© **Коллектив авторов**, 2013 **УДК** 615.33:615.277.3].03:616-006.81

ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ИОНОФОРНОГО АНТИБИОТИКА САЛИНОМИЦИНА И ЕГО КОМБИНАЦИИ С ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМИ ПРЕПАРАТАМИ В ОТНОШЕНИИ КЛЕТОК МЕЛАНОМЫ

Е.Ю. Москалева, доктор биологических наук, профессор, **И.Г. Кондрашева**, кандидат биологических наук, **О.Н. Попова**, **Ю.П. Семочкина**, **А.М. Шмаргун**, **С.Е. Северин**, доктор химических наук, член-корреспондент РАМН

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

E-mail: moskalevaey@mail.ru

Салиномицин относится к группе полиэфирных антибиотиков, обладающих ионофорной активностью. В настоящее время салиномицин рассматривается как потенциальный противоопухолевый препарат. Целью настоящей работы явилось исследование цитотоксической активности салиномицина в отношении MDR1+ (Mel-8) и MDR1- (Mel-10)-клеток меланомы человека и клеток, формирующих побочную популяцию (SP), и способности салиномицина сенсибилизировать клетки меланомы к действию противоопухолевых препаратов доксорубицина и дакарбазина. Показано, что и MDR1+- и MDR1-клетки меланомы чувствительны к салиномицину. Салиномицин действует в клетках меланомы как ингибитор белка PgP и, возможно, как ингибитор некоторых других ABC-транспортеров. Он ингибирует накопление митоксантрона, доксорубицина и родамина-123 не только в MDR1+-, но и в MDR1-клетках меланомы и снижает размер фракции клеток меланомы, образующих SP. Кроме того, этот препарат сенсибилизирует клетки меланомы человека к действию доксорубицина и дакарбазина при его добавлении к клеткам за 24 ч перед применением этих препаратов.

Ключевые слова: салиномицин, меланома, MDR1, родамин-123, SP, опухолевые стволовые клетки, сенсибилизация, доксорубицин, дакарбазин

CYTOTOXIC ACTIVITY OF THE IONOPHORE ANTIBIOTIC SALINOMYCIN
AND ITS COMBINATION WITH ANTICANCER PREPARATIONS AGAINST HUMAN MELANOMA CELLS
E. Yu. Moskaleva, I.G. Kondrasheva, O.N. Popova, Yu.P. Semochkina, A.M. Shmargun, S.E. Severin
National Research Centre «Kurchatov Institute», Moscow, Russian Federation

Salinomycin is referred to the group of the polyether antibiotics with ionophore activity. Currently salinomycin is considered as a potential anticancer drug. The aim of this work was to investigate the cytotoxic activity of salinomycin against MDR1+ (Mel-8) and MDR1- (Mel-10) of human melanoma cells and cells that form the side population (SP), and the ability of salinomycin to sensitize melanoma cells to the action of such anticancer drugs as doxorubicin and dacarbazine. MDR1+ and MDR1- melanoma cells were shown to be sensitive to salinomycin. Salinomycin acts in melanoma cells as an inhibitor of protein PgP and possibly as an inhibitor of some other ABC-transporters. It inhibits the accumulation of mitoxantrone, doxorubicin, and rhodamine-123 not only in MDR1+, but in the MDR1- melanoma cells reduces the size of the fraction of melanoma cells that form the SP. In addition, the drug sensitizes human melanoma cells to the action of doxorubicin and dacarbazine when it was added to the cells for 24 hours prior to the addition of these drugs.

Key words: salinomycin, melanoma, MDR1, rhodamine-123, SP, cancer stem cells, sensitization, doxorubicin, dacarbazine

введение

Меланома относится к опухолям, устойчивым к широкому спектру противоопухолевых препаратов и к действию ионизирующего излучения [1]. Одним из основных факторов, определяющих множественную лекарственную устойчивость опухолевых клеток, является высокий уровень экспрессии генов различных белков семейства АВС-транспортеров, которые обеспечивают выброс цитотоксических лекарств из клеток [6, 12]. В различных меланомах обнаружены такие белки этого семейства, как MDR1

(Multidrug resistance protein 1, или ABCB1), различные типы белков MRP (Multidrug-related protein, или ABCC) [5, 19, 24], ABCG2 [20] и ABCB5 [8]. При этом в разных меланомах или в разных линиях клеток меланом лекарственная устойчивость может быть обусловлена разными или даже несколькими ABC-транспортерами, которые присутствуют во всех клетках опухоли.

