

УДК 577.214

Белки семейства p53 в ответе опухолевых клеток на ионизирующее излучение: развитие проблемы

О. А. Кучур^{1*}, Д. О. Кузьмина¹, М. С. Духинова¹, А. А. Штиль^{1,2}¹Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург, 191002 Россия²Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина, Москва, 115478 Россия

*E-mail: kuchur@scamt-itmo.ru

Поступила в редакцию 27.10.2020

Принята к печати 24.12.2020

DOI: 10.32607/actanaturae.11247

РЕФЕРАТ В ответ на терапевтическое ионизирующее излучение в опухолевых клетках активируются механизмы выживания, что снижает эффективность лечения. В становлении радиорезистентности ключевую роль играют p53, p63 и p73, составляющие семейство белков-регуляторов многочисленных путей передачи внутриклеточных сигналов. В обзоре анализируются p53-зависимые и -независимые механизмы преодоления устойчивости опухолевых клеток к лучевому воздействию.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА белки семейства p53, гибель клеток, радиорезистентность, лучевая терапия, злокачественные опухоли.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход; NF-κB – ядерный фактор каппа В; CDK – циклинзависимая киназа; TAp63/73 – изоформы p63/p73 с N-концевым доменом трансактивации (TA); ΔNp63/73 – изоформы p63/p73 с делецией N-концевого домена трансактивации.

ВВЕДЕНИЕ

Ионизирующее излучение – от первоначального применения фотонов до современных источников частиц (протоны, электроны, нейтроны, атомы углерода) – важнейший метод терапии опухолей. Его эффективность подтверждается на протяжении более полувека. Вместе с тем, нерешенной остается проблема устойчивости опухолевых клеток к ионизирующему воздействию – первичная и приобретенная в процессе лечения. Как и лекарственная резистентность, устойчивость к лучевому воздействию является неблагоприятным прогностическим фактором для эффективности терапии. Причины устойчивости к лучевым воздействиям многообразны. В настоящем обзоре проанализированы молекулярные механизмы, формирующие комплексный ответ опухолевых клеток на терапевтическое облучение гамма-фотонами. Важно, чтобы ответ приводил к гибели клеток, а не к «ускользанию», результатом которого могут стать выживание клеток и формирование рецидивной радиоустойчивой опухоли.

Первичной причиной повреждения опухолевых клеток после ионизирующего излучения считают генотоксический эффект – нарушение структуры и функций ДНК. Этот эффект может вызываться прямым разрушением молекулярных связей вслед-

ствие ионизации атомов в ДНК или происходить опосредованно – в результате радиолиза воды. В последнем случае взаимодействие энергии излучения с молекулами воды формирует реакционноспособные радикалы, вызывающие одно- или двухцепочечные разрывы ДНК. При этом может изменяться экспрессия генов, продукты которых регулируют гомеостаз [1–3]. Таким образом, биологический результат облучения реализуется через регуляцию транскрипции генов. Именно пластичность – общее свойство живых систем, особенно выраженное в опухолевых клетках, – позволяет перестроить (перепрограммировать) транскрипционный аппарат для приспособления к стрессовому воздействию. Закономерно, что первичным и важнейшим сенсором, регулирующим ответ клетки на лучевое повреждение ДНК, оказывается транскрипционный белок p53 [4, 5] – прототип семейства, в которое входят p63 и p73. Белки этого семейства регулируют ответ клеток на облучение, определяя баланс выживаемости и гибели [6–8].

Исследования семейства p53 начинаются с 1979 года, когда независимыми группами был открыт белок, образующий комплекс с известным, ассоциированным с опухолями белком – большим Т-антигеном полиомавируса SV40 [9]. Новый белок рассматривали как вспомогательный для малигнизации кле-

ток вирусом SV40 и экспрессии t- (small) и T- (large) антигенов вируса в клетках хозяина. Тогда же была получена сыворотка, содержащая неизученный фактор с молекулярной массой 53–54 кДа [10]. Наступила эра p53: открывались все новые и новые функции этого белка, среди которых были регуляция клеточного цикла и баланса выживания–гибели клеток, контроль возникновения и прогрессии опухолей. Из рядового регулятора клеточной трансформации p53 и опосредуемые им процессы стали одной из главных тем современной молекулярной онкобиологии [11]. Проблема не теряет актуальность и сейчас: новые механизмы ответа опухолевых клеток на ионизирующее излучение и, главным образом, механизмы радиорезистентности невозможно исследовать вне значимости семейства p53.

Решена ли проблема за десятилетия исследований? Что остается неясным в обширном круге вопросов о роли семейства p53 как главного молекулярного механизма в реакциях клеток на ионизирующее излучение? В настоящем обзоре проанализированы сведения о белках семейства p53 как регуляторах (сенсорах) терапевтических фотонов. Эти механизмы определяют судьбу облученной клетки – гибель или радиостойчивость.

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА p53

Белок p53 (393 а.о.) состоит из пяти доменов, главные из которых – домены активации, связывания ДНК и тетрамеризации [12, 13]. Экспрессия гена p53 и активность белка p53 регулируются различными стрессовыми сигналами, основным (но не единственным) из которых является повреждение ДНК. После одного или двухцепочечных разрывов в ДНК, образовавшихся вследствие лучевого воздействия на клетки, протеинкиназы АТМ и АТР активируют транскрипционную компетентность p53 посредством фосфорилирования по остатку серина в положении 15 [14, 15].

Два других белка семейства – p63 и p73 – имеют схожие с p53 домены. Все три белка регулируют транскрипцию в виде гомотетрамеров [16, 17]. Активация p73 происходит при ионизирующем излучении, воздействии ДНК-повреждающих лекарственных соединений и препаратов, нарушающих динамику микротрубочек через пути, регулируемые тирозинкиназой c-Abl [18]. Судя по всему, существует кооперация между c-Abl и активацией апоптоза белком p73 [19]. Об особенностях функций p63 известно гораздо меньше. Отмечено, что этот белок также может активироваться в ответ на УФ- и гамма-облучение и опосредует апоптоз даже при инактивированном p53 [20], а усиление экспрессии p63 в некоторых типах опухолей снижает чувствительность клеток к ионизирующему излучению [21].

Учитывая высокую степень структурного сходства белков семейства, полноразмерные p73 и p63 могут связываться и активировать транскрипцию большинства p53-зависимых промоторов [22].

МУТАЦИИ И ИЗОФОРМЫ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА p53 В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ

Нарушения функций белков семейства p53 могут возникать в результате мутаций генов TP53, TP63, TP73 или генов, продукты которых участвуют в модификации этих белков, например, протеинкиназ, фосфорилирующих p53 (Cdc2, JNK1, протеинкиназа С) [23]. Ген p53 кодирует девять изоформ белка (p53, p53β, p53γ, Δ133p53, Δ133p53β, Δ133p53γ, Δ40p53, Δ40p53β и Δ40p53γ); это разнообразие определяется альтернативным сплайсингом мРНК, альтернативным использованием промотора или сайтов инициации трансляции [24]. Анализ биоптатов 29346 опухолей различной тканевой принадлежности показал, что большинство из них несут мутантный p53 (рис. 1). Большая часть нарушений функций p53 в опухолевых клетках происходит из-за миссенс- и/или точечных мутаций; встречаются также делеции и ошибки сплайсинга [25]. Около 15% мутаций p53 это мутации сдвига рамки считывания или нонсенс-мутации [26]. В большинстве опухолей мутации TP53 приходятся на экзоны 5–8, кодирующие ДНК-связывающий домен. Вследствие этого 80% миссенс-мутаций p53 связано с проонкогенной функцией [27, 28].

Основное отличие большинства мутантных форм от p53 дикого типа, время полужизни которого в покоящихся клетках не превышает 5–10 мин, – повышенная стабильность из-за нарушения отрицательной обратной связи с Е3-лигазой Mdm2 и связывания с Hsp90 и Hsc70, что стабилизирует p53 и приводит к его накоплению в клетках [29, 30]. Важно, что мутантный p53 способен образовывать олигомерные комплексы с p53 дикого типа. Это связывание может инактивировать нормальный белок и объясняет, почему мутантный p53 способен трансформировать клетки в присутствии белка дикого типа [31].

