphamide combination based on dendritic cell activation by human double-stranded DNA preparation. *Genet. Vaccines Ther*. 2010c;8:7. DOI 10.1186/1479-0556-8-7.
- Alyamkina E.A., Nikolin V.P., Popova N.A., Minkevich A.M., Kozel A.V., Dolgova E.V., Efremov Y.R., Bayborodin S.I., Andrushkevich O.M., Taranov O.S., Omigov V.V., Rogachev V.A., Proskurina A.S., Vereschagin E.I., Kiseleva E.V., Zhukova M.V., Ostanin A.A., Chernykh E.R., Bogachev S.S., Shurdov M.A. Combination of cyclophosphamide and double-stranded DNA demonstrates synergistic toxicity against established xenografts. *Cancer Cell Int*. 2015;15:32. DOI 10.1186/s12935-015-0180-6.
- Dolgova E.V., Alyamkina E.A., Efremov Y.R., Nikolin V.P., Popova N.A., Tyrinova T.V., Kozel A.V., Minkevich A.M., Andrushkevich O.M., Zavyalov E.L., Romaschenko A.V., Bayborodin S.I., Taranov O.S., Omigov V.V., Shevela E.Y., Stupak V.V., Mishinov S.V., Rogachev V.A., Proskurina A.S., Mayorov V.I., Shurdov M.A., Ostanin A.A., Chernykh E.R., Bogachev S.S. Identification of cancer stem cells and a strategy for their elimination. *Cancer Biol. Ther*. 2014;15(10):1378-1394. DOI 10.4161/cbt.29854.
- Peshkova I.V., Bogachev S.S., Drobyazgin E.A., Chikinev Y.V., Mitrofanov I.M., Piontkovskaya K.A., Vereschagin E.I. Effect of glutamine on the nucleic acids exchange during the perioperative period in reconstructive esophagus surgery. *J. Nutr. Health Food Eng*. 2015;2(4):00058. DOI 10.15406/jnhfe.2015.02.00058.
- Scharovsky O.G., Mainetti L.E., Rozados V.R. Metronomic chemotherapy: changing the paradigm that more is better. *Curr. Oncol*. 2009;16(2):7-15.