Кроме того, лекарственная устойчивость опухолей может определяться особенностями не основной массы опухолевых клеток, а свойствами популяции опухолевых стволовых клеток (ОСК). Эти клетки характеризуются высокой устойчивостью к противоопухолевым препаратам, которая также определяется высоким уровнем экспрессии генов АВС-транспортеров [7], независимо от устойчивости клеток основной массы опухоли. Именно эти резистентные клетки выживают в процессе химиотерапии и в последующем обеспечивают рецидивирование и метастазирование опухолей.

Помимо некоторых противоопухолевых препаратов субстратами АВС-транспортеров являются также флюоресцентные красители Hoechst 33342 и родамин-123. После инкубации клеток с этими красителями ОСК при исследовании с помощью проточной цитофлуориметрии выявляются как популяция неокрашивающихся или слабо окрашивающихся клеток, которая получила по этому признаку название побочной (или боковой) популяции — side-population (SP). Способность стволовых клеток (СК) слабо включать красители и образовывать SP используют в качестве суррогатного маркера для выявления и нормальных СК, и ОСК [7, 11, 14, 26], хотя однозначно к ОСК такие клетки могут быть отнесены только после подтверждения их туморогенной способности в экспериментах на животных.

В настоящее время ведется активный поиск новых лекарственных препаратов, которые могли бы наиболее избирательно действовать не просто на опухолевые клетки, составляющие основную массу опухоли, но и на ОСК, или повышать чувствительность ОСК к действию противоопухолевых препаратов. Результаты исследований, выполненных в последние годы, позволяют полагать, что полиэфирный ионофорный антибиотик салиномицин обладает избирательной токсичностью в отношении ОСК [4, 13, 15]. Этот препарат обладает способностью снижать долю ОСК, проявлять активность ингибитора белка Рдр и благодаря этому обращать множественную лекарственную устойчивость опухолевых клеток человека. Противоопухолевая активность салиномицина обнаружена в отношении клеток рака молочной железы [13, 16, 25], предстательной железы [17], различных типов лейкоза [9, 10]. При этом нормальные лимфоциты [10] и нормальные клетки предстательной железы [17] были значительно более устойчивы к салиномицину, чем опухолевые клетки. Активность салиномицина в отношении клеток меланомы не изучена.

В связи с этим целью настоящей работы явилось исследование чувствительности клеток меланомы человека, в том числе клеток, характеризующихся множественной лекарственной устойчивостью, и клеток, формирующих SP, к салиномицину в сравнении с чувствительностью опухолевых клеток других типов, и способности салиномицина сенсибилизировать клетки меланомы к действию противоопухолевых препаратов доксорубицина и дакарбазина.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Культивирование клеток. Клетки перевиваемых линий меланомы человека Mel-8 и Mel-10, полученные из хирургических образцов, культивировали в полной культуральной среде, состоящей из смеси сред RPMI 1640 (Gibco, США) и DMEM (Gibco, США). Клетки аденокарциномы молочной железы исходной – MCF-7^{wt} и резистентной – MCF-7^{Adr}-линии культивировали в среде DMEM. Клетки аденокарциномы яичника человека линии SKOV3 (исходная линия) и SKVLB (резистентная) культивировали в пластиковых флаконах (Costar) в среде RPMI 1640 (Gibco, США). Все линии клеток культивировали с добавлением 10% сыворотки плодов крупного рогатого скота (СПК) (Gibco,США) и 50 мкг/мл гентамицина (ICN, США) в пластиковых культуральных флаконах (Corning-Costar) в CO₂инкубаторе при 37°C в увлажненной атмосфере (95%), содержащей 5% СО,.