Известно широкое разнообразие изоформ двух других белков семейства: гены p63 и p73 имеют внутренний промотор в интроне 3 и, благодаря альтернативному сплайсингу, экспрессируют 6 и 35 вариантов мРНК соответственно. Ген p63 локализован в области 3q27-ter; с него экспрессируются три С-концевые изоформы – α, β, γ, образующиеся в результате альтернативного сплайсинга. Ген p73 расположен в локусе 1p36; его альтернативно сплайсированные транскрипты кодируют С-концевые изоформы α–η [32]. мРНК p63 и p73 могут транскрибироваться с дистального и внутреннего (в интроне 3) промоторов. Дистальный промотор регулирует

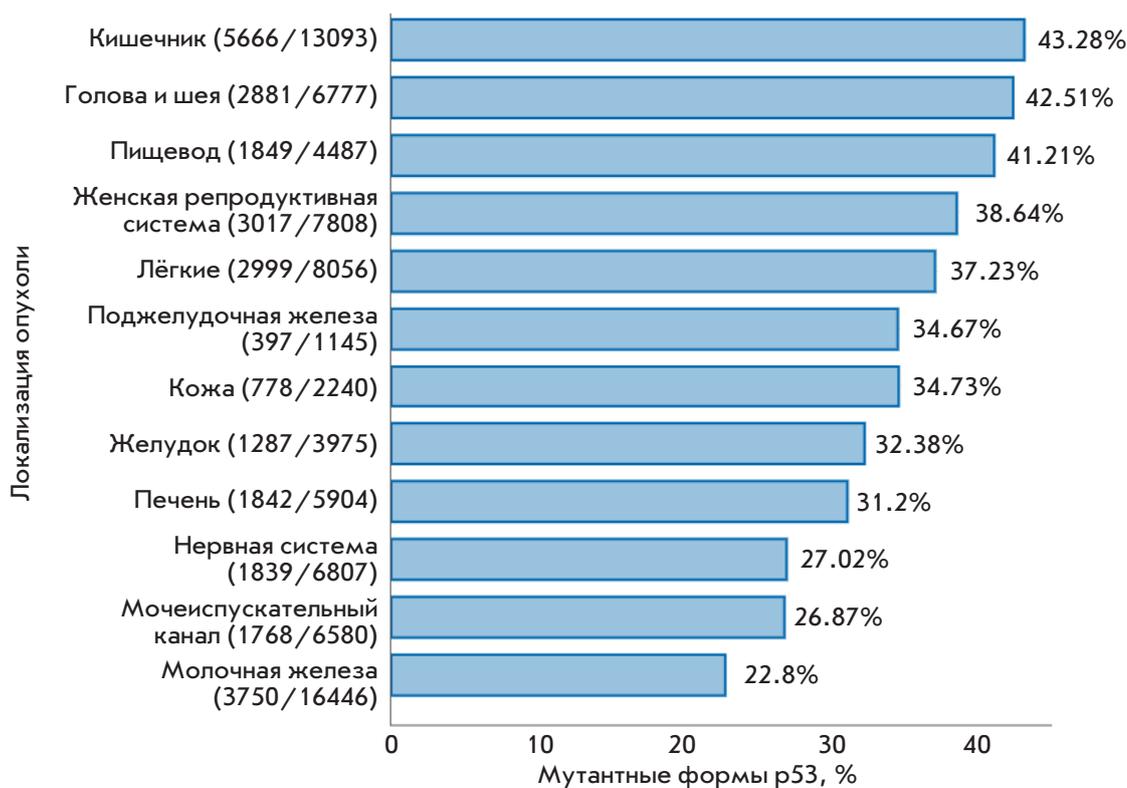


Рис. 1. Распространенность мутантных форм p53 в опухолях на основании секвенирования ДНК (IARCTP53 Database, 2019). По оси X — количество биоптатов с выявленными мутациями, по оси Y — количество проанализированных биоптатов

экспрессию *TAp63* и *TAp73* (трансактивационные домены имеют гомологию с *p53*), тогда как с внутреннего промотора транскрибируются изоформы $\Delta Np63$ и $\Delta Np73$ — укороченные по N-концу (ΔN) белки с свойствами, противоположными свойствам изоформ *p63*/*TAp73* [33]. Эти результаты свидетельствуют о необычайном разнообразии семейства; не удивительно, что рассматриваемая проблема не только не теряет актуальность, но приобретает новые уровни сложности.

ОТВЕТЫ НА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЕ ИЗЛУЧЕНИЕ

Белок p53

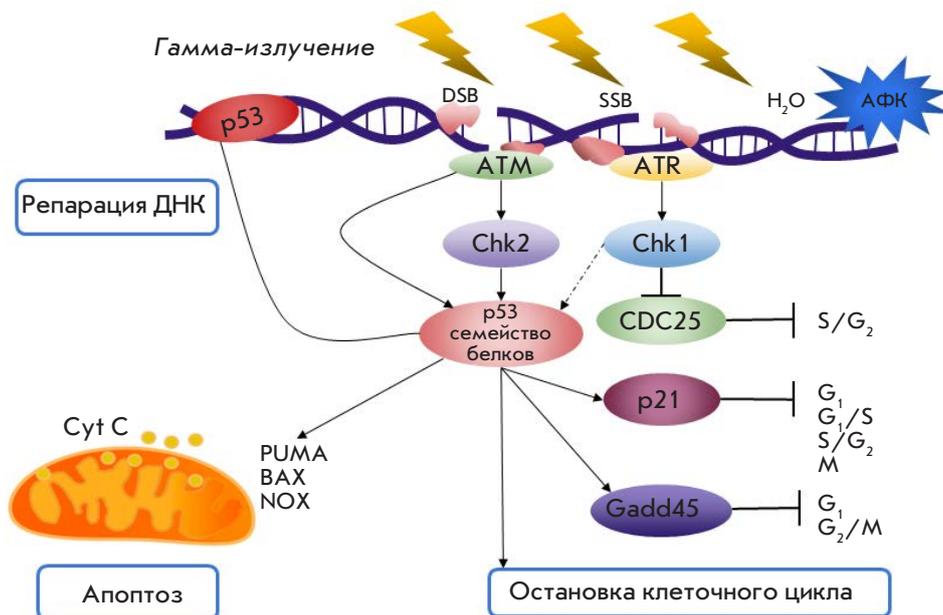
Как сказано выше, p53 активируется в ответ на стрессовые воздействия, главным образом, на повреждения ДНК, вызванные окислительным стрессом, ионизирующим излучением и др. С участием повреждения молекулы ДНК связываются белки, активирующие протеинкиназы ATM (мутирована при атаксии-телеангиэктазии) и ATR (ATM-и Rad3-связанная) [34]. Последние, в свою очередь, активируют протеинкиназы «контрольных точек» (checkpoints) Chk1 и Chk2, фосфорилирующие p53 по остаткам Ser15. Активация p53 приводит к индукции его функционального антагониста Mdm2. Связывание Mdm2 с N-концом p53 способствует моноубиквитинированию p53 и ядерному экспорту

или полиубиквитинированию и гидролизу p53 в протеасоме [35, 36]. На рис. 2 представлена обобщенная схема внутриклеточных ответов на ионизирующее излучение с участием белков семейства p53.

«Выбор» между выживанием или гибелью клетки регулируется посттрансляционными модификациями p53 и его изоформ, белками-партнерами и набором активируемых генов [37]. Белок p53 активирует транскрипцию $p21^{Cip1/Waf1}$ — блокатора фазы G_1 , ингибирующего связывание циклинов A и B с протеинкиназами CDK1 и CDK2 [38, 39]. О роли p53 в регуляции S-фазы известно недостаточно. В S-фазе Chk2 фосфорилирует фосфатазу CDC25A, что приводит к ее деградации и остановке клеточного цикла [40]. p53 может задерживать прохождение G_2/M благодаря репрессии промоторов генов *CDC2* и циклина B [41].

В ответ на лучевое воздействие p53 может стимулировать апоптоз через индукцию проапоптотических (Bax) и репрессию антиапоптотических (Bcl-2) белков, а также активацию или ингибирование других таргетных генов, участвующих в регуляции клеточного цикла. Известно, что низкие дозы излучения индуцируют p21 и Hdm2 — гомолог Mdm2, а высокие дозы увеличивают соотношение Bax:Bcl-2, способствуя апоптозу [42]. Радиорезистентность обусловлена действием антиапоптотических белков (сверхэкспрессией семейства Bcl-2), потерей компонентов апоптотического сигналинга или ингибированием генов, кодирующих каспазы.

Рис. 2. Механизмы ответа на ионизирующее излучение с участием белков семейства p53



Эффективность репарации повреждений ДНК в ответ на облучение зависит от гистологического происхождения клеток и фазы клеточного цикла. Наиболее чувствительны фазы G_2 и митоз. Важно, что p53 может играть двоякую роль в ответе на лучевое воздействие. В одних случаях повышение p53 увеличивает чувствительность к облучению, в других показана корреляция между повышением p53 и радиорезистентностью [43]. При слабых стрессовых воздействиях p53 может выступать фактором выживания, так как способствует репарации повреждений ДНК, поэтому нокаут p53 в клетках аденокарциномы кишечника (линия НСТ116) приводит к повышению чувствительности клеток к облучению и «митотической катастрофе» – aberrантной сегрегации хромосом, завершающейся гибелью. Существенное увеличение количества клеток, подвергающихся митотической катастрофе, наблюдали также в облученных клетках фибросаркомы человека НТ1080 после инактивации p53 доминантно-негативным мутантом [44].

Транскрипционные факторы Slug и Snail регулируют эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) и инвазию опухолевых клеток в подлежащие ткани [45]. Группа исследователей из Национального университета Сеула обнаружила, что p53 индуцирует деградацию Slug и Snail посредством Mdm2-опосредованного убиквитинирования [46]. Важно, что активность Snail зависит от статуса p53. Так, мутантные формы p53 вызывают сверхэкспрессию Snail и Slug, что имеет отношение к приобретению радиорезистентности клетками рака яичников: эти белки усиливают выживаемость клеток-предшественников за счет активации пути SCF/c-Kit [47].