Оценка выживаемости клеток при действии различных препаратов. Выживаемость клеток после инкубации с различными препаратами оценивали с помощью MTT-теста по методу Т. Mossmann [21]. Для этого клетки высевали в 96-луночные планшеты (Corning-Costar) по 4 тыс. клеток в лунку за сутки до внесения препаратов. Клетки культивировали в присутствии исследуемых препаратов в течение 72 ч. За 4 ч до окончания инкубации в каждую лунку добавляли по 50 мкл раствора МТТ (бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2ил)-2,5-дифенилтетразолия; Sigma, США) в концентрации 1 мг/мл в среде для культивирования клеток. После развития окраски среду удаляли, выпавшие кристаллы формазана растворяли в 100 мкл ДМСО и измеряли интенсивность окраски при 540 нм с помощью планшетного спектрофотометра. Выживаемость клеток оценивали в % от необработанного контроля и по кривым выживаемости рассчитывали значение ІС₅₀ - концентрацию препарата, при которой наблюдается гибель 50%

Исследование накопления флюоресцентного красителя родамина-123 (Rho-123) клетками меланомы человека проводили, как описано ранее [3]. Клетки снимали с подложки, центрифугировали; осадок ресуспендировали в теплой бессывороточной среде в концентрации 1 млн/мл. К суспензии клеток добавляли флюоресцентный краситель Rho-123 (концентрированный сток-раствор в ДМСО, 100 мкг/мл) до конечной концентрации 0,1 мкг/мл и инкубировали в течение 60 мин при 37°C на водяной бане, периодически помешивая. Для контроля аутофлюоресценции 1 мл суспензии клеток оставляли в среде без Rho-123. Для исключения популяции мертвых и погибающих клеток в пробу добавляли раствор йодида пропидия до конечной концентрации 2 мкг/мл непосредственно перед цитофлуориметрией. Флюоресценцию клеток измеряли с помощью проточного цитофлуориметра EPICS-XL при 2 длинах волн в красной и зеленой областях спектра, при длине волны возбуждения 488 нм и полосой пропускания для зеленой области спектра — 525 нм (FL1), а для красной — 620 нм (FL3). Для получения достоверных данных анализировали по 50 тыс. клеток на

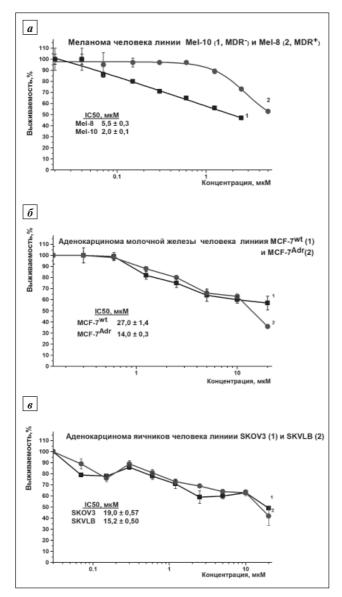


Рис. 1. Зависимость выживаемости клеток меланомы человека (а) линии Mel-10 (1, $MDR1^-$) и Mel-8 (2, $MDR1^+$) от концентрации салиномицина в сравнении с выживаемостью клеток аденокарциномы молочной железы (б) линии $MCF-7^{hd}$ (1, $MDR1^-$) и ее резистентной сублинии $MCF-7^{hdr}$ (2, $MDR1^+$) и аденокарциномы яичников человека (в) линии SKOV3 (1, $MDR1^-$) и ее резистентной сублинии SKVLB (2, $MDR1^+$). По оси абсцисс — концентрация салиномицина, $MR1^-$ 0 оси ординат — выживаемость клеток, % от контроля. Данные 1 из 3 типичных экспериментов

пробу. Область SP выявляли как область неокрашивающихся или очень слабо окрашенных клеток; размер этой фракции клеток выражали в % от общего количества.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием компьютерной программы «Origin».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Противомеланомную активность салиномицина исследовали в отношении клеток 2 линий меланомы человека – Mel-8 и Mel-10 – с разным уровнем белка MDR1 на клеточной мембране, так как известно, что салиномицин является и субстратом [18], и ингибитором активности этого белка [9, 23]. В клетках меланомы линии Mel-8 обнаружен высокий уровень белка MDR1, в то время как на мембране клеток меланомы линии Mel-10 этот белок практически отсутствует [2]. Противомеланомную активность салиномицина сравнивали с его активностью в отношении опухолевых клеток других типов – аденокарциномы молочной железы линии MCF-7^{wt} и ее резистентной сублинии MCF-7^{Adr} и аденокарциномы яичников человека линий SKOV3 (исходная линия) и SKVLB (ее резистентная сублиния). Резистентные сублинии этих аденокарцином получены при селекции клеток по устойчивости к доксорубицину и характеризуются высоким уровнем белка MDR1 на поверхности клеточной мембраны соответственно.

Долю выживших опухолевых клеток определяли через 72 ч культивирования после добавления соответствующей концентрации салиномицина. Чувствительность клеток разных линий к препарату оценивали по величине IC_{50} – концентрации, вызывающей гибель 50% клеток через 72 ч инкубации. Полученные результаты представлены на рис. 1, а-в. Из представленных данных следует, что салиномицин эффективен в отношении исследованных типов опухолевых клеток человека. Показано, что обе линии меланом были более чувствительны к действию салиномицина, чем клетки аденокарциномы молочной железы и яичников человека. При этом MDR1⁺-линия меланомы человека Mel-8 оказалась несколько более устойчивой к действию этого препарата, чем линия MDR1 Mel-10 (рис. 1, а). В то же время более высокая устойчивость к салиномицину клеток линии Mel-8, по-видимому, определяется не присутствием белка MDR1 на поверхностной мембране этих клеток, а иными факторами, так как клетки и аденокарциномы молочной железы линии MCF7^{Adr} (рис. 1, б) и яичника линии SKVLB (рис. 1, в), характеризующиеся более высоким уровнем белка MDR1, чем клетки исходных линий MCF7^{wt} и SKOV3 соответственно, были даже более чувствительны к действию салиномицина.

Для оценки влияния салиномицина на активность ABC-транспортеров в разных субпопуляциях клеток меланомы человека с помощью проточной цитофлуориметрии исследовали накопление родамина-123 клетками основной популяции и оценивали размер фракции клеток, не включающих родамин (SP), после предварительной инкубации клеток с салиномицином или неспецифическим ингиби-

тором ABC-транспортеров верапамилом. Полученные результаты представлены на рис. 2, а, б и прежде всего свидетельствуют о том, что и среди клеток линии Mel-8, и среди клеток линии Mel-10 при действии салиномицина очень существенно (в 4—5 раз) снижается доля опухолевых клеток, формирующих популяцию SP. Наблюдаемое при действии салиномицина снижение размера фракции SP оказалось более интенсивным, чем при действии верапамила.

Кроме того, при действии салиномицина существенно возрастает средняя интенсивность флюоресценции (MFI) основной популяции клеток с 266,7 до 771,3 усл. ед. для MDR1+-линии Mel-8 (рис. 2, a) и с 872,7 до 999,8 усл. ед. для MDR1⁻-клеток линии Mel-10 (рис. 2, б). Важно отметить, что салиномицин, в отличие от верапамила, усиливал накопление родамина-123 даже MDR1--клетками меланомы (см. рис. 2, б), что позволяет полагать, что этот препарат ингибирует действие не только транспортера АВСВ1, но и каких-то иных транспортеров, обеспечивающих выброс родамина в клетках линии Mel-10.

Поскольку эффективность выброса модельных красителей может отличаться от эффективности удаления конкретных химиотерапевтических препаратов, было исследовано влияние салиномицина на накопление в клетках меланом линии Mel-8 и Mel-10 таких флюоресцирующих противоопухолевых препаратов, как митоксантрон и доксорубицин. Полученные в этих экспериментах результаты представлены на рис. 3 а, б, из которых следует,

что в клетках линии Mel-8 в присутствии салиномицина за 1 ч инкубации возрастает накопление и митоксантрона, и доксорубицина (см. рис. 3, а), в то время как в клетках линии Mel-10 в этих условиях возрастало накопление только митоксантрона (см. рис. 3, б). Отсутствие усиления накопления доксорубицина в клетках линии Mel-10 при инкубации с салиномицином в течение 1 ч может быть связано