Polo-подобная серин-треониновая протеинкиназа 3 (PLK3) – один из компонентов регуляторных сигналов, опосредуемых p53. PLK3 взаимодействует с p53, Chk2 и CDC25C в ответ на повреждения ДНК. p53 может связываться с промотором PLK3 и индуцировать экспрессию ее гена, после чего происходит задержка в фазе G_2/M и остановка клеточного цикла. Другой ген, регулируемый p53 – GPX1, кодирует антиоксидантный белок глутатионпероксидазу. После облучения клетки накапливают высокоактивные свободные радикалы кислорода. Благодаря индукции GPX1 и быстрому катаболизму H_2O_2 , p53 может защищать клетки от окислительного повреждения, сопровождающего лучевое воздействие [48, 49]. Здесь проявляется двойственность роли p53 при лучевых воздействиях: в одних случаях этот белок защищает клетки, в других – способствует их гибели.

Halaclic и соавт. выявили, что в клетках аденокарциномы кишки с нефункционирующим p53 активность теломеразы после облучения снижена, а в исходной изогенной линии (p53^{+/+}) повышена. Обратный эффект наблюдали у каталитической субъединицы теломеразы – TERT. После облучения активность TERT снижается при усилении индукции p53, при этом в клетках p53^{-/-} активность TERT повышена. В то время как активность теломеразы не изменяется при облучении, в клетках с нормально функционирующим p53 наблюдается ускоренное старение. Таким образом, в облученных клетках активность теломеразы и остановка клеточного цикла в G_1 регулируются в зависимости от статуса p53 [50].

Не менее важные особенности регуляции клеточного цикла показаны на клетках соединительной ткани. Так, эмбриональные фибробласты мыши (MEF

p53^{+/+}) накапливались в фазе G₁ после облучения (5 Гр) – в них активировался p53-зависимый промотор гена p21. Однако облученные клетки с нокаутом p53 не подвергались апоптозу, а останавливались в премитозе [51]. В клетках p53^{-/-} p21 и Cdc25 регулировали p53-независимую остановку в G₂ [52].

Белки p63 и p73

Роль p73 в ответе клеток на ионизирующее излучение исследована более детально, чем роль p63. Обнаружено, что экспрессия p73 при радиочувствительном раке шейки матки выше, чем при радиорезистентном. p73 является положительным регулятором транскрипции p21 при облучении и, вероятно, может выполнять роль белка p53 в регуляции контрольных точек клеточного цикла. Таким образом, p73 участвует в регуляции радиочувствительности [53].

Повышенная экспрессия p73, индуцированная облучением, активирует транскрипцию p53-зависимых генов *Bax*, *Mdm2* и *GADD45*, способствуя апоптозу или остановке клеточного цикла и ингибируя пролиферацию. Предполагают, что p73 может индуцироваться при облучении и выполнять некоторые функции p53 в опухолевых клетках с нарушением экспрессии или активности p53. Кроме того, в облученных клетках рака молочной железы и легкого экспрессия p73 подавляется активацией p53 [54–56]. Недавно показано, что нутлин – низкомолекулярный разобщитель взаимодействия p53-Mdm2 – может вызывать апоптоз в p53-негативных клетках через активацию p73 при облучении. Эти результаты обосновывают использование нутлина в терапии опухолей с нефункционирующим p53 [57].

Противоопухолевый препарат цисплатин и ионизирующее излучение вызывают фосфорилирование Tyr99 в p73 и накопление этого белка. Эта посттрансляционная модификация происходит благодаря взаимодействию p73 с тирозинкиназой Abl и способствует апоптотической активности p73. Кроме того, показана возможность ацетилирования p73 белком p300 при действии цисплатина. Полученные данные указывают на важность p73 в ответе клеток на сочетание химио- и радиотерапии [58].

Полногеномный поиск ассоциаций (GWAS) в клетках с нокаутом p63 и p73 показал, что эти белки регулируют транскрипцию генов *BRCA2*, *Rad51*, *Rad50* и *Mre11*, продукты которых принимают участие в репарации одно- и двухцепочечных разрывов ДНК. Этот механизм может определять выживание опухоли. Интересно, что изоформы ΔNp63 и ΔNp73 являются более сильными трансаktиваторами перечисленных генов, чем изоформы TA. Анализ мутаций генов p63/p73 может иметь важное значение для выбора стратегий лучевой терапии [59].

Таким образом, регуляция мутантных форм семейства p53 происходит через множество путей, в некоторых случаях неочевидных. Белки этого семейства опосредуют каскады, регулирующие становление радиоустойчивых фенотипов или гибель облученных клеток. Использование комбинаций препаратов платины и ингибиторов mTOR или иных блокаторов внутриклеточных сигналов открывает возможности модуляции белков семейства p53 и усиления ответа на ионизирующее излучение.

РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ, ОПОСРЕДОВАННАЯ БЕЛКАМИ СЕМЕЙСТВА p53

Изучение роли p53 в радиорезистентности опухолевых клеток началось с работы Lee J.M. и Bernstein A., которые использовали трансгенных мышей с мутациями p53^{Pro193} и p53^{Val135} и показали, что экспрессия обоих мутантных вариантов гена p53 значительно увеличивает устойчивость гемопоэтических клеток к гамма-излучению. Это выявило связь мутаций p53 с радиорезистентностью [60]. Позднее исследовали радиочувствительность линий фибробластов эмбриона крысы (REF), трансфицированных мутантной формой p53 (*Mtp53^{Pro193}*) отдельно или в комбинации с онкогенами *H-Ras* и *E7*. Результаты опытов с трансфекцией p53^{Pro193} подтвердили полученные ранее данные о повышении радиоустойчивости клеток. Котрансфекция мутантных генов p53 и *H-Ras* или трансфекция p53^{Pro193}, *H-Ras* и *E7* приводила к появлению клонов с еще более высокой радиорезистентностью и сверхэкспрессией мутантного p53 [61].

Линии клеток аденокарциномы яичников SKOV-3 и CaOV-3 становились радиорезистентными при сверхэкспрессии мутантного p53; при этом облучение не приводило к активации и накоплению мутантной формы p53. Оказалось, что регулируемая p53 экспрессия *Bcl-2* в этих линиях связана с устойчивостью к гамма-излучению, а также с чувствительностью к цисплатину. Вероятно, мутации p53, вызывающие повышение количества белка и радиорезистентность, связаны с большей стабильностью p53 и блокированием клеточного цикла; у клеток появляется время на репарацию повреждений ДНК [62].

На клетках меланомы показано, что Chk2/hCds1-независимый сигнальный путь повреждения ДНК, дефосфорилирующий Ser376 в C-концевой области p53, приводит к повышенной активности p53 при облучении. В клетках с функционирующим p53 фосфорилирование Ser376 не регулируется повреждением ДНК, и радиорезистентность не возникает. Напротив, дефекты вышележащих механизмов активации p53 в ответ на повреждение ДНК, например, мутации Chk2/hCds1, не позволяющие фосфорилировать Ser376 p53 при облучении, связаны со становлением

радиорезистентности меланомы. Это же свойство наблюдалось у мутанта p53, не способного взаимодействовать с белком 14-3-3 [43].

В кооперации с p53 ядерный белок Ki-67, экспрессирующийся в пролиферирующих клетках и не функционирующий в покоящихся (G_0) клетках, также служит предиктором радиорезистентности. В образцах плоскоклеточного рака головы и шеи уровень экспрессии p53 коррелирует с отсутствием ответа опухолей на лучевую терапию. Сочетание накопления p53 и низкого уровня Ki-67 связано с рецидивами опухолей у пациентов с ранними стадиями заболевания. Таким образом, p53 и Ki-67 могут играть ключевую роль в выборе стратегий радиотерапии пациентов с опухолями головы и шеи [63]. Множественные мутации, включающие изменения в p53-зависимых проапоптотических белках Bcl-2, PUMA и Bax, усиливают радио- и химиорезистентность [64].

Активность тирозинкиназы фокальных контактов ФАК повышена при различных опухолях. В линии клеток плоскоклеточного рака кожи с нокаутом ФАК облучение подавляет транскрипцию p21 и других генов-мишеней p53, опосредующих остановку клеточного цикла и репарацию повреждений. Подавление активации p53 и p21 способствовало радиосенсибилизации клеток; этого не наблюдалось при интактной ФАК [65]. Эксперименты по ингибированию ФАК в p53-негативных клетках рака легкого показали обнадеживающие результаты: наблюдалось значительное снижение миграции и инвазии *in vitro*, а также тенденция к повышению выживаемости *in vivo* [66]. Вероятно, перспективной может оказаться модуляция активности ФАК в комбинации с облучением.

Сверхэкспрессия и накопление p53 в клетках рака эндометрия обусловлены, в частности, тем, что мутантный p53 рефрактерен к убиквитин-опосредованной протеасомной деградации. При одновременном накоплении p53 и фосфатазы PTEN клетки эндометрия становятся нечувствительными к лучевой терапии, что сопряжено с прогрессированием заболевания [67].

Поскольку ионизирующее излучение вызывает окислительный стресс [68], в лучевом повреждении митохондрий участвуют АФК. Активация митохондриального Bnip3 – проапоптотического белка семейства Bcl-2, регулирующего генерацию АФК в облученных клетках и митофагию, не происходила в клетках с нефункционирующим p53. Так, p53 выступает как ключевой механизм в регуляции Bnip3; отсутствие функционирующего p53 может влиять на выживаемость опухолевых клеток при облучении за счет поддержания целостности митохондрии [69]. Статус p53 оказывается важным биомаркером прогнозирования терапевтической ценности препаратов, мишенями которых служат митохондриальные белки.