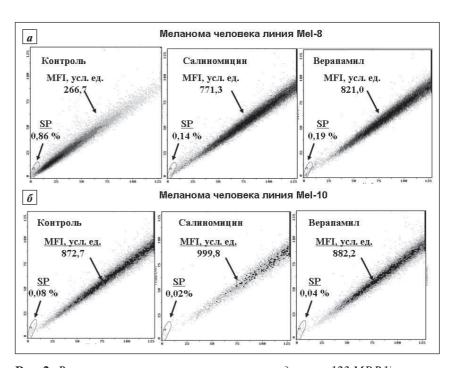


Рис. 2. Влияние салиномицина на накопление родамина-123 MDR1⁺ клет-ками меланомы человека линии Mel8 (a) и MDR1⁻-клетками линии Mel10 (б). Проточная цитофлуориметрия, данные 1 из 3 типичных экспериментов. По оси абсцисс — флюоресценция клеток в зеленой области спектра (FL1, усл. ед.); по оси ординат — флюоресценция клеток в красной области спектра (FL3, усл. ед.). Область SP выделена овалом. MFI — средняя интенсивность флюоресценции основной популяции клеток, усл. ед.

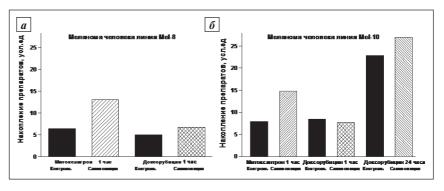


Рис. 3. Влияние салиномицина на накопление флюоресцирующих противоопухолевых препаратов митоксантрона и доксорубицина MDR1⁺-клетками меланомы человека линии Mel-8 (a) и MDR1⁻-линии Mel-10 (б). Инкубация с салиномицином (5 мкМ) перед добавлением препаратов — 30 мин, затем 24 ч с препаратами. Данные 1 из 3 типичных экспериментов. По оси ординат — накопление препаратов (MFI), усл. ед.

с тем, что салиномицин ингибирует другой транспортер семейства АВСВ1 – АВСВ5, обнаруженный в клетках меланом и опухолей других типов, и характеризующийся, во-первых, широким спектром препаратов, включающим алкилирующие агенты, чувствительность к которым он снижает, а во-вторых, тем, что различия в накоплении доксорубицина между ABCB5⁺- и ABCB5⁻-клетками проявляются только при более длительной инкубации с клетками, продолжающейся не менее 6 ч [8]. Поэтому для клеток линии Mel-10 исследовали влияние салиномицина на накопление доксорубицина и через 24 ч после добавления доксорубицина. Действительно, при этих условиях (см. рис. 3, б) обнаружено более интенсивное накопление доксорубицина при инкубации в присутствии салиномицина.

В следующей серии экспериментов изучалась эффективность совместного действия салиномицина и доксорубицина (рис. 4, а, б) и салиномицина и дакарбазина (рис. 4, в, г) в отношении клеток меланомы линий Mel-8 и Mel-10. Салиномицин был использо-

ван в одинаковой концентрации — $5~\rm mkM$ — для обеих линий клеток. Его добавляли к клеткам за $24~\rm y$ до введения противоопухолевых препаратов, так как в предварительных экспериментах было показано, что при одновременном добавлении этих веществ сенсибилизирующее действие салиномицина было очень незначительным.

Полученные результаты свидетельствуют о существенно более высокой эффективности совместного действия как салиномицина и доксорубицина, так и салиномицина и дакарбазина по сравнению с действием только доксорубицина или только дакарбазина (см. рис. 4). При этом повышение эффективности препаратов отмечено для широкого диапазона доз и доксорубицина (см. рис. 4 а, б) и дакарбазина (см. рис. 4, в, г), и оно имеет место как для MDR1⁺-клеток линии Mel-8 (см. рис. 4, а, в), так и для MDR1⁻-клеток линии Mel-10 (см. рис. 4, б, г). Полученные данные коррелируют с более высоким накоплением как маркерного красителя родамина-123, так и изученных противоопухолевых препаратов клетками меланом