О роли p63 и p73 в формировании фенотипов радиорезистентности известно недостаточно. Поскольку в определенных случаях белки этого семейства заменяют или дополняют друг друга, можно предположить, что p63 и p73 также могут регулировать устойчивость к облучению с использованием механизмов, схожих с p53. Действительно, группой Moergel [21] исследован p63 в образцах плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта. Экспрессия трансактивационной формы TAp63 до лечения служит маркером радиорезистентности; высокие уровни TAp63 ассоциированы с низкой эффективностью лечения и неблагоприятным прогнозом [70, 71]. Эти результаты подтверждаются исследованиями биоптатов плоскоклеточного рака головы и шеи, полученных от 33 пациентов, в опухолях которых экспрессия p63, повышенная до лечения, также рассматривается как предиктор радиорезистентности, но требует изучения на большей когорте пациентов [21].

Изучена также экспрессия изоформы $\Delta Np63\alpha$ при облучении линий плоскоклеточного рака гортани, головы и шеи (PCI-I-1, PCI-13, SCC-68 и SCC-4) и первичных кератиноцитов слизистой оболочки полости рта. Во всех линиях уровень экспрессии $\Delta Np63\alpha$ зависел от дозы облучения. Нокадаун $\Delta Np63$ с помощью малой интерферирующей РНК (siRNA) приводил к усилению чувствительности к облучению [72]. Однако отмечен и обратный эффект: экспрессия TAp73 и каспазы 7 в клетках колоректального рака после облучения коррелировала с радиочувствительностью. Далее с помощью микроРНК miR-622 блокировали ген Rb1. Потеря Rb1 ингибировала образование комплекса Rb-E2F1-P/CAF, что приводило к снижению TAp73 и каспазы 7; клетки приобретали радиорезистентность [73].

Известно также, что в некоторых случаях при облучении клеток p63/p73 связываются с мутантной формой p53 и не могут активировать проапоптотические гены, вследствие чего клетки выживают. Для повышения активности p63/p73 используют ингибиторы мутантных форм p53, сверхэкспрессию p63/p73 или нарушение физического взаимодействия между белками семейства с помощью пептидомиметиков или низкомолекулярных соединений (см. ниже) [74, 75].

ПУТИ ПРЕОДОЛЕНИЯ РАДИОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ПРИ МОДУЛЯЦИИ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА p53

Модуляция p53

Основные подходы к модуляции p53 для радиосенсибилизирующего эффекта включают (рис. 3):

1. Низкомолекулярные стабилизаторы p53 [76];

2. Модуляторы шаперонов/стабилизаторы дикого и мутантного p53 [77];

3. Регуляторы E3-убиквитинлигаз;

4. Модуляторы компонентов p53 сигнального пути (например, CDK, Vcl-2) [78].

Один из примеров низкомолекулярных стабилизаторов – стиктиновая кислота (stictic acid), которая восстанавливает функции p53, связываясь с мутантной формой [79]. Подобным действием обладают и соединения на основе карбазола. Так, РК083 связывается с мутантной формой p53^{Y220C} и восстанавливает его транскрипционную активность, приводя к апоптозу [36, 80, 81]. Аналоги хиназолина (2-стирил-4-аминохиназолин, CP-31398) [82–84] реактивируют p53. Алкилирующие агенты участвуют в восстановлении структуры белка p53, непосредственно связываясь и модифицируя мутантные формы [85]. В число таких p53-восстанавливающих агентов входят PRIMA-1 и его более эффективный аналог PRIMA-1Met (APR-246). В клетках эти соединения превращаются в активное соединение метиленихинуклидинон (MQ) – акцептор Михаэля, ковалентно связывающийся с остатками цистеина в ДНК-связывающем домене p53. Cys277 важен для MQ-опосредованной термостабилизации мутантов p53^{R273H}, тогда как Cys124 необходим для APR-246-опосредованного функционального восстановления мутантного p53^{R175H} в опухолевых клетках и нормализации активности белка дикого типа. Эти исследования особенно важны

для рационального дизайна молекул, действие которых направлено на p53 [86–88].

Активность p53 может регулироваться и опосредованно, через стабилизаторы нормальной или мутантных форм. Blanden и соавт. показали, что низкомолекулярное соединение ZMC1 (NSC319726) действует как металлошаперон и восстанавливает функции p53^{R175H} [89, 90]. В случае стабилизации мутантных проонкогенных форм p53 посредством Hsp90 для сенсibilизации клетки к химио- и радиотерапии необходимо подавить активность этого шаперона. С этой целью используют ингибиторы Hsp90 (Ganetespib и Geldanamycin), что позволяет подавлять пролиферацию опухолевых клеток с мутантным p53. AUY922 и другие «кандидаты» в лекарственные средства дестабилизируют мутантный белок путем подавления шаперона [91–94]. Один из представителей класса статинов – церивастатин – ингибирует мевалонатный путь. Это соединение через ингибирование HMG-CoA-редуктазы (фермент синтеза мевалоновой кислоты) уменьшает активность гистондеацетилазы HDAC6, что приводит к диссоциации комплекса Hsp90 с мутантным p53 [95]. Исходя из этого можно предположить, что дестабилизация мутантного p53 и восстановление функций p53 повысят чувствительность клеток к облучению.

Разрабатываются соединения, регулирующие взаимодействие E3-лигаз и p53. Среди многочисленных разобщителей взаимодействия Mdm2-p53 обще-

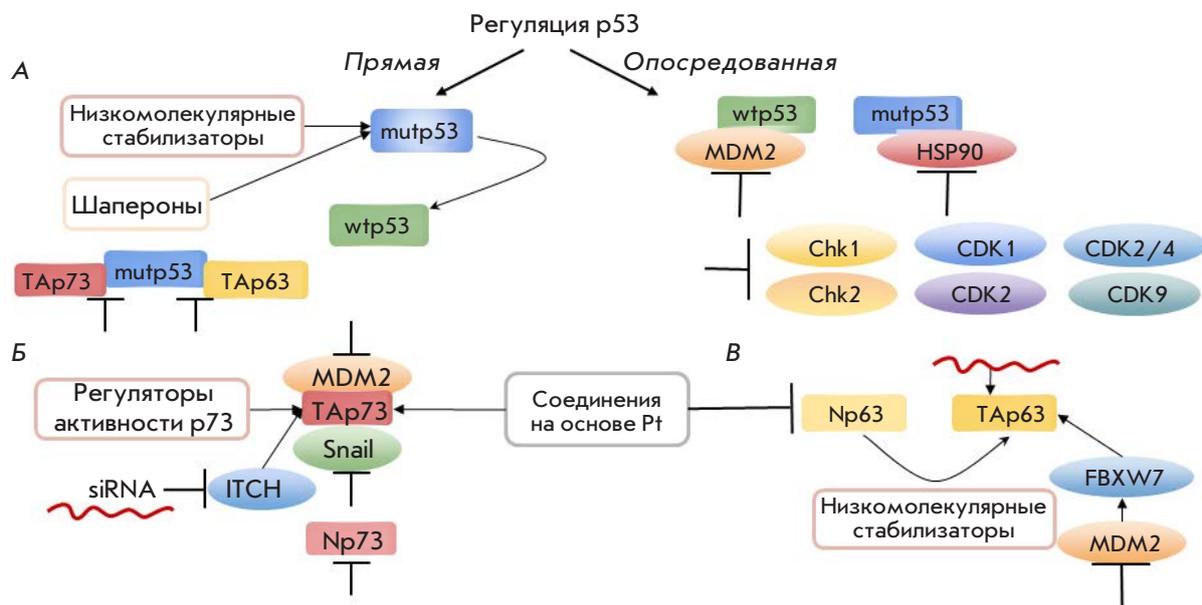


Рис. 3. Способы повышения чувствительности опухолевых клеток к ионизирующему излучению при модуляции белков семейства p53. А – модуляция p53 посредством низкомолекулярных стабилизирующих молекул и шаперонов. Б – регуляция p73 при действии на белки семейства Snail и E3-убиквитинлигазы (MDM2, ITCH). В – воздействие на изоформы p63 через Pt-содержащие соединения, низкомолекулярные стабилизаторы и активность убиквитинлигаз (MDM2, FBXW7). Объяснения в тексте

признанным является семейство *цис*-имидазолинов (нутлинов). AMG-232 проходит клинические испытания [96]. Высокий терапевтический потенциал имеют и антрахиноны, активирующие p53 через подавление Mdm2 [97, 98]. Разнообразие ингибиторов Mdm2 велико и включает генистеины, куркумины, гинзенозиды, SP141 и двойные ингибиторы NFAT1-Mdm2. Так, куркумин – природное соединение с антиоксидантными свойствами – может стабилизировать p53 через формирование стабильного комплекса p53 с (NAD(P)H:хинон-оксидоредуктазой 1 [99], а генистеин способен усиливать гибель клеток через p53-зависимый апоптоз [100–102]. В качестве привлекательной мишени для терапии рассматривают USP14 – активатор сигнасомы COPS5, который усиливает активность E3-лигазы, и подбирают для нее ингибиторы, например IU1 и AP15 [103].

Модуляция p53 может происходить косвенно, посредством регуляции компонентов сигнального пути p53. Одной из многообещающих стратегий может стать воздействие на циклинзависимые киназы – регуляторы клеточного цикла и транскрипции [104]. При использовании росковитина – ингибитора CDK1 и CDK2 – удалось вызвать апоптоз клеток с мутантным p53 [105, 106]. Химические ингибиторы mTOR (mammalian target of rapamycin), циклинзависимых протеинкиназ CDK1, CDK7, CDK9 и поли(ADP-рибозо)полимеразы (PARP) также влияют на функции p53. Росковитин и флавопиридол увеличивают уровень p53 в клетках, снижая транскрипцию *Mdm2*, вероятно, за счет ингибирования CDK7 или CDK9 – компонентов общего транскрипционного аппарата [107]. Влияние ингибиторов CDK флавопиридола, THZ1 или YKL-1-116, на транскрипцию *Mdm2* и индукцию p53 исследовали с использованием репортера Mdm2:T2A-GFP и оценили его трансактивацию в клетках рака молочной железы (линия MCF-7). Флавопиридол и росковитин увеличивали трансактивацию p53 вследствие истощения Mdm2. Хотя в этих ситуациях p53, вероятно, неактивен (поскольку транскрипция в присутствии ингибитора транскрипционных протеинкиназ нарушена или отсутствует), при удалении ингибиторов CDK7 и CDK9 (THZ1 и YKL-1-116 соответственно) p53 активирует мишени DR5, Fas, p21 и усиливает противоопухолевый эффект облучения [108, 109].

Действие динациклиба (ингибитор CDK1, CDK2, CDK5, CDK9 и CDK12) также приводило к переключению на p53-зависимый апоптоз [110, 111]. Кроме того, AT7519 (ингибитор CDK1, CDK2, CDK4, CDK6 и CDK9) и SNS-032 (ингибитор CDK2, CDK7 и CDK9) повышают чувствительность к облучению через активацию p53 и подавление Chk1 [112]. Соединение YM155 влияет на регуляцию клеточного цикла че-

рез Chk1 с Chk2, стабилизируя p53 и p21 [113]. Тиазольное производное хинона RO-3306 – ингибитор CCNB1/Cdk1 – вызывает p53-опосредованный апоптоз клеток нейробластомы при интактном p53 [114]. Лютеолин, который приводит к деградации Mdm2, способен ингибировать циклин D1 и CDK2/4, тем самым повышая уровень p53 в клетке [115]. Таким образом, перспективна комбинация ингибиторов CDK с лучевой терапией. На *рис. 4* представлены формулы перечисленных ингибиторов CDK.

Наряду с химиотерапевтическими препаратами в терапии опухолей используют также генно-терапевтические средства и комплексное воздействие на клеточный метаболизм, что может восстанавливать или обходить нарушения функций мутантного p53 через регуляцию метаболизма опухолевых клеток. В клетках с неизменным p53 АТФ синтезируется путем окислительного фосфорилирования. Потеря же нормальных функций p53 приводит к зависимости клетки от гликолиза; клетки получают возможность выживать в условиях гипоксии. Недавние результаты свидетельствуют о том, что с помощью ингибитора гликолиза можно повысить чувствительность опухоли к радиотерапии [116].

Изменение активности p73 и p63

Повысить чувствительность к химио- и радиотерапии можно посредством p53 и воздействием на другие белки семейства. Так, при некоторых режимах химиотерапии наблюдается увеличение экспрессии p73 [117]. Соединения на основе платины (цисплатин, оксалиплатин и др.) помогают преодолеть лекарственную устойчивость, повышая активность белка TAp73 и индуцируя апоптоз опухолевых клеток [118]. В дополнение к этому цисплатин подавляет проонкогенную форму $\Delta Np63\alpha$, что может приводить к подавлению роста опухоли [119, 120], и, предположительно, повышать ее радиочувствительность.

p53-подобные стратегии можно применить и к p73, и p63 (регулировать активность E3-лигаз). E3-лигаза ИТСН негативно регулирует p73, ее нокаут с помощью сочетания наночастиц и siRNA повышал стабилизацию p73 в клетках, мутантных по p53 [121]. Соединения, которые регулируют непосредственно активность p53, могут оказаться эффективными в случае p63 и p73. Куркумин – стабилизатор p53 – активирует экспрессию p73 [99, 122].

Посредством активации AMP-активируемой протеинкиназы АМПК метформин влияет на все три белка семейства p53: повышает количество p53 и p73, при этом снижает уровень проонкогенной формы p63 ($\Delta Np63\alpha$) [123, 124]. Продигозин положительно влияет на экспрессию p53, активируя его репортер путем индукции p73 и снижения онкогенного $\Delta Np73$, супрес-

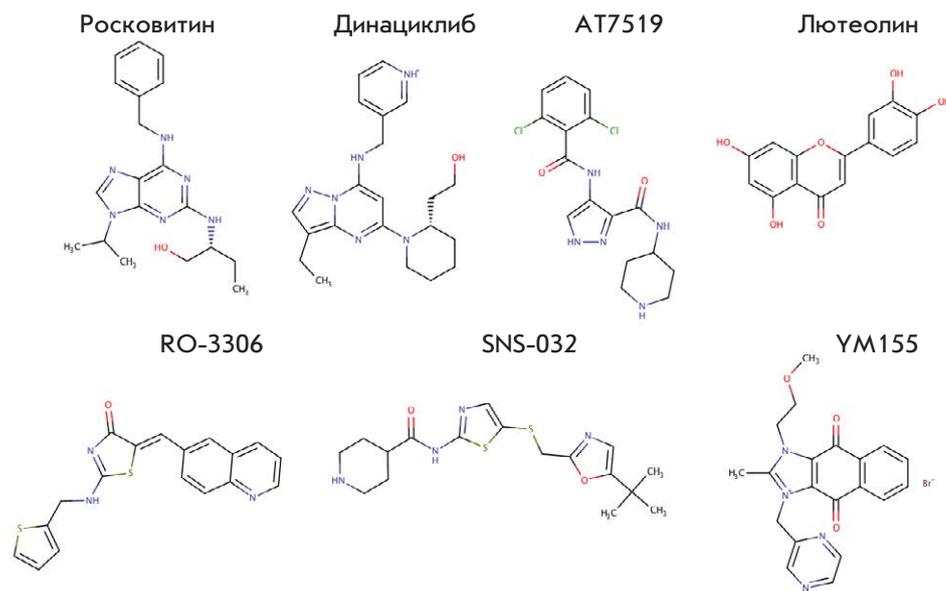


Рис. 4. Терапевтически перспективные ингибиторы циклинзависимых протеинкиназ, модулирующие активность p53

сора гена p53 [125], а соединение NSC59984 приводит к дестабилизации мутантного p53 и его деградации, при этом вызывается p73-зависимый апоптоз [126].

Помимо регуляторов, действующих на все белки семейства, предложены агенты, селективные в отношении отдельных белков. *Abrus agglutinin* (AGG) – растительный лектин, ингибирующий трансляцию, – приводит к индукции p73 [127]. Индуцированный лектином p73 подавляет экспрессию Snail и ингибирует ЭМП в клетках плоскоклеточного рака гортани. Примечательно, что AGG способствует перемещению Snail из ядра в цитоплазму и запускает его деградацию посредством убиквитинирования. Таким образом, AGG стимулирует p73 и супрессирует EGF-индуцированный ЭМП и инвазивность, ингибируя путь ERK/Snail [128]. Протопорфирин IX (PpIX), метаболит аминолевулиновой кислоты, применяемый в фотодинамической терапии рака, стабилизирует TAr73 и активирует TAr73-зависимый апоптоз в опухолевых клетках, лишенных p53. Активация TAr73 осуществляется через нарушение взаимодействий TAr73/MDM2, TAr73/MDMX и ингибирование деградации TAr73 с помощью убиквитин-лигазы ITCH [129]. Подобными свойствами обладает и 1-карбальдегид-3,4-диметоксиксантон, который стабилизирует TAr73, ингибируя его связывания с Mdm2 [130]. Диаллилдисульфид (DADS) увеличивает чувствительность к ионизирующему излучению, повышая уровень TAr73 и понижая уровень изоформы ΔNp73. Опосредованный DADS баланс TAr73/ΔNp73 связан с радиочувствительностью клеток рака шейки матки [131].

Опубликованы результаты использования микроРНК для модуляции p63 [132]. miR-130b активирует

противоопухолевую изоформу p63 (TAr63), связываясь непосредственно с белком [133]. Важно уделить особое внимание изучению ответа p63 на облучение и приобретение p63-опосредованной радиорезистентности, а также подбору таргетных препаратов к соответствующему гену/белку для создания новых методов терапии, особенно для пациентов с кросс-резистентностью к химиопрепаратам.