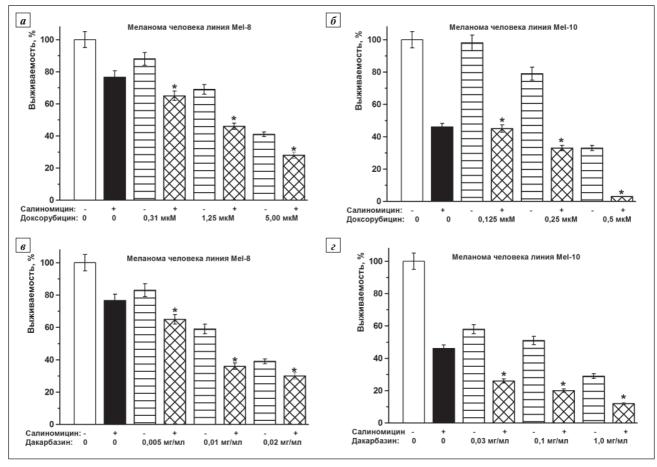


Рис. 4. Влияние совместного действия салиномицина и доксорубицина (а, б), а также салиномицина и дакарбазина (в, г) на выживаемость MDR1⁺-клеток меланомы человека линии Mel-8 (а, в) и MDR1⁻-клеток линии Mel-10 (б, г). Салиномицин (5 мкМ) добавляли к клеткам за 24 ч до применения противоопухолевых препаратов. Выживаемость клеток оценивали через 72 ч инкубации с препаратами. По оси абсцисс — концентрация и сочетание использованных препаратов; по оси ординат — выживаемость клеток, в % от контроля

линии и Mel-8 и Mel-10 в присутствии салиномицина (см. рис. 2, a, б).

Таким образом, резюмируя полученные результаты, можно заключить, что и MDR1⁻- и MDR1⁺-клетки меланомы человека высокочувствительны к ионофорному антибиотику салиномицину. Салиномицин не только увеличивает накопление флюоресцентного красителя родамина-123 в основной части опухолевых клеток меланом, но и снижает размер популяции SP—наиболее резистентной фракции опухолевых клеток

— потенциально ОСК. Этот препарат при совместном добавлении усиливает накопление противоопухолевых препаратов в клетках меланом и сенсибилизирует эти клетки к действию противоопухолевых препаратов доксорубицина и дакарбазина. Учитывая, что в настоящее время уже появились первые сообщения об использовании салиномицина для лечения больных при раке молочной железы и раке легкого [22], важно отметить, что этот препарат должен быть высокоэффективен и при лечении меланомы.

ЛИТЕРАТУРА

- Клинические рекомендации. Онкология / Под ред. В.И. Чисова, С.Л. Дарьяловой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 720 с.
- Кондрашева И.Г., Москалева Е.Ю., Крюкова Л.Ю. и др. Чувствительность клеток меланомы человека к новому полифторсодержащему производному 1,3,5-оксадиазина в сравнении с известными химиотерапевическими препаратами // Молек. мед. – 2008; 2: 28–30.
- Кондрашева И.Г., Москалева Е.Ю., Попова О.Н. и др. Выявление в различных линиях меланомы человека клеток, не включающих родамин-123, – предположительно опухолевых стволовых клеток // Молекул. мед. – 2009; 4: 51–5.
- 4. Москалева Е.Ю., Северин С.Е. Противоопухолевая активность ионофорного антибиотика салиномицина: мишень опухолевые стволовые клетки // Молекул. мед. 2012; 6: 28–36.
- Berger W., Hauptmann E., Elbling L. et al. Possible role of the multidrug resistance-associated protein (MRP) in chemoresistance of human melanoma cells // Int. J. Cancer. – 1997; 71 (1): 108–15.
- Choi C. ABC transporters as multidrug resistance mechanisms and the development of chemosensitizers for their reversal // Cancer. Cell. Int. – 2005; 4: 5–30.
- Dean M., Fojo T., Bates S. Tumour stem cells and drug resistance // Nat. Rev. Cancer. – 2005; 5: 275–84.
- Frank N., Margaryan A., Huang Y. ABCB5mediated doxorubicin transport and chemoresistance in human malignant melanoma // Cancer Res. – 2005; 65: 4320–33.
- Fuchs D., Daniel V., Sadeghi M. et al. Salinomycin overcomes ABC transporter – mediated multidrug and apoptosis resistance in