Важной и малоизученной представляется проблема разработки способов таргетной доставки на основе липосом и наночастиц. Мезопористые наночастицы UCNPs(BTZ)@ mSiO₂-H₂A/p53, которые, помимо кДНК p53, содержат ингибитор протеасом бортезомиб, повышали чувствительность клеток к этому препарату и вызывали более выраженный апоптоз в сравнении с контрольными клетками без наночастиц [134]. В клетки могут быть доставлены не только фрагменты генов, но и антагонисты E3-лигазы p53 Mdm2 и MdmX в составе наночастиц золота [135]. Также низкомолекулярные соединения VIP116 и PM2, ингибирующие взаимодействия p53-Mdm2 и p53-Mdm4, доставленные в липодисках – наноразмерных двухслойных структурах, стабилизированных в плоские круглые формы липидами, связанными с полиэтиленгликолем, значительно снижали жизнеспособность опухолевых клеток [136]. Подобный подход может быть применен для усиления гибели опухолевых клеток при ионизирующем излучении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ИЗВЕСТНОЙ ПРОБЛЕМЕ

Несмотря на десятилетия исследований, значение p53 как молекулярной мишени и прогностического

маркера в лучевой терапии остается противоречивым. Ситуация осложняется вариабельностью р53-зависимых ответов при облучении разных опухолей, даже линий клеток одной тканевой принадлежности [137]. Тем не менее, р53 отмечен как информативный генетический маркер прогноза острой токсичности или ответа на лучевую терапию нативных опухолей [138]. С помощью анализа экспрессии р53 и ряда других генов удалось предсказать величину поглощенной дозы, при которой развивается тот ли иной ответ опухоли [139, 140]. Успехом применения терапии с воздействием на р53 может считаться гендидин (Ad-p53) – рекомбинантный аденовирус, сконструированный для экспрессии р53 дикого типа в опухоли, где этот белок мутирован. Ad-p53 применяется в клинике и хорошо сочетается с радиотерапией, особенно при раке молочной и поджелудочной желез, шейки матки и яичников [141].

Информация о применении р63 и р73 в радиоонкологии в настоящее время ограничена эксперимен-

тальными данными и гипотезами о практическом использовании [142]. Этот пробел необходимо восполнить, поскольку анализ семейства р53 в целом дает более детальную – и более сложную – картину регуляции ответа на облучение.

Остается нерешенной проблема р53-негативных опухолей. Одним из путей, позволяющих обойти нефункционирующие р53-зависимые механизмы, является использование наноструктурированных частиц серебра, способных вызвать митохондриальный стресс и апоптоз независимо от р53 [143]; предстоит установить, можно ли комбинировать такие материалы с облучением [144]. Наконец, обоснованными следует считать воздействия на р63 и р73, если их функции сохранены в р53-негативных опухолях [145]. ●

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-90046.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Seidlitz A., Combs S.E., Debus J., Baumann M. // Oxford Textbook of Oncology. 2016. P. 173.
- Snyder A.R., Morgan W.F. // Cancer Metastasis Rev. 2004. V. 23. № 3–4. P. 259–268.
- Finnberg N., Wambi C., Ware J.H., Kennedy A.R. // Cancer Biol. Ther. 2008. V. 7. № 12. P. 2023–2033.
- McIlwrath A.J., Vasey P.A., Ross G.M., Brown R. // Cancer Res. 1994. V. 54. № 14. P. 3718–3722.
- Mallya S.M., Sikpi M.O. // Mutat. Res. 1999. V. 434. № 2. P. 119–132.
- Moergel M., Abt E., Stockinger M., Kunkel M. // Oral Oncol. 2010. V. 46. № 9. P. 667–671.
- Akervall J., Nandalur S., Zhang J., Qian C.N., Goldstein N., Gyllerup P., Resau J. // Eur. J. Cancer. 2014. V. 50. № 3. P. 570–581.
- Dietz S., Rother K., Bamberger C., Schmale H., Mössner J., Engeland K. // FEBS Lett. 2002. V. 525. № 1–3. P. 93–99.
- Lane D.P., Crawford L.V. // Nature. 1979. V. 278. № 5701. P. 261–263.
- Linzer D.I., Levine A.J. // Cell. 1979. V. 17. № 1. P. 43–52.
- Ryan K.M., Phillips A.C., Vousden K.H. // Curr. Opin. Cell Biol. 2001. V. 13. № 3. P. 332–337.
- Joerger A.C., Fersht A.R. // CSH Perspect. Biol. 2010. V. 2. № 6. P. a000919.
- Sullivan K.D., Galbraith M.D., Andrysiak Z., Espinosa J.M. // Cell Death Differ. 2018. V. 25. № 1. P. 133–143.
- May P., May E. // Oncogene. 1999. V. 18. № 53. P. 7621–7636.
- Tibbetts R.S., Brumbaugh K.M., Williams J.M., Sarkaria J.N., Cliby W.A., Shieh S.Y., Abraham R.T. // Genes Dev. 1999. V. 13. № 2. P. 152–157.
- Harms K.L., Chen X. // Cell Death Differ. 2006. V. 13. № 6. P. 890–897.
- Joerger A.C., Rajagopalan S., Natan E., Veprintsev D.B., Robinson C.V., Fersht A.R. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009. V. 106. № 42. P. 17705–17710.
- Yang A., McKeon F. // Nat. Rev. Mol. 2000. V. 1. № 3. P. 199–207.
- Wang X., Zeng L., Wang J., Chau J.F.L., Lai K.P., Jia D., He L. // Cell Death Differ. 2011. V. 18. № 1. P. 5–15.
- Johnson J., Liu Y., Lawson S., Kulesz-Martin M. // Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 2005. V. 46. P. 5691.
- Thurfjell N., Coates P.J., Vojtesek B., Benham-Motlagh P., Eisold M., Nylander K. // Int. J. Mol. Med. 2005. V. 16. № 6. P. 1065–1070.
- Dötsch V., Bernassola F., Coutandin D., Candi E., Melino G. // CSH Perspect. Biol. 2010. V. 2. № 9. a004887.
- Harris C.C. // J. Natl. Cancer Inst. 1996. V. 88. № 20. P. 1442–1455.
- Bourdon J.C. // Br. J. Cancer. 2007. V. 97. № 3. P. 277–282.
- Allred D.C., Clark G.M., Elledge R., Fuqua S.A., Brown R.W., Chamness G.C., McGuire W.L. // J. Natl. Cancer Inst. 1993. V. 85. № 3. P. 200–206.
- Freed-Pastor W.A., Prives C. // Genes Dev. 2012. V. 26. № 12. P. 1268–1286.
- Garcia C.A., Ahmadian A., Gharizadeh B., Lundeberg J., Ronaghi M., Nyrén P. // Gene. 2000. V. 253. № 2. P. 249–257.
- Hartmann A., Blaszyk H., McGovern R.M., Schroeder J.J., Cunningham J., De Vries E.M., Sommer S.S. // Oncogene. 1995. V. 10. № 4. P. 681–688.
- Quinlan D.C., Davidson A.G., Summers C.L., Warden H.E., Doshi H.M. // Cancer Res. 1992. V. 52. № 17. P. 4828–4831.
- Yue X., Zhao Y., Xu Y., Zheng M., Feng Z., Hu W. // J. Mol. Biol. 2017. V. 429. № 11. P. 1595–1606.
- Davidoff A.M., Humphrey P.A., Iglehart J.D., Marks J.R. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1991. V. 88. № 11. P. 5006–5010.
- Inoue K., Fry E.A. Mutant p53 and MDM2 in Cancer. Dordrecht, Heidelberg, New York, London: Springer, 2014. P. 17–40.
- Bénard J., Douc-Rasy S., Ahomadegbe J.C. // Hum. Mutat. 2003. V. 21. № 3. P. 182–191.
- Maréchal A., Zou L. // CSH Perspect. Biol. 2013. V. 5. № 9. P. 012716.
- Gajjar M., Candeias M.M., Malbert-Colas L., Mazars A., Fujita J., Olivares-Illana V., Fahraeus R. // Cancer Cell. 2012. V. 21. № 1. P. 25–35.
- Joerger A.C., Fersht A.R. // Annu. Rev. Biochem. 2016. V. 85. P. 375–404.

37. Saito S.I., Goodarzi A.A., Higashimoto Y., Noda Y., Lees-Miller S.P., Appella E., Anderson C.W. // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. № 15. P. 12491–12494.
38. Cmielova J., Rezáčová M. // *J. Cell. Biochem.* 2011. V. 112. № 12. P. 3502.
39. Kreis N.N., Sanhaji M., Rieger M.A., Louwen F., Yuan J. // *Oncogene*. 2014. V. 33. № 50. P. 5716–5728.
40. Jinno S., Suto K., Nagata A., Igarashi M., Kanaoka Y., Nojima H., Okayama H. // *EMBO J.* 1994. V. 13. № 7. P. 1549–1556.
41. Fei P., El-Deiry W.S. // *Oncogene*. 2003. V. 22. № 37. P. 5774–5783.
42. Latonen L., Yoichi T., Marikki L. // *Oncogene*. 2001. V. 20. № 46. P. 6784–6793.
43. Palazzo J.P., Kafka N.J., Grasso L., Chakrani F., Hanau C., Cuesta K.H., Mercer W.E. // *Hum. Pathol.* 1997. V. 28. № 10. P. 1189–1195.
44. Gudkov A.V., Komarova E.A. // *Nat. Rev. Cancer*. 2003. V. 3. № 2. P. 117–129.
45. Muller P.A., Vousden K.H., Norman J.C. // *J. Cell. Biol.* 2011. V. 192. № 2. P. 209–218.
46. Lim S.O., Kim H., Jung G. // *FEBS Lett.* 2010. V. 584. № 11. P. 2231–2236.
47. Kurrey N.K., Jalgaonkar S.P., Joglekar A.V., Ghanate A.D., Chaskar P.D., Doiphode R.Y., Bapat S.A. // *Stem Cells*. 2009. V. 27. № 9. P. 2059–2068.
48. Jen K.Y., Cheung V.G. // *Cancer Res.* 2005. V. 65. № 17. P. 7666–7673.
49. Budanov A.V. *Mutant p53 and MDM2 in Cancer*. Dordrecht, Heidelberg, New York, London: Springer, 2014. P. 337–358.
50. Halacli S.O., Canpinar H., Cimen E., Sunguroglu A. // *Oncol. Lett.* 2013. V. 6. № 3. P. 807–810.
51. Pohl F., Grosse J., Grimm D., Brockhoff G., Westphal K., Moosbauer J., Schoenberger J. // *Thyroid*. 2010. V. 20. № 2. P. 159–166.
52. Attardi L.D. // *Mutat. Res.* 2005. V. 569. № 1–2. P. 145–157.
53. Liu S.S., Leung R.C.Y., Chan K.Y.K., Chiu P.M., Cheung A.N.Y., Tam K.F., Ngan H.Y.S. // *Clin. Cancer Res.* 2004. V. 10. № 10. P. 3309–3316.
54. Wakatsuki M., Ohno T., Iwakawa M., Ishikawa H., Noda S., Ohta T., Nakano T. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2008. V. 70. № 4. P. 1189–1194.
55. Lin K.W., Nam S.Y., Toh W.H., Dulloo I., Sabapathy K. // *Neoplasia*. 2004. V. 6. № 5. P. 546–557.
56. Ramadan S., Terrinoni A., Catani M.V., Sayan A.E., Knight R.A., Mueller M., Candi E. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005. V. 331. № 3. P. 713–717.
57. Impicciatore G., Sancilio S., Miscia S., Di Pietro R. // *Curr. Pharm. Des.* 2010. V. 16. № 12. P. 1427–1442.
58. Adamovich Y., Adler J., Meltser V., Reuven N., Shaul Y. // *Cell Death Differ.* 2014. V. 21. № 9. P. 1451–1459.
59. Lin Y.L., Sengupta S., Gurdziel K., Bell G.W., Jacks T., Flores E.R. // *PLoS Genet.* 2009. V. 5. № 10. e1000680.
60. Lee J.M., Bernstein A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1993. V. 90. № 12. P. 5742–5746.
61. Bristow R.G., Jang A., Peacock J., Chung S., Benchimol S., Hill R.P. // *Oncogene*. 1994. V. 9. № 6. P. 1527–1536.
62. Concin N., Zeillinger C., Stimpfel M., Schiebel I., Tong D., Wolff U., Zeillinger R. // *Cancer Lett.* 2000. V. 150. № 2. P. 191–199.
63. Couture C., Raybaud-Diogenè H., Têtu B., Bairati I., Murry D., Allard J., Fortin A. // *Cancer*. 2002. V. 94. № 3. P. 713–722.
64. Perri F., Pacelli R., Della Vittoria Scarpato G., Cella L., Giuliano M., Caponigro F., Pepe S. // *Head. Neck.* 2015. V. 37. № 5. P. 763–770.
65. Graham K., Moran-Jones K., Sansom O.J., Brunton V.G., Frame M.C. // *PLoS One*. 2011. V. 6. № 12. e27806
66. Dragoj M., Bankovic J., Sereti E., Stojanov S.J., Dimas K., Pesic M., Stankovic T. // *Invest. New Drugs*. 2017. V. 35. № 6. P. 718–732.
67. Akiyama A., Minaguchi T., Fujieda K., Hosokawa Y., Nishida K., Shikama A., Satoh T. // *Oncol. Lett.* 2019. V. 18. № 6. P. 5952–5958.
68. Yoshida T., Goto S., Kawakatsu M., Urata Y., Li T.S. // *Free Radic. Res.* 2012. V. 46. № 2. P. 147–153.
69. Chang H.W., Kim M.R., Lee H.J., Lee H.M., Kim G.C., Lee Y.S., Lee J.C. // *Oncogene*. 2019. V. 38. № 19. P. 3729–3742.
70. Somerville T.D., Xu Y., Miyabayashi K., Tiriac H., Cleary C.R., Maia-Silva D., Vakoc C.R. // *Cell Rep.* 2018. V. 25. № 7. P. 1741–1755.
71. Ding R., Cai X., Xu F., Wang H., Zhang B. // *Die Pharmazie*. 2017. V. 72. № 7. P. 414–418.
72. Moergel M., Goldschmitt J., Stockinger M., Kunkel M. // *Clin. Oral Investig.* 2014. V. 18. № 4. P. 1259–1268.
73. Ma W., Yu J., Qi X., Liang L., Zhang Y., Ding Y., Ding Y. // *Oncotarget*. 2015. V. 6. № 18. P. 15984.
74. Li Y., Prives C. // *Oncogene*. 2007. V. 26. № 15. P. 2220–2225.
75. Johnson J.L., Lagowski J.P., Sundberg A., Lawson S., Liu Y., Kulesz-Martin M. // *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.* 2006. V. 47. P. 5183.
76. Doveston R.G., Kuusk A., Andrei S.A., Leysen S., Cao Q., Castaldi M.P., Ottmann C. // *FEBS Lett.* 2017. V. 591. № 16. P. 2449–2457.
77. Li C., Xiao Z.X. // *BioMed Res. Int.* 2014. V. 14. P. 1–9.
78. Chen B., Wen P., Hu G., Gao Y., Qi X., Zhu K., Zhao G. // *Front. Cell Dev. Biol.* 2020. V. 8. P. 408.
79. Wassman C.D., Baronio R., Demir Ö., Wallentine B.D., Chen C.K., Hall L.V., Chamberlin A.R. // *Nat. Commun.* 2013. V. 4. № 1. P. 1–9.
80. Bauer M.R., Krämer A., Settanni G., Jones R.N., Ni X., Khan T.R., Joerger A.C. // *ACS Chem. Biol.* 2020. V. 15. № 3. P. 657–668.
81. Synnott N.C., O'Connell D., Crown J., Duffy M.J. // *Breast Cancer Res. Treat.* 2020. V. 179. № 1. P. 47–56.
82. Wang H., Liao P., Zeng S.X., Lu H. // *Cancer Biol. Ther.* 2020. V. 21. № 3. P. 269–277.
83. Liu L., Yu Z.Y., Yu T.T., Cui S.H., Yang L., Chang H., Ren C.C. // *J. Cell. Physiol.* 2020. V. 235. № 11. P. 8768–8778.
84. Wei X.W., Yuan J.M., Huang W.Y., Chen N.Y., Li X.J., Pan C.X., Su G.F. // *Eur. J. Med. Chem.* 2020. V. 186. P. 111851.
85. Loh S.N. // *Biomolecules*. 2020. V. 10. № 2. P. 303.
86. Zhang Q., Bykov V.J., Wiman K.G., Zawacka-Pankau J. // *Cell Death Dis.* 2018. V. 9. № 5. P. 1–12.
87. Duffy M.J., Synnott N.C., McGowan P.M., Crown J., O'Connor D., Gallagher W.M. // *Cancer Treat. Rev.* 2014. V. 40. № 10. P. 1153–1160.
88. Ramraj S.K., Elayapillai S.P., Pelikan R.C., Zhao Y.D., Isingizwe Z.R., Kennedy A.L., Benbrook D.M. // *Int. J. Cancer*. 2020. V. 147. № 4. P. 1086–1097.
89. Blanden A.R., Yu X., Wolfe A.J., Gilleran J.A., Augeri D.J., O'Dell R.S., Carpizo D.R. // *Mol. Pharmacol.* 2015. V. 87. № 5. P. 825–831.
90. Garufi A., D'Orazi V., Crispini A., D'Orazi G. // *Int. J. Oncol.* 2015. V. 47. № 4. P. 1241–1248.
91. Li D., Yallowitz A., Ozog L., Marchenko N. // *Cell Death Dis.* 2014. V. 5. № 4. P. e1194–e1194.
92. Alexandrova E.M., Yallowitz A.R., Li D., Xu S., Schulz R., Proia D.A., Moll U.M. // *Nature*. 2015. V. 523. № 7560. P. 352–356.
93. McLaughlin M., Barker H.E., Khan A.A., Pedersen M., Dillon M., Mansfield D.C., Nutting C.M. // *BMC Cancer*. 2017. V. 17.