- human leukemia stem cell-like KG-1a cells // Biochem. Biophys. Commun. – 2010; 394: 1098–104.
- Fuchs D., Heinold A., Opelz G. et al. Salinomycin induces apoptosis and overcomes apoptosis resistance in human cancer cells // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2009; 390: 743–9.
- 11. Goodell M., Rosenzweig M., Kim H. et al. Dye efflux studies suggest that hematopoietic stem cells expressing low or undetectable levels of CD34 antigen exist in multiple species // Nat. Med. – 1997; 3: 1337–45.
- Gottesman M., Fojo T., Bates S. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters // Nat. Rev. Cancer. – 2002; 2: 48–58
- Gupta P., Onder T., Jiang G. et al. Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening // Cell. – 2009; 138: 645–59.
- 14. Hirschmann-Jax C., Foster A., Wulf G. et al. A distinct «side population» of cells with high drug efflux capacity in human tumor cells // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2004; 101: 14228–33.
- **15.** Huczynski A. Salinomycin A New Cancer Drug Candidate // Chem. Biol. Drug. Des. 2012: 79: 235–8.
- 16. Kim J.-H., Chae M., Kim W. et al. Salinomycin sensitizes cancer cells to the effects of doxorubicin and etoposide treatment by increasing DNA damage and reducing p21 protein // Br. J. Pharmacol. – 2011; 162: 773-84.
- 17. Kim K-Y., Sun-Nyoung Yu, Sun-Yi Lee et al. Salinomycin-induced apoptosis of human prostate cancer cells due to accumulated reactive oxygen species and mitochondrial membrane depolarization // Biochem. Bioph. Res. Commun. – 2011; 413 (1): 80–6.
- 18. Lagas J., Sparidans R., van Waterschoot R. et al P-glycoprotein limits oral availability, brain penetration, and toxicity of an

- anionic drug, the antibiotic salinomycin // Antimicrob Agents Chemother. – 2008; 52: 1034–9.
- 19. Miracco C., Maellaro E., Pacenti L. et al. Evaluation of MDR1, LRP, MRP and topoisomerase gene mRNA transcripts before and after interferon-alpha, and correlation with the mRNA expression level of the telomerase subunits hTERT and TEP1 in five unselected human melanoma cell lines // Int. J. Oncol. – 2003; 23 (1): 213–20.
- Monzani E., Facchetti F., Galmozzi E. et al. Melanoma contains CD133 and ABCG2 positive cells with enhanced tumourigenic potential // Eur. J. Cancer. – 2007; 43: 935–46.
- Mossman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and cytotoxicity assays // J. Immunol. Meth. – 1983; 65: 55–63.
- 22. Naujokat C, Steinhart R. Salinomycin as a drug for targeting human cancer stem cells // J. Biomed. Biotechnol. – 2012; 2012: 950658. doi: 10.1155/2012/950658.
- Riccioni R., Dupuis M., Bernabei M. et al The cancer stem cell selective inhibitor salinomycin is a p-glycoprotein inhibitor // Blood. Cells. Mol. Dis. – 2010; 45 (1): 86–92.
- 24. Schadendorf D., Makki A., Stahr C. et al. Membrane transport proteins associated with drug resistance expressed in human melanoma // Am. J. Pathol. – 1995; 147 (6): 1545–52.
- 25. Zhang Y., Zhang H., Wang X. et al. The eradication of breast cancer and cancer stem cells using octreotide modified paclitaxel active targeting micelles and salinomycin passive targeting micelles // Biomaterials. 2012; 33: 679–91.
- 26. Zhou S., Schuetz J., Bunting K. et al The ABC transporter Bcrp1/ABCG2 is expressed in a wide variety of stem cells and is a molecular determinant of the side-population phenotype // Nat. Med. – 2001; 7: 1028–34.