- № 1. P. 86.
94. Mantovani F, Collavin L., Del Sal G. // *Cell Death Differ.* 2019. V. 26. № 2. P. 199–212.
95. Ingallina E., Sorrentino G., Bertolio R., Lisek K., Zannini A., Azzolin L., Rosato A. // *Nat. Cell Biol.* 2018. V. 20. № 1. P. 28–35.
96. Gluck W.L., Gounder M.M., Frank R., Eskens F., Blay J.Y., Cassier P.A., Siegel D. // *Invest. New Drugs.* 2020. V. 38. № 3. P. 831–843.
97. Anifowose A., Yuan Z., Yang X., Pan Z., Zheng Y., Zhang Z., Wang B. // *Bioorganic Med. Chem. Lett.* 2020. V. 30. № 2. P. 126786.
98. Anifowose A., Agbowuro A.A., Tripathi R., Lu W., Tan C., Yang X., Wang B. // *Med. Chem. Res.* 2020. V. 29. P. 1199–1210.
99. Patiño-Morales C.C., Soto-Reyes E., Arechaga-Ocampo E., Ortiz-Sánchez E., Antonio-Véjar V., Pedraza-Chaverri J., García-Carrancá A. // *Redox Biol.* 2020. V. 28. P. 101320.
100. Morris S.M., Chen J.J., Domon O.E., McGarrity L.J., Bishop M.E., Manjanatha M.G., Casciano D.A. // *Mutation Res./Fund. Mol. Mech. Mutagenesis.* 1998. V. 405. № 1. P. 41–56.
101. Wang W., Zafar A., Rajaei M., Zhang R. // *Cells.* 2020. V. 9. № 5. P. 1176.
102. Rasafar N., Barzegar A., Aghdam E.M. // *Life Sci.* 2020. V. 245. P. 117358.
103. Ma Y.S., Wang X.F., Zhang Y.J., Luo P., Long H.D., Li L., Chang Z.Y. // *Mol. Ther. Oncolytics.* 2020. V. 16. P. 147–157.
104. Lee B., Sandhu S., McArthur G. // *Curr. Opin. Oncol.* 2015. V. 27. № 2. P. 141–150.
105. Jabbour-Leung N.A., Chen X., Bui T., Jiang Y., Yang D., Vijayaraghavan S., Keyomarsi K. // *Mol. Cancer Ther.* 2016. V. 15. № 4. P. 593–607.
106. Gary C., Hajek M., Biktasova A., Bellinger G., Yarbrough W.G., Issaeva N. // *Oncotarget.* 2016. V. 7. № 25. P. 38598.
107. Stewart-Ornstein J., Lahav G. // *Sci. Signal.* 2017. V. 10. № 476. P. 1–10.
108. Bagashev A., Fan S., Mukerjee R., Paolo Claudio P., Chab-rashvili T., Leng R.P., Sawaya B.E. // *Cell Cycle.* 2013. V. 12. № 10. P. 1569–1577.
109. Kalan S., Amat R., Schachter M.M., Kwiatkowski N., Abraham B.J., Liang Y., Gray N.S. // *Cell Rep.* 2017. V. 21. № 2. P. 467–481.
110. Mita M.M., Mita A.C., Moseley J.L., Poon J., Small K.A., Jou Y.M., Sankhala K.K. // *Br. J. Cancer.* 2017. V. 117. № 9. P. 1258–1268.
111. Desai B.M., Villanueva J., Nguyen T.T.K., Lioni M., Xiao M., Kong J., Smalley K.S. // *PLoS One.* 2013. V. 8. № 3. P. e59588.
112. Kang M., Kim W., Jo H.R., Shin Y.J., Kim M.H., Jeong J.H. // *Int. J. Oncol.* 2018. V. 53. № 2. P. 703–712.
113. Sim M.Y., Go M.L., Yuen J.S.P. // *Life Sci.* 2018. V. 203. P. 282–290.
114. Schwermer M., Lee S., Köster J., van Maerken T., Stephan H., Eggert A., Schramm A. // *Oncotarget.* 2015. V. 6. № 17. P. 15425.
115. Ambasta R.K., Gupta R., Kumar D., Bhattacharya S., Sarkar A., Kumar P. // *Brief. Funct. Genom.* 2019. V. 18. № 4. P. 230–239.
116. Wilkie M.D., Anaam E.A., Lau A.S., Rubbi C.P., Jones T.M., Boyd M.T., Vlatković N. // *Cancer Lett.* 2020. V. 478. P. 107–121.
117. Naseer F., Saleem M. // *Oncol. Rev.* 2019. V. 13(2). № 421. P. 83–87.
118. Tonino S.H., Mulkens C.E., van Laar J., Derks I.A., Suo G., Croon-de Boer F., Kater A.P. // *Leuk. Lymphoma.* 2015. V. 56. № 8. P. 2439–2447.
119. Fomenkov A., Zangen R., Huang Y.P., Osada M., Guo Z., Fomenkov T., Ratovitski E.A. // *Cell Cycle.* 2004. V. 3. № 10. P. 1285–1295.
120. Deyoung M.P., Ellisen L.W. // *Oncogene.* 2017. V. 26. № 36. P. 5169–5183.
121. Meng J., Tagalakakis A.D., Hart S.L. // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. № 1. P. 1–12.
122. Huang L., Li A., Liao G., Yang F., Yang J., Chen X., Jiang X. // *Oncol. Lett.* 2020. V. 14. № 1. P. 1080–1088.
123. Yudhani R.D., Astuti I., Mustofa M., Indarto D., Muthmainah M. // *APJCP.* 2019. V. 20. № 6. P. 1667.
124. Yi Y., Zhang W., Yi J., Xiao Z.X. // *J. Cancer.* 2019. V. 10. № 11. P. 2434.
125. Prabhu V.V., Hong B., Allen J.E., Zhang S., Lulla A.R., Dicker D.T., El-Deiry W.S. // *Cancer Res.* 2016. V. 76. № 7. P. 1989–1999.
126. Zhang S., Zhou L., Hong B., van den Heuvel A.P.J., Prabhu V.V., Warfel N.A., El-Deiry W.S. // *Cancer Res.* 2015. V. 75. № 18. P. 3842–3852.
127. Sinha N., Panda P.K., Naik P.P., Das D.N., Mukhopadhyay S., Maiti T.K., Sethi G. // *Mol. Carcinog.* 2017. V. 56. № 11. P. 2400–2413.
128. Sinha N., Meher B.R., Naik P.P., Panda P.K., Mukhopadhyay S., Maiti T.K., Bhutia S.K. // *Phytomedicine.* 2019. V. 55. P. 179–190.
129. Sznarkowska A., Kostecka A., Kawiak A., Acedo P., Lion M., Inga A., Zawacka-Pankau J. // *Cell Div.* 2018. V. 13. № 1. P. 1–12.
130. Gomes S., Raimundo L., Soares J., Loureiro J.B., Leão M., Ramos H., Chlapek P. // *Cancer Lett.* 2019. V. 446. P. 90–102.
131. Di C., Sun C., Li H., Si J., Zhang H., Han L., Gan L. // *Cell Cycle.* 2015. V. 14. № 23. P. 3725–3733.
132. Novelli F., Lena A.M., Panatta E., Nasser W., Shalom-Feuerstein R., Candi E., Melino G. // *Cell Death Dis.* 2016. V. 7. № 5. P. e2227.
133. Gunaratne P.H., Pan Y., Rao A.K., Lin C., Hernandez-Herrera A., Liang K., Kim S.S. // *Cancer.* 2019. V. 125. № 14. P. 2409–2422.
134. Rong J., Li P., Ge Y., Chen H., Wu J., Zhang R., Zhang Y. // *Colloids Surf. B.* 2020. V. 186. P. 110674.
135. He W., Yan J., Li Y., Yan S., Wang S., Hou P., Lu W. // *J. Control. Release.* 2020. V. 325. P. 293–303.
136. Lundsten S., Hernández V.A., Gedda L., Sarén T., Brown C J., Lane D.P., Nestor M. // *Nanomaterials.* 2020. V. 10. № 4. P. 783.
137. Viktorsson K., De Petris L., Lewensohn R. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005. V. 331. № 3. P. 868–880.
138. Mayer C., Popanda O., Greve B., Fritz E., Illig T., Eckardt-Schupp F., Schmezer P. // *Cancer Lett.* 2011. V. 302. № 1. P. 20–28.
139. Paul S., Barker C.A., Turner H.C., McLane A., Wolden S.L., Amundson S.A. // *Radiat. Res.* 2011. V. 175. № 3. P. 257–265.
140. Akiyoshi T., Kobunai T., Watanabe T. // *Surg. Today.* 2011. V. 42. № 8. P. 713–719.
141. Zhang W.W., Li L., Li D., Liu J., Li X., Li W., Hu A. // *Hum. Gene Ther.* 2018. V. 29. № 2. P. 160–179.
142. Orth M., Lauber K., Niyazi M., Friedl A.A., Li M., Maihöfer C., Belka C. // *Radiat. Environ. Biophys.* 2014. V. 53. № 1. P. 1–29.
143. Kovács D., Igaz N., Keskeny C., Bélteky P., Tóth T., Gáspár R., Kiricsi M. // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 27902.
144. Swanner J., Mims J., Carroll D.L., Akman S.A., Furdui C.M., Torti S.V., Singh R.N. // *Int. J. Nanomedicine.* 2016. V. 10. P. 3937.
145. Merkel O., Taylor N., Prutsch N., Staber P.B., Moriggl R., Turner S.D., Kenner L. // *Mutat. Res. Rev. Mutat. Res.* 2017. V. 773. P. 1–